

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

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E POTENCIAL  
DE ENRAIZAMENTO POR ESTAQUIA DE UM  
GERMOPLASMA DE ERVA-MATE DE ORIGEM  
SEMINAL**

**LAURA TRES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção e Proteção de Plantas.

Passo Fundo, abril de 2016

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

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E POTENCIAL  
DE ENRAIZAMENTO POR ESTAQUIA DE UM  
GERMOPLASMA DE ERVA-MATE DE ORIGEM  
SEMINAL**

**LAURA TRES**

**Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto Nienow**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção e Proteção de Plantas.

Passo Fundo, abril de 2016



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

"CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E POTENCIAL DE ENRAIZAMENTO POR ESTAQUIA DE UM GERMOPLASMA DE ERVA-MATE DE ORIGEM SEMINAL"

Elaborada por

Laura Tres

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em  
Agronomia – Produção e Proteção de Plantas

Aprovada em: 25/04/2016  
Pela Comissão Examinadora

  
Dr. Alexandre Augusto Nienow  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientador

  
Dr. Eunice Oliveira Calvete  
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia

  
Dr. Nilton Cesar Mantovani  
UFSM

  
Dr. Hélio Carlos Rocha  
Diretor FAMV

  
Dra. Simone Meredith Scheffer Basso  
FAMV - UPF

CIP – Catalogação na Publicação

---

- T796c Tres, Laura  
Caracterização fenotípica e potencial de enraizamento por estaquia de um germoplasma de erva-mate de origem seminal / Laura Tres. – 2016.  
109 f. : il., color. ; 25 cm.
- Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto Nienow.  
Mestrado (Mestre em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, 2016.
1. Erva-mate. 2. Genética vegetal. 3. Propagação por estaquia. I. Nienow, Alexandre Augusto, orientador.  
II. Título.

CDU: 633.77

---

Catálogo: Bibliotecária Cristina Troller - CRB 10/1430

## **BIOGRAFIA DA AUTORA**

**Laura Tres** nasceu em 31 de março de 1990 no município de Constantina, Rio Grande do Sul. Filha de Hilário Tres e Mariliza Taglietti Tres. Engenheira Florestal, formada em 13 de janeiro de 2012 pela Universidade Federal de Santa Maria UFSM-CESNORS. Foi bolsista de Iniciação Científica pelo Programa REUNI, de maio a dezembro de 2011. Em março de 2014 iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, área de concentração em Produção e Proteção de Plantas, sob orientação do professor Dr. Alexandre Augusto Nienow.

*Dedico aos meus pais  
Hilário e Mariliza*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha saúde e por permitir que realizações como esta fossem possíveis.

Aos meus pais Hilário e Mariliza, e ao meu irmão Lucas, pela compreensão, ajuda, apoio e incentivo à busca de meus objetivos. À toda minha família, pelo carinho e apoio.

Ao meu namorado Luan, pelo amor, carinho, compreensão, apoio e incentivo à conclusão deste curso.

À minha sobrinha Bianca, pela dose diária de carinho durante os dias de redação deste trabalho, tornando-os mais leves.

Ao meu orientador Prof. Dr. Alexandre Augusto Nienow, pela confiança, profissionalismo, dedicação e atenção na orientação deste trabalho, e pelos conhecimentos compartilhados.

À professora Dra. Simone Meredith Scheffer Basso, por disponibilizar seu tempo e pelas valiosas contribuições.

À minha amiga e colega Verena, pela amizade, cumplicidade, apoio e ajuda. Às colegas e amigas Djulia e Sabrina, por tornarem os meus dias mais felizes.

Aos amigos Valesca, Gustavo e Leandro, pela ajuda na execução dos trabalhos, e ao amigo Mateus, pela disponibilização da área de estudo.

A todos os meus amigos, pela compreensão e pelo incentivo em mais esta etapa.

Aos professores do PPGAgro, pela contribuição na minha formação profissional.

Aos colegas do PPGAgro, pelas experiências compartilhadas.

À UPF e ao PPGAgro, pela oportunidade.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram em mais esta etapa da minha vida, meu muito obrigado!

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xi
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xiii
<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	4
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	8
2.1 Erva-mate: aspectos gerais.....	8
2.2 Propagação da erva-mate.....	10
2.2.1 Método sexual.....	10
2.2.2 Método vegetativo.....	11
2.2.2.1 Estaquia.....	13
2.3 Caracterização do germoplasma de erva-mate.....	22
2.3.1 A análise multivariada na avaliação do germoplasma.....	23
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
3.1 Estudo 1 – Divergência genética em germoplasma de erva-mate com base em caracteres fenotípicos.....	28
3.1.1 Material vegetal.....	28
3.1.2 Local e período.....	33
3.1.3 Procedimentos.....	33
3.1.4 Análise dos dados.....	34
3.2 Estudo 2 – Propagação por estaquia de genótipos de erva-mate.....	36
3.2.1 Material vegetal.....	36
3.2.2 Local e período.....	36
3.2.3 Tratamentos e delineamento experimental.....	37
3.2.4 Procedimentos.....	37
3.2.5 Avaliações e análise estatística.....	39
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	41
4.1 Estudo 1 – Divergência genética em germoplasma de erva-mate com base em caracteres fenotípicos.....	41
4.1.1 Caracterização das folhas e ramos.....	41
4.1.2 Análise multivariada na avaliação da divergência genética.....	53
4.2 Estudo 2 – Propagação por estaquia de genótipos de erva-mate.....	66

<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>Página</b> 84
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	85

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Expressão sexual dos trinta genótipos de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	29
2	Características de limbo foliar de trinta genótipos de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	42
3	Massa fresca e seca de folha, distância entre folhas e número de folhas por metro de ramo de trinta genótipos de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	49
4	Índice Falker de Clorofila (IFC) a, b e total nas folhas de trinta genótipos de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	52
5	Distância euclidiana média padronizada entre pares de trinta genótipos de erva-mate com base em onze caracteres fenotípicos. Mato Castelhana, RS, 2015.....	54
6	Correlações cofenéticas conforme o método de agrupamento utilizado.....	56
7	Grupos estabelecidos pelo método de Tocher, com base na Distância Euclidiana Média, obtida com onze caracteres em trinta genótipos de erva-mate.....	58
8	Contribuição relativa dos caracteres para a divergência genética (C.R.D.G) de trinta genótipos de erva-mate pelo método de Singh (1981).....	59
9	Coefficientes de correlação de Pearson entre onze caracteres de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	61
10	Variância do autovalor, porcentagens da variância e variância acumulada dos componentes principais de oito caracteres de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	62
11	Estimativas dos autovetores e os pesos de cada variável para sua constituição. Mato Castelhana, RS, 2015.....	63

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
12	Caracterização dos grupos estabelecidos pelos métodos UPGMA e de Tocher, com base nos três caracteres de maior relevância.....	65
13	Retenção foliar em estacas de trinta genótipos de erva-mate tratadas com 8.000 mg L <sup>-1</sup> de AIB. Passo Fundo, RS, 2015.....	67
14	Sobrevivência das estacas de trinta genótipos de erva-mate tratadas com 8.000 mg L <sup>-1</sup> de AIB. Passo Fundo, RS, 2015.....	70
15	Coefficiente de correlação de Pearson (R <sup>2</sup> ) entre porcentagem de sobrevivência, de retenção foliar e de enraizamento, e teor de açúcares totais (mg açúcares/g massa seca) em folhas de estacas de trinta genótipos de erva-mate tratadas com 8.000 mg L <sup>-1</sup> de AIB. Passo Fundo, RS, 2015.....	72
16	Enraizamento e estacas com calo de trinta genótipos de erva-mate após 120 dias, tratadas com 8.000 mg L <sup>-1</sup> de AIB, açúcares totais nas folhas (plantas do erval) e enraizamento sem AIB, após refeita a estaquia com as estacas vivas e enraizadas (raízes eliminadas). Passo Fundo, RS, 2015.....	74
17	Comprimento médio das três maiores raízes, massa fresca e seca de raízes de estacas de trinta genótipos de erva-mate tratadas com 8.000 mg L <sup>-1</sup> de AIB. Passo Fundo, RS, 2015.....	82

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Genótipos 1 a 9 selecionados em um erval comercial localizado em Mato Castelhana, RS, 2015.....	30
2	Genótipos 10 a 18 selecionados em um erval comercial localizado em Mato Castelhana, RS, 2015.....	31
3	Genótipos 19 a 27 selecionados em um erval comercial localizado em Mato Castelhana, RS, 2015.....	32
4	Genótipos 28 a 30 selecionados em um erval comercial localizado em Mato Castelhana, RS, 2015.....	33
5	Localização do erval. Mato Castelhana, RS, 2015.....	35
6	Estacas padronizadas com 10 cm, mantidas duas folhas pela metade (A); vista geral da estaquia (B). Passo Fundo, RS, 2015.....	40
7	Variabilidade das folhas de trinta genótipos de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	43
8	Folha representativa da média dos genótipos 1 a 9 de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	44
9	Folha representativa da média dos genótipos 10 a 18 de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	45
10	Folha representativa da média dos genótipos 19 a 27 de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	46
11	Folha representativa da média dos genótipos 28 a 30 de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.....	47
12	Dendrograma obtido pelo método de agrupamento ligação média entre grupos (UPGMA), com base na matriz de Distância Euclidiana Média para trinta genótipos de erva-mate, considerando-se caracteres fenotípicos e ponto de corte a 40% da distância total. Mato Castelhana, RS, 2015.....	57

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
13	Distribuição dos pontos referentes aos genótipos de erva-mate nos dois eixos correspondentes ao primeiro e segundo componente principal. Mato Castelhana, RS, 2015.....	62
14	Estaca de erva-mate enraizada (A) e com calo (B). Passo Fundo, RS, 2015.....	75

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E POTENCIAL DE  
ENRAIZAMENTO POR ESTAQUIA DE UM GERMOPLASMA  
DE ERVA-MATE DE ORIGEM SEMINAL**

**LAURA TRES<sup>1</sup>**

**RESUMO** - A avaliação da divergência genética fornece informações úteis na caracterização, conservação e utilização dos recursos genéticos, e a clonagem por estaquia é uma técnica capaz de resgatar materiais nativos, bem como viabilizar a implantação de ervais mais uniformes e produtivos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a divergência genética entre genótipos de erva-mate multiplicados por semente, utilizando análises multivariadas, e o potencial de propagação dos genótipos por estaquia. Foram realizados dois estudos. No primeiro foi avaliada a divergência genética de trinta plantas (genótipos) selecionadas em um erval comercial no município de Mato Castelhano, RS, através de caracteres de ramos e de folhas. A divergência genética foi avaliada pela análise de componentes principais e pelos métodos de agrupamento de ligação média entre grupos (UPGMA) e de Tocher, utilizando-se a distância euclidiana média como medida de dissimilaridade. Também foi obtida a contribuição relativa dos caracteres para a divergência. No segundo estudo foi verificado o potencial de propagação por estaquia dos genótipos. A estaquia foi realizada no período de janeiro a maio, com a aplicação de 8.000 mg L<sup>-1</sup> de ácido indolbutírico (AIB). A realização dos agrupamentos tanto

---

<sup>1</sup> Eng. Ftal., mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV, Área de Concentração em Produção e Proteção de Plantas.

pelo método UPGMA como de Tocher promoveram a formação dos mesmos 12 grupos, com a mesma distribuição dos genótipos formando cada grupo, demonstrando variabilidade no germoplasma de erva-mate. Os caracteres que mais contribuíram para a divergência genética foram a massa fresca de folha, o número de folhas por metro de ramo e o comprimento da folha. A capacidade de retenção das folhas nas estacas influenciou positivamente a sobrevivência e o enraizamento. O enraizamento foi significativamente superior em 50% dos genótipos, variando de 43,8% a 85,4%, demonstrando potencial para serem utilizados como plantas matrizes em um programa de produção de mudas por clonagem.

**Palavras-chave:** *Ilex paraguariensis* St. Hil., análise multivariada, propagação vegetativa, estacas, ácido indolbutírico.

#### **PHENOTYPIC CHARACTERIZATION AND ROOTING POTENTIAL THROUGH CUTTING OF A SOURCE OF YERBA-MATE GERMPLASM OF SEMINAL ORIGIN**

**ABSTRACT** – The genetic divergence provides useful information for the characterization, conservation and use of genetic resources and therefore, the cloning for cuttings is a technique which can rescue native materials as well as enabling the implementation of more uniform and productive yerba mate plantations. The objective of this research was to evaluate the genetic divergence between yerba mate genotypes multiplied by seed, by using multivariate analysis, and the potential propagation of genotypes through cuttings. Two studies were

performed. On the first one evaluated the genetic divergence of thirty plants (genotypes) selected from a commercial yerba mate plantation in Mato Castelhana municipality in RS, through the characters of branches and leaves. The genetic divergence was evaluated by main component analysis and the average linkage cluster analysis between groups (in Portuguese- UPGMA) and Tocher, using the average euclidean distance as dissimilarity measure. One also obtained the relative contribution of characters for this divergence. On the second study we found the potential for cutting propagation of genotypes. The cutting was carried out from January to May, with the application of 8.000 mg L<sup>-1</sup> indole butyric acid (IBA). The performance of both groups by UPGMA and Tocher promoted the formation of these 12 groups, with the same genotype distribution forming each group, demonstrating variability in yerba mate germplasm. The characters that most contributed to the genetic divergence were fresh leaf matter, number of leaves per meter of branch and length of the leaf. The retention capacity of the leaves in the cuttings positively influenced the survival and rooting. Rooting was significantly higher in 50% of the genotypes, ranging from 43.8% to 85.4%, demonstrating the potential to be used as donor plant in a cloning seedling production program.

**Key words:** *Ilex paraguariensis* St. Hil., multivariate analysis, vegetative propagation, cuttings, indole butyric acid.

## 1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é uma espécie arbórea nativa que ocorre no Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai, em formações associadas com o pinheiro-brasileiro (*Araucaria angustifolia*). É uma espécie de grande importância econômica, ambiental, social e cultural, integrando um dos mais tradicionais sistemas agroflorestais do Brasil, sendo uma das espécies que concorre para a manutenção do pequeno produtor no meio rural (STURION & RESENDE, 2010).

As folhas de erva-mate são utilizadas para diversos fins. Além do tradicional consumo na forma de chimarrão e tereré, o chá de mate, que é tradicional no mercado do sul e sudeste do Brasil, tem atingido novas fronteiras, como os EUA, Europa e Oriente Médio. Além disso, das folhas também são extraídos vários produtos utilizados na indústria farmacêutica e alimentícia (DANIEL, 2009).

A erva-mate ocorre principalmente em quatro estados brasileiros, sendo o maior produtor o Estado do Paraná, com 73% da quantidade total produzida no País, que foi em 2013, de 344.594 toneladas. Santa Catarina (20,9%), Rio Grande do Sul (5,9%) e Mato Grosso do Sul completam a lista dos produtores. A erva-mate representa o segundo principal produto extrativista não madeireiro (R\$ 400 milhões) no Brasil, atrás apenas do açaí (R\$ 409,7 milhões), destacando-se como o produto do extrativismo vegetal que apresentou o maior aumento de produção (IBGE, 2013).

No Brasil, 90% da erva-mate produzida é proveniente de árvores nativas. Em geral, essas colheitas são mal conduzidas, sem a

aplicação de técnicas de poda e de recuperação adequadas, resultando na decadência dos ervais e, em muitos casos, na morte da maioria das plantas (DANIEL, 2009). A degradação dos ervais nativos também ocorreu devido ao desmatamento do pinheiro-brasileiro e à expansão das áreas de agricultura.

Após um período de desvalorização da erva-mate, o momento é de grande demanda, com ganhos importantes para os produtores rurais, passando a ser uma atividade importante principalmente para pequenas e médias propriedades. Neste contexto, cresce a busca por novas tecnologias, visando o aumento da produtividade.

A maior exigência dos consumidores por um produto de qualidades específicas, em função do seu objetivo de consumo, e dos produtores, por materiais de melhor qualidade genética, conduz à necessidade de aumento da produtividade, aliada à qualidade do produto final. Assim, o conhecimento do germoplasma disponível da espécie é fundamental para o delineamento de eficientes programas de melhoramento genético (STURION & RESENDE, 2010).

Pela importância da erva-mate, é desejado que sejam dedicados maiores esforços na manutenção de bancos de germoplasma, de modo a se dispor de variabilidade genética suficiente para superar os problemas que certamente virão no futuro, em função da intensificação do cultivo (DANIEL, 2009).

A produção sexuada de mudas de erva-mate apresenta uma série de limitações e dificuldades, resultando em plantios com desenvolvimento heterogêneo, com reflexos negativos na produtividade e qualidade do produto final, além de elevar o custo de

produção das mudas e limitar a sequência dos programas de melhoramento genético desta espécie. Esses problemas podem ser minimizados, ou até solucionados, pela obtenção de mudas por propagação vegetativa de indivíduos geneticamente superiores (WENDLING, 2004; WENDLING & BRONDANI, 2015). Ressalta-se que a utilização de mudas produzidas a partir de sementes já justifica, por si só, a variabilidade observada em ervais comerciais. Porém, no caso da erva-mate, se soma o fato da obrigatoriedade da fecundação cruzada, pois trata-se de uma espécie dioica, ou seja, que apresenta plantas femininas e plantas masculinas.

Dentre as técnicas de propagação vegetativa, a estaquia apresenta-se como a mais viável devido à facilidade de execução, podendo-se obter maior número de mudas em um menor período de tempo, com custo menos elevado, e não apresenta problemas de incompatibilidade de pega, como no caso da enxertia. Porém, os protocolos de estaquia desenvolvidos para a propagação de erva-mate têm apresentado uma série de limitações para sua adoção em escala comercial (WENDLING & BRONDANI, 2015).

A seleção das plantas matrizes que servirão de base para a formação dos plantios clonais é de suma importância para a qualidade dos futuros plantios. Os critérios de seleção a serem utilizados são variáveis conforme os objetivos de produção, e devem ser levados em consideração aspectos básicos, como produtividade, resistência a pragas e doenças, bem como aspectos mais específicos, como produção de galho fino, sabor, tamanho de folha, queda de folha, capacidade de enraizamento e composição química (WENDLING & BRONDANI, 2015).

Dessa forma, evidencia-se a necessidade de caracterização do germoplasma da espécie a fim de identificar genótipos com características superiores, além de estudos de propagação vegetativa destes materiais, aliados à conservação *in situ* e *ex situ* do germoplasma.

Este trabalho foi conduzido com os seguintes objetivos:

- Caracterizar fenotipicamente genótipos de erva-mate de um erval comercial implantado com mudas obtidas a partir de sementes;
- Avaliar a divergência genética entre os genótipos através de técnicas multivariadas; e
- Verificar se há variabilidade entre os genótipos quanto ao potencial de enraizamento pela técnica da estaquia, visando identificar potenciais plantas matrizes.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Erva-mate: aspectos gerais

A erva-mate é uma espécie arbórea pertencente à família Aquifoliaceae, que ocorre naturalmente no Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai (CARVALHO, 2003). A área de distribuição da erva-mate no Brasil compreende as regiões centro-norte e Depressão Central do Rio Grande do Sul, passando por quase toda Santa Catarina. Continua avançando pelo centro-sul do Paraná, estendendo-se a nordeste para São Paulo, limitando-se aí a uma pequena área situada na região sudeste. A partir do oeste do Paraná, segue para o sul do Mato Grosso do Sul, parte da Província de Misiones, na Argentina, e a região oriental do Paraguai. Os nomes populares são erva-mate, caaguaçu, orelha-de-burro, caá, erva-mate-de-talo-branco, erva-periquita, carvalho-branco, mate, erva, em espanhol yerba-mate e em inglês maté (DANIEL, 2009).

O cultivo e a exploração de ervas nativas é uma importante atividade econômica, principalmente de pequenas propriedades dos estados do sul do Brasil (CARVALHO, 2003). Desta forma, a erva-mate é um dos principais produtos florestais não madeireiros do país (ALMEIDA et al., 2009).

Pela industrialização de suas folhas e ramos, obtém-se o produto industrializado destinado à preparação de uma bebida tônica e estimulante, conhecida como chá de mate, chimarrão ou tererê. Entre suas qualidades medicinais e nutricionais, em especial, por seu alto conteúdo em vitamina A, apresenta efeito diurético, estimulante, e é muito útil em tratamentos de dieta e desintoxicação do organismo

(VIDOR et al., 2002). Ainda que seu principal consumo seja como bebida tônica, a indústria química e farmacêutica tem mostrado interesse no uso da espécie para fabricação de medicamentos, tintas, desinfetantes (WENDLING et al., 2007), desodorantes, corantes (VIDOR et al., 2002), conservante de alimentos, produtos de higiene e cosméticos (MACCARI & MAZUCHOWSKI, 2000).

O consumo da infusão de erva-mate é benéfico à saúde humana, pois atua na proteção dos sistemas biológicos do estresse oxidativo, além de ações anticancerígenas e cardioprotetoras. Esses benefícios estão relacionados aos compostos fenólicos, que atuam como antioxidantes, como a rutina e os ácidos 5- cafeoilquínico e caféico. Além dos compostos fenólicos, têm-se a cafeína, a teobromina, a teofilina e as metilxantinas presentes na erva-mate, que estimulam o sistema nervoso central (DUTRA, 2009).

A altura das plantas é variável. Quando cultivada comercialmente, oscila de 3 a 5 m, mas naturalmente pode atingir até 30 m e 100 cm de diâmetro à altura do peito (DAP) na idade adulta. As folhas são simples, alternas, geralmente estipuladas, subcoriáceas até coriáceas, glabras, verde-escuras na face adaxial e mais claras na face abaxial, limbo foliar obovado, comumente com 5 a 10 cm de comprimento, por 3 a 4 cm de largura, com margem irregularmente serrilhada, nervuras laterais pouco impressas na face adaxial e salientes na face abaxial e com pecíolo relativamente curto, medindo de 7 a 15 mm de comprimento (CARVALHO, 2003).

É uma planta de fecundação cruzada. Suas flores são díclinas, nas quais há abortamento do pistilo (flores masculinas ou estaminadas), ou a não funcionalidade dos estames (flores femininas ou

pestiladas). O período de floração ocorre, no Rio Grande do Sul, de setembro a outubro; no Paraná e em Santa Catarina, de setembro a novembro; e em São Paulo em novembro (CARVALHO, 2003). Os frutos são drupas, vermelhas a púrpuras, globosas, lisas, com sementes duras. Amadurecem entre janeiro e março (LORENZI, 2014).

As sementes da erva-mate apresentam, por ocasião da coleta, embrião imaturo e endocarpo lenhoso, necessitando de tratamento para germinação. A estratificação é utilizada para uniformizar o processo de germinação e consiste na utilização de uma camada de areia (5 cm) de granulação média, uma camada de sementes (2,5 cm) e novamente uma camada de areia (5 cm), mantendo-se umidade por cerca de quatro a seis meses (STURION & RESENDE, 2010).

## **2.2 Propagação da erva-mate**

### **2.2.1 Método sexual**

A produção de mudas de erva-mate geralmente é feita a partir de sementes, devido a maior facilidade de produção, domínio desta tecnologia pelos produtores e utilização de estruturas de menor custo, se comparada à propagação vegetativa. Porém, dificuldades para a quebra de dormência e germinação, longo período para produção das mudas, ocorrência de plantas que não produzem ou produzem poucas sementes, e a produção de mudas com características diferentes da planta matriz, são algumas desvantagens da produção via sexuada (WENDLING & BRONDANI, 2015).

A reprodução sexual da erva-mate inicia normalmente aos cinco anos de idade (CARVALHO, 2003). A época ideal para a coleta dos frutos é entre fevereiro e março, quando apresentam coloração avermelhada a roxa. Cerca de 99% dos embriões estão imaturos na época da colheita e levam de 90 a 180 dias para completar sua maturação. A porcentagem de germinação é muito variável (4% a 92%) e quando não se utiliza o processo de estratificação a germinação é desuniforme (STURION & RESENDE, 2010). Mudas produzidas por sementes resultam em plantios heterogêneos e, conseqüentemente, de baixa qualidade da produção (FOWLER & STURION, 2000). Esses problemas podem ser minimizados ou até solucionados pela obtenção de mudas via propagação vegetativa de indivíduos geneticamente superiores (WENDLING, 2004).

### **2.2.2 Método vegetativo**

A propagação vegetativa ou assexuada consiste em obter novas mudas a partir de partes da planta, células, tecidos, órgãos ou propágulos, de modo a gerar indivíduos geneticamente idênticos à planta matriz. Baseia-se na capacidade que certas estruturas vegetativas possuem de formar um novo indivíduo completo (FERRARI et al., 2004; WENDLING et al., 2005).

Dentre as vantagens desse método de propagação de plantas está a possibilidade de seleção de genótipos superiores ou com alguma característica distinta, o alcance de populações uniformes, a facilidade de propagação, a antecipação do início da fase reprodutiva (precocidade), a possibilidade da combinação de mais de um genótipo

(enxertia) e o maior controle nas fases de desenvolvimento (HARTMANN et al., 2011). A erva-mate pode ser propagada assexuadamente por enxertia, micropropagação, estaquia e miniestaquia (WENDLING et al., 2009).

A enxertia é utilizada especialmente para reduzir o porte das plantas e antecipar a floração e frutificação. Em erva-mate é utilizada como método de multiplicação de clones e para a indução do rejuvenescimento, por intermédio de enxertias sucessivas, para obter uma maior porcentagem de estacas enraizadas (STURION & RESENDE, 2010). Os melhores resultados para a erva-mate vêm sendo obtidos pela enxertia por garfagem (WENDLING & BRONDANI, 2015). Porém, mesmo que seja viável, há decréscimo na sobrevivência das plantas enxertadas em campo, em função do número de dias após a enxertia, e comportamentos distintos na porcentagem de sobrevivência dos enxertos após 90 dias, bem como nos níveis de crescimento dos brotos (DOMINGOS & WENDLING, 2006).

Para genótipos selecionados que apresentam limitações na capacidade para propagação vegetativa por outro método, a enxertia pode vir a ser uma opção para implantação de plantios comerciais. Porém, para isso precisam ser desenvolvidos estudos buscando avaliar, além dos métodos de enxertia, os efeitos da origem do material propagativo dentro da planta matriz no crescimento e desenvolvimento das plantas formadas (WENDLING, 2004).

A micropropagação é uma técnica de propagação de plantas que possibilita a obtenção de grande número de indivíduos a partir de poucas matrizes, em curto espaço de tempo e em reduzida área de laboratório. Porém, o uso da micropropagação na produção comercial

de mudas de muitas espécies florestais ainda não se justificou técnica e economicamente (DUTRA & SILVA, 2009). Um dos principais problemas na micropropagação da erva-mate refere-se aos elevados índices de contaminação durante a fase de estabelecimento de explantes, o que acarreta em baixa porcentagem de estabelecimento (WENDLING & BRONDANI, 2015). Dutra & Silva (2009), em estudo visando o estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de erva-mate, não observaram diferença significativa entre meios de cultura, mas verificaram altas taxas de contaminação, o que resultou em porcentagem máxima de sobrevivência dos explantes de 5,25%. Os autores ressaltaram que inúmeros trabalhos foram desenvolvidos com micropropagação de erva-mate no Brasil, alguns com resultados satisfatórios, porém ainda não há otimização do processo.

#### **2.2.2.1 Estaquia**

A técnica de estaquia consiste na produção de mudas a partir de propágulos (ramo, raiz ou folha) coletados de uma planta matriz, selecionada de acordo com suas características de produtividade e qualidade. As mudas assim obtidas apresentam as mesmas características genéticas da planta matriz (WENDLING & BRONDANI, 2015). Esta técnica apresenta algumas vantagens, tais como: maior uniformidade dos plantios; rapidez nos programas de melhoramento genético; possibilidade de gerar clones mais produtivos e com qualidades dirigidas às necessidades do mercado consumidor; e maior número de mudas por planta matriz (DANIEL, 2009).

A produção comercial de plantas por estaquia assegura maior ganho genético e permite uma produção ilimitada de plantas selecionadas, que podem ser adaptadas para fins muito especializados dentro do programa de melhoramento (FERRARI et al., 2004). Um dos fatores que tem limitado o seu uso em escala comercial é a grande variação nos resultados obtidos em experimentos, tornando-os inconclusivos (DANIEL, 2009).

A viabilidade da utilização da estaquia para a produção de mudas é possível devido a dois aspectos fundamentais, que são a dediferenciação, processo pelo qual células de um tecido já diferenciado retornam à atividade meristemática e originam um novo ponto de crescimento, e a totipotência, capacidade de uma célula vegetal originar um novo indivíduo, uma vez que contém toda a informação genética necessária para reconstituir todas as partes da planta e suas funções (FACHINELLO et al., 2005).

As raízes formadas nas estacas são uma resposta ao traumatismo produzido pelo corte quando do preparo da estaca. Após o corte ocorre a formação de uma capa de suberina que reduz a desidratação na área danificada para fins de cicatrização. Geralmente, nessa área, ocorre a formação de uma massa de células parenquimatosas, que constituem um tecido cicatricial pouco diferenciado, denominado calo (FACHINELLO et al., 2005). A formação de calo indica condições favoráveis ao enraizamento, uma vez que as exigências são as mesmas. Comumente é relatada a formação de raízes a partir dos calos, porém a formação do calo e de raízes é independente (HARTMANN et al., 2002).

As células que se tornam meristemáticas dividem-se e originam os primórdios radiciais. Após, células adjacentes ao câmbio e ao floema iniciam a formação de raízes adventícias, que pode ser dividida em duas fases, sendo a primeira de iniciação, caracterizada pela divisão celular, seguida pela fase de diferenciação das células num primórdio radicial, que resulta no crescimento da raiz adventícia (FACHINELLO et al., 2005).

O enraizamento de estacas é determinado por fatores internos, como a condição fisiológica e a idade da planta matriz, a época do ano, o tipo de estaca, o potencial genético de enraizamento e o balanço hormonal; e por fatores externos, como umidade, temperatura, luz, tipo de substrato, tratamento com fitorreguladores e lesão na base da estaca (PAIVA & GOMES, 2005; FACHINELLO et al., 2005).

A condição fisiológica da planta matriz afeta fortemente o enraizamento e se refere ao conjunto das características internas da planta, como conteúdo de água e o teor de reservas e nutrientes, quando da coleta das estacas (FACHINELLO et al., 2005).

Tem-se observado que reservas mais abundantes de carboidratos correlacionam-se com maiores porcentagens de sobrevivência e enraizamento de estacas (FACHINELLO et al., 2005; STENVALL et al., 2009), enfatizando a importância do conteúdo endógeno de carboidratos para o sucesso na clonagem de genótipos selecionados (WENDLING et al., 2013). A importância dos carboidratos está no fato de que a auxina requer uma fonte de carbono para a biossíntese dos ácidos nucleicos e proteínas para a formação das raízes (FACHINELLO et al., 2005).

Estacas colhidas da mesma planta matriz e submetidas aos mesmos tratamentos apresentam diferentes porcentagens de enraizamento, em diferentes épocas do ano. Isto está diretamente relacionado ao teor de carboidratos armazenados na planta matriz (PAIVA & GOMES, 2005). Também a presença de folhas e gemas nas estacas é importante para o estímulo do enraizamento, devido à produção de auxinas e fotoassimilados, garantindo o suprimento de energia (IRITANI & SOARES, 1981; HIGA, 1983; PAIVA & GOMES, 2005), e de cofatores de enraizamento (FACHINELLO et al., 2005).

A época de coleta das estacas tem papel importante na capacidade de enraizamento, pois estacas coletadas no período de crescimento vegetativo (primavera/verão) apresentam-se mais herbáceas e, em geral, mostram maior capacidade de enraizamento. Estacas coletadas no período de repouso vegetativo (inverno) apresentam-se mais lignificadas e tendem a enraizar menos. Por outro lado, estacas menos lignificadas (herbáceas e semilenhosas) são mais propícias à desidratação e à morte, requerendo um manejo adequado em relação ao ambiente (FACHINELLO et al., 2005).

O enraizamento de estacas também é controlado por fatores intrínsecos ao genótipo, pois a variabilidade intraespecífica na habilidade das estacas em formar raízes é significativa (DANIEL, 2009), o que se confirma para a erva-mate (TAVARES, 1992; PRAT KRIKUN et al., 1983; CORRÊA, 1995; STURION & RESENDE, 1997; SANTOS, 2011; HETTWER, 2013).

A formação de raízes adventícias deve-se à interação de fatores existentes nos tecidos e à translocação de substâncias, como os

fitohormônios, em especial as auxinas. A auxina é sintetizada nas gemas apicais e folhas novas, de onde é translocada para a base da planta por um mecanismo de transporte polar. O ácido indolacético (AIA) é a auxina natural que ocorre nas plantas. O ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftalenoacético (ANA) são as auxinas sintéticas mais comumente utilizadas na indução do enraizamento em estacas (FACHINELLO et al., 2005).

Hartmann et al. (2002) destacam que os níveis de AIA nas plantas são variáveis, sendo afetados por fatores como a idade fisiológica do órgão e da planta, as condições ambientais e a parte da planta. Salienta que o AIB, embora menos abundante que o AIA, também é natural.

Além das auxinas, atuam na formação das raízes os cofatores de enraizamento, que são substâncias de ocorrência natural que agem sinergicamente com as auxinas na indução do enraizamento. Também são sintetizados em gemas e folhas jovens, em maior quantidade em estacas coletadas de plantas jovens, e transportados pelo floema (HARTMANN et al., 2002; FACHINELLO et al., 2005). Compostos fenólicos como os monofenóis, e especialmente os difenóis, tem sido indicados como cofatores de enraizamento (GOULART et al., 2011).

Tarragó et al. (2005) observaram que todos os flavonóides testados afetaram o processo de enraizamento em erva-mate, e que a aplicação exógena de quercetina aumentou a porcentagem de enraizamento e melhorou a distribuição de raízes no entorno das estacas de plantas com 20 anos de idade.

A manutenção de condições ambientais favoráveis é fundamental para o enraizamento de estacas. O ambiente de propagação deve proporcionar: a) manutenção de uma atmosfera com baixa demanda evaporativa, minimizando as perdas de água das estacas por transpiração e evitando perda de água excessiva nos tecidos; b) manutenção de temperaturas adequadas para favorecer o processo de regeneração na base das estacas e evitar estresse térmico pelas folhas; e c) manutenção de níveis de radiação adequados para que as estacas mantenham a taxa fotossintética e a produção de carboidratos, sem causar estresse hídrico (HARTMANN et al., 2002).

A umidade é um fator de grande importância na propagação por estaquia, pois para que ocorra a divisão celular é necessário que as células se mantenham túrgidas. A presença de folhas nas estacas é muito importante para a formação das raízes, porém o potencial de perda de água pela transpiração é muito grande, principalmente quando ainda não houve a formação de raízes. A perda de água é uma das principais causas de morte das estacas. Por isso, a manutenção da umidade relativa do ar em torno de 80 a 100% permite que os tecidos mantenham a turgescência, principalmente para estacas de espécies que necessitam de um período maior para a formação das raízes, e quando são utilizadas estacas com folhas ou herbáceas. A utilização de um sistema de nebulização intermitente possibilita a formação de uma fina película de água sobre as folhas, reduzindo a transpiração e mantendo uma temperatura adequada (PAIVA & GOMES, 2005; FACHINELLO et al., 2005).

A temperatura é importante para a indução, desenvolvimento e crescimento das raízes. Porém, temperaturas

elevadas aumentam a taxa de transpiração, levando ao murchamento da estaca (PAIVA & GOMES, 2005; FACHINELLO et al., 2005). Além disso, temperaturas do ar elevadas tendem a promover o surgimento de brotações antes de ocorrer o enraizamento, aumentando a perda de água. A temperatura média ideal para a propagação é cerca de 18 a 25 °C, para espécies de clima temperado, e 7 °C maior para espécies de clima quente. É importante que se mantenha a umidade do ar adequada, permitindo temperaturas mais elevadas no substrato que no ar, aumentando a atividade na base da estaca (HARTMANN et al., 2002).

A luz é fundamental para a fotossíntese como fonte de energia. Os produtos da fotossíntese, principalmente carboidratos e auxinas, são importantes para a indução do enraizamento e o crescimento das raízes (HARTMANN et al., 2002). Além disso, está relacionada com a degradação de compostos fotolábeis, como as auxinas. Comumente, plantas matrizes que são mantidas sob baixa intensidade luminosa possibilitam maiores taxas de enraizamento de estacas, possivelmente devido a preservação dos teores endógenos de auxina e outras substâncias. Na região basal das estacas o ambiente deve ser mantido escuro. Em espécies de difícil enraizamento, o estiolamento dos ramos a serem estaqueados é uma técnica que pode proporcionar resultados mais satisfatórios (FACHINELLO et al., 2005).

Além da função de sustentação das estacas, o substrato influencia na disponibilidade de água e oxigênio no meio, exercendo efeito positivo no processo fisiológico do enraizamento (OLIVEIRA et al., 2003b). O oxigênio é imprescindível para atender a respiração resultante dos processos de formação de calos e raízes. Algumas

espécies enraízam com facilidade em diversos substratos, porém em plantas de difícil enraizamento, o substrato pode influir no enraizamento e na qualidade das raízes formadas. Os substratos mais frequentemente usados são a vermiculita, turfa, serragem, areia, casca de arroz carbonizada, moinha de carvão, solo, entre outros, puros ou misturados (PAIVA & GOMES, 2005; FACHINELLO et al., 2005).

Wendling (2004) enfatiza a necessidade de pesquisas com substratos visando a melhoria do enraizamento de propágulos de erva-mate, destacando a vermiculita, a serragem, a casca de arroz carbonizada, a casca de *Pinus* sp. semi-decomposta e misturas desses substratos. Ressalta que as condições de manejo, principalmente hídrico, devem ser testadas, uma vez que os substratos apresentam diferentes capacidades de retenção de água e, conseqüentemente, diferentes potenciais de promoção do enraizamento.

Brondani et al. (2007) verificaram que o substrato casca de arroz carbonizada + substrato a base de casca de *Pinus* sp. e vermiculita (1:1 v/v) é aconselhado para ser usado para o enraizamento de miniestacas de erva-mate oriundas de material juvenil, tanto em casa de vegetação com controle de umidade e temperatura quanto em casa de vegetação sem controle. Quadros (2009) observou que os substratos casca de arroz carbonizada e substrato comercial a base de casca de *Pinus* sp. são indicados para o enraizamento de microestacas de erva-mate.

Alguns tratamentos podem ser feitos nas estacas a fim de estimular a formação de raízes, podendo-se citar a lesão na base da estaca e a aplicação exógena de reguladores de crescimento.

Lesões na base da estaca são benéficas para o enraizamento de estacas de certas espécies, especialmente quando se encontram mais lignificadas na base. Após a lesão, ocorre a formação do calo e o enraizamento frequentemente ocorre nas margens da lesão. Isto é devido a um incremento na taxa respiratória, nos teores de auxina, carboidratos e etileno na área lesionada. As lesões permitem maior absorção de água e de reguladores de crescimento aplicados. Em algumas espécies, permitem o rompimento de anéis de esclerênquima, que são uma barreira física para a emissão das raízes adventícias (HARTMANN et al., 2002).

A aplicação de auxina exógena em estacas provoca um efeito estimulador na formação de raízes até um valor máximo, a partir do qual qualquer acréscimo na concentração de auxinas tem efeito inibitório (FACHINELLO et al., 2005).

Em plantas de difícil enraizamento, como a erva-mate, é necessária a aplicação de reguladores de crescimento para obtenção de raízes, aumentando o número, a qualidade e a uniformidade das mesmas (WENDLING, 2004). O AIB (ácido indolbutírico), na forma líquida ou em pó, na concentração de  $6.000 \text{ mg L}^{-1}$ , é o mais indicado para uso no enraizamento de estacas de erva-mate (WENDLING & BRONDANI, 2015). O uso de AIB em diferentes concentrações tem se mostrado eficiente na indução do enraizamento de erva-mate quando utilizadas as técnicas de estaquia (IRITANI & SOARES, 1981; GRAÇA et al., 1988; INOUE & PUTTON, 2007; HORBACH, 2008; SANTOS, 2011; HETTWER, 2013), miniestaquia (BRONDANI et al., 2008) e microestaquia (QUADROS, 2009).

### 2.3 Caracterização do germoplasma de erva-mate

O melhoramento genético de plantas contribui sobremaneira para o aumento da produção em diversas espécies de grande importância econômica e/ou social. Esses aumentos na produção resultam da obtenção de novos genótipos, que apresentam rendimentos mais elevados, adaptados a diversas condições ecológicas, muitas das vezes adversas, e resistentes a pragas e doenças. A base do melhoramento genético de qualquer espécie está na sua diversidade genética, o que reflete em respostas a melhores práticas agrônômicas e resistência ou tolerância a diversos fatores bióticos e abióticos. A diversidade contida em um germoplasma deve ser protegida contra eventuais perdas e garantir sua utilização para o aumento da produtividade. Os recursos genéticos vegetais são um reservatório natural de genes com potencial de uso para a produção sustentável de gêneros essenciais à humanidade, tais como alimentos, fibras e medicamentos (SOUZA et al., 2009).

Germoplasma pode ser definido como toda base física do material genético que reúne o conjunto de materiais hereditários de uma espécie (SALOMÃO, 2010).

Já, banco de germoplasma é conceituado como sendo o repositório no qual se armazena a variabilidade genética de uma ou de várias espécies. Geralmente, consiste em base física onde o germoplasma é conservado, podendo estar localizado em centros de pesquisa ou instituições públicas e privadas, que conservam as coleções de germoplasma sob a forma de sementes, explantes *in vitro* ou plantas a campo (FERREIRA, 2011).

No caso da erva-mate, como grande parte da exploração econômica se dá pelo extrativismo, a maioria do germoplasma existente jamais foi avaliada ou utilizada. Esses fatos, aliados à grande devastação que vem sofrendo as florestas naturais que constituem a área de ocorrência natural de erva-mate, faz com que os programas de conservação de recursos genéticos da espécie assumam grande importância e prioridade, como forma de garantir a sua utilização futura (STURION & RESENDE, 2010).

Segundo Sturion & Resende (2010) há variabilidade fenotípica em populações de erva-mate, principalmente quanto à cor do pecíolo (roxo, branco ou amarelo), tamanho da folha, presença ou não de pilosidade nas folhas e susceptibilidade à abscisão foliar. Assim, em uma população, geralmente são observadas gradações entre os diferentes tamanhos de folhas e cores do talo.

Hettwer (2013), em seu estudo com erva-mate *Cambona 4*, objetivando analisar a variabilidade fenotípica relativa à folhas e ramos, verificou que as mudas obtidas pelo método convencional, a partir de sementes, mesmo com a restrição do cruzamento entre apenas uma genitora feminina e um genitor masculino, originaram um erval com variabilidade fenotípica.

### **2.3.1 A análise multivariada na avaliação do germoplasma**

O estudo de diversidade genética é o processo pelo qual a variação entre indivíduos, grupos de indivíduos ou populações, é analisada por um método específico ou uma combinação de métodos (MONTEIRO et al., 2010). A divergência genética é um dos mais

importantes parâmetros avaliados por melhoristas de plantas na fase inicial de um programa de melhoramento genético (RODRIGUES et al., 2010).

A diversidade genética pode ser quantificada por diversas metodologias, entre as quais, a análise multivariada, que permite verificar a dissimilaridade no germoplasma, representar a relação entre as subamostras por dendrogramas ou gráficos de dispersão, e identificar os caracteres com maior contribuição para a divergência genética, dentre outras aplicações (SCHEFFER-BASSO et al., 2012). O princípio consiste em resumir um grande número de características em um grupo menor, e suas dispersões em gráficos no espaço bi ou tridimensional através de suas distâncias, facilitando a análise de dados (CRUZ & REGAZZI, 2001).

Caracteres morfoagronômicos, bioquímicos, citogenéticos e moleculares são utilizados para caracterização da variabilidade genética entre e dentro de populações naturais e bancos de germoplasma (BORÉM & MIRANDA, 2005). A utilização da distância genética por meio de caracteres fenotípicos representa uma técnica auxiliar de grande importância nos programas de melhoramento genético, fornecendo informações úteis na caracterização, conservação e utilização dos recursos genéticos disponíveis (BERTAN et al., 2006). Em erva-mate, Rosse & Fernandes (2002) avaliaram caracteres morfoagronômicos a fim de escolher caracteres de mais fácil mensuração, sujeitos a menos erros, e que se mostrassem associados ao caractere peso de massa verde, para o melhoramento genético da espécie.

A análise multivariada é utilizada com frequência em estudos de variabilidade genética em diversas culturas, como pessegueiro (*Prunus persica*) (SILVA et al., 2014), erva-mate *Cambona 4* (HETTWER, 2013), aveia (*Avena* spp.) (SCHEFFER-BASSO et al., 2012), mamoneira (*Ricinus communis*) (RODRIGUES et al., 2010), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (CARGNELUTTI FILHO et al., 2008), trigo (*Triticum aestivum* L.) (BERTAN et al., 2006), pimenta e pimentão (*Capsicum* spp.) (SUDRÉ et al., 2005), tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) (KARASAWA et al., 2005), algodão (*Gossypium* spp.) (CARVALHO et al., 2003), entre outros.

Estudos de divergência genética em erva-mate utilizando caracteres moleculares foram desenvolvidos entre populações naturais (CANSIAN, 2003; DIAZ et al., 2013; GAUER & CAVALLI-MOLLINA, 2000), entre procedências (VIDOR et al., 2002), entre procedências e progênies (WENDT et al., 2007), e em germoplasma selvagem (CASCALES et al., 2014).

Vários métodos podem ser utilizados para avaliar a divergência genética. Entre esses, os mais empregados são: a análise por componentes principais, quando os dados são obtidos de experimentos sem repetições; a análise por variáveis canônicas, quando os dados são obtidos de experimentos com repetições; e os métodos de agrupamento, cuja aplicação depende da utilização de uma medida de dissimilaridade previamente estimada (OLIVEIRA et al., 2003a).

Os métodos de agrupamento ou aglomerativos (métodos hierárquicos e de otimização) baseados em medidas de dissimilaridade (distância generalizada de Mahalanobis, distância euclidiana e distância euclidiana média) têm sido bastante utilizados (MOREIRA et al.,

2005). A distância generalizada de Mahalanobis necessita de repetições para ser estimada, já a distância euclidiana pode ser estimada tomando-se por base dados sem repetições (CARVALHO et al., 2003), como é o caso deste estudo, tornando-se viável sua aplicação.

As técnicas de análise de agrupamento têm por objetivo dividir, seguindo-se algum critério de similaridade ou dissimilaridade, um grupo original de observações em vários outros grupos (CRUZ et al., 2004), de forma a obter homogeneidade dentro e heterogeneidade entre os grupos (BERTAN et al., 2006), sendo adequada para identificar os genótipos divergentes e com maior probabilidade de sucesso nos cruzamentos (CARGNELUTTI FILHO et al., 2008).

Nos métodos hierárquicos os genótipos são agrupados por um processo que se repete em vários níveis, sendo estabelecido um dendrograma, sem preocupação com o número ótimo de grupos (BERTAN et al., 2006). Nos métodos de otimização, os grupos são estabelecidos aperfeiçoando determinado critério de agrupamento, diferindo dos métodos hierárquicos pelo fato de os grupos formados serem mutuamente exclusivos. Um dos métodos de otimização mais utilizados no melhoramento genético é o de Tocher, que parte da premissa de que a média das medidas de dissimilaridade dentro de cada grupo deve ser menor que as distâncias médias entre grupos (CRUZ & REGAZZI, 2001).

A análise de componentes principais possibilita redução do número de variáveis através de critérios objetivos, permitindo a construção de gráficos bidimensionais contendo maior informação estatística. É utilizada também como critério para julgar a importância das próprias variáveis originais escolhidas, ou seja, as variáveis com

maior peso na combinação linear dos primeiros componentes principais são as mais importantes do ponto de vista estatístico (MOITA NETO & MOITA, 1998). O produto final da análise de componentes principais é um gráfico em que a variação entre amostras ou entre variáveis é representada em dois eixos cartesianos. Quanto mais próximas duas variáveis no gráfico, maior a correlação entre elas, e quanto maior a proximidade de duas amostras, significa maior semelhança entre elas em relação às variáveis estudadas (RICCI et al., 2011).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho consistiu de dois estudos: 1) Divergência genética em germoplasma de erva-mate com base em caracteres fenotípicos; 2) Propagação por estaquia de genótipos de erva-mate.

#### **3.1 Estudo 1 – Divergência genética em germoplasma de erva-mate com base em caracteres fenotípicos**

##### **3.1.1 Material vegetal**

A pesquisa, de caráter descritiva, foi realizada em trinta genótipos de erva-mate (Figuras 1, 2, 3 e 4), dez plantas femininas e vinte masculinas (Tabela 1), pré-selecionados em um erval comercial, com base em características fenotípicas diferenciadas, como morfologia foliar, porte da planta e volume de folhas, vislumbrando tornarem-se possíveis matrizes.

O erval, com 12 anos de idade, foi implantado com mudas propagadas a partir de sementes, no espaçamento de 2,5 m entre plantas na linha e 3,0 m entre linhas. A última colheita das plantas havia sido feita em novembro de 2013, no sistema de poda drástica.

Tabela 1 – Expressão sexual dos trinta genótipos de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015

<b>Genótipo</b>	<b>Expressão sexual</b>
G1	Masculina
G2	Masculina
G3	Masculina
G4	Feminina
G5	Masculina
G6	Feminina
G7	Feminina
G8	Feminina
G9	Masculina
G10	Feminina
G11	Feminina
G12	Feminina
G13	Masculina
G14	Masculina
G15	Feminina
G16	Masculina
G17	Feminina
G18	Masculina
G19	Masculina
G20	Masculina
G21	Feminina
G22	Masculina
G23	Masculina
G24	Masculina
G25	Masculina
G26	Masculina
G27	Masculina
G28	Masculina
G29	Masculina
G30	Masculina

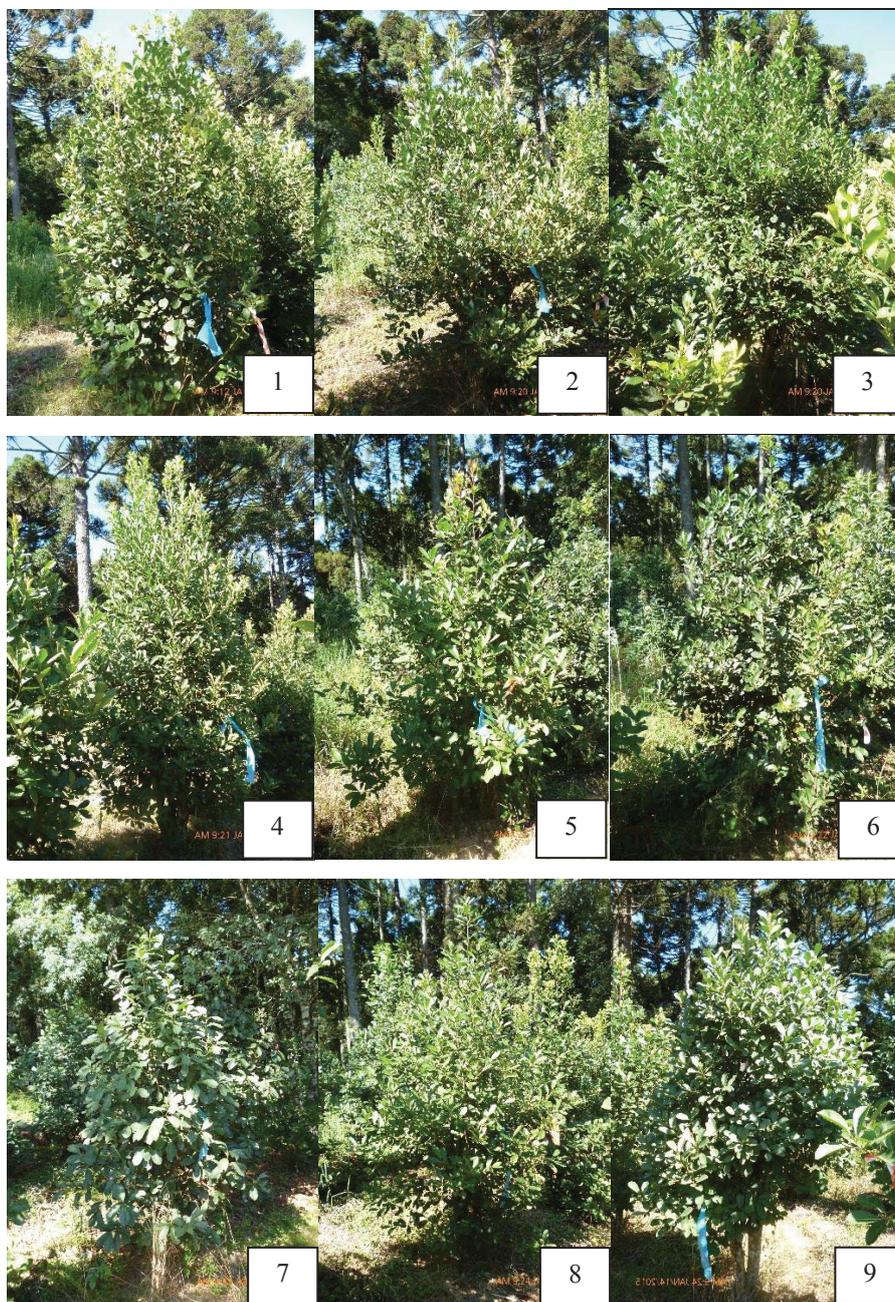


Figura 1 – Genótipos 1 a 9 selecionados em um erval comercial localizado em Mato Castelhano, RS, 2015.

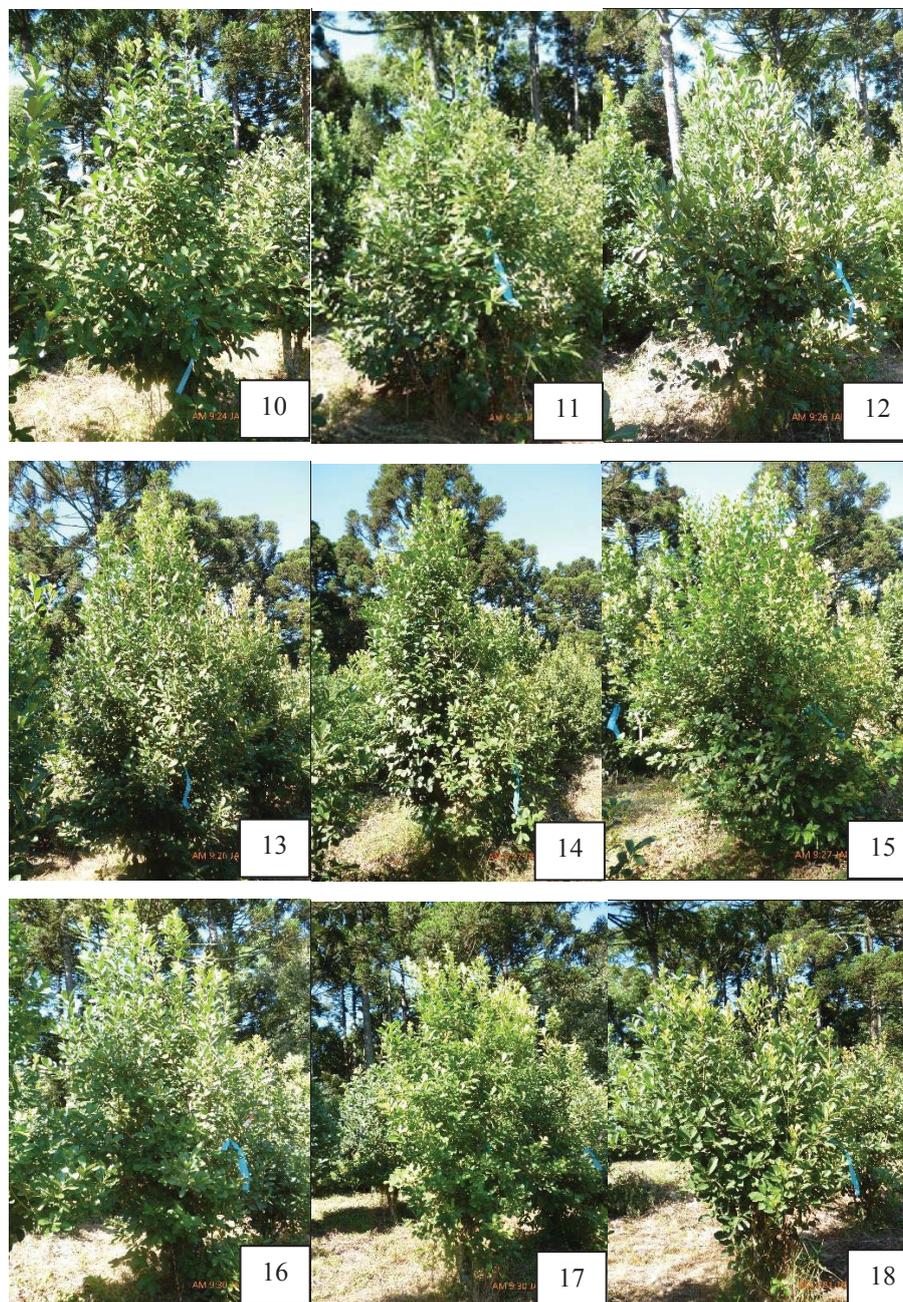


Figura 2 – Genótipos 10 a 18 selecionados em um erval comercial localizado em Mato Castelhano, RS, 2015.

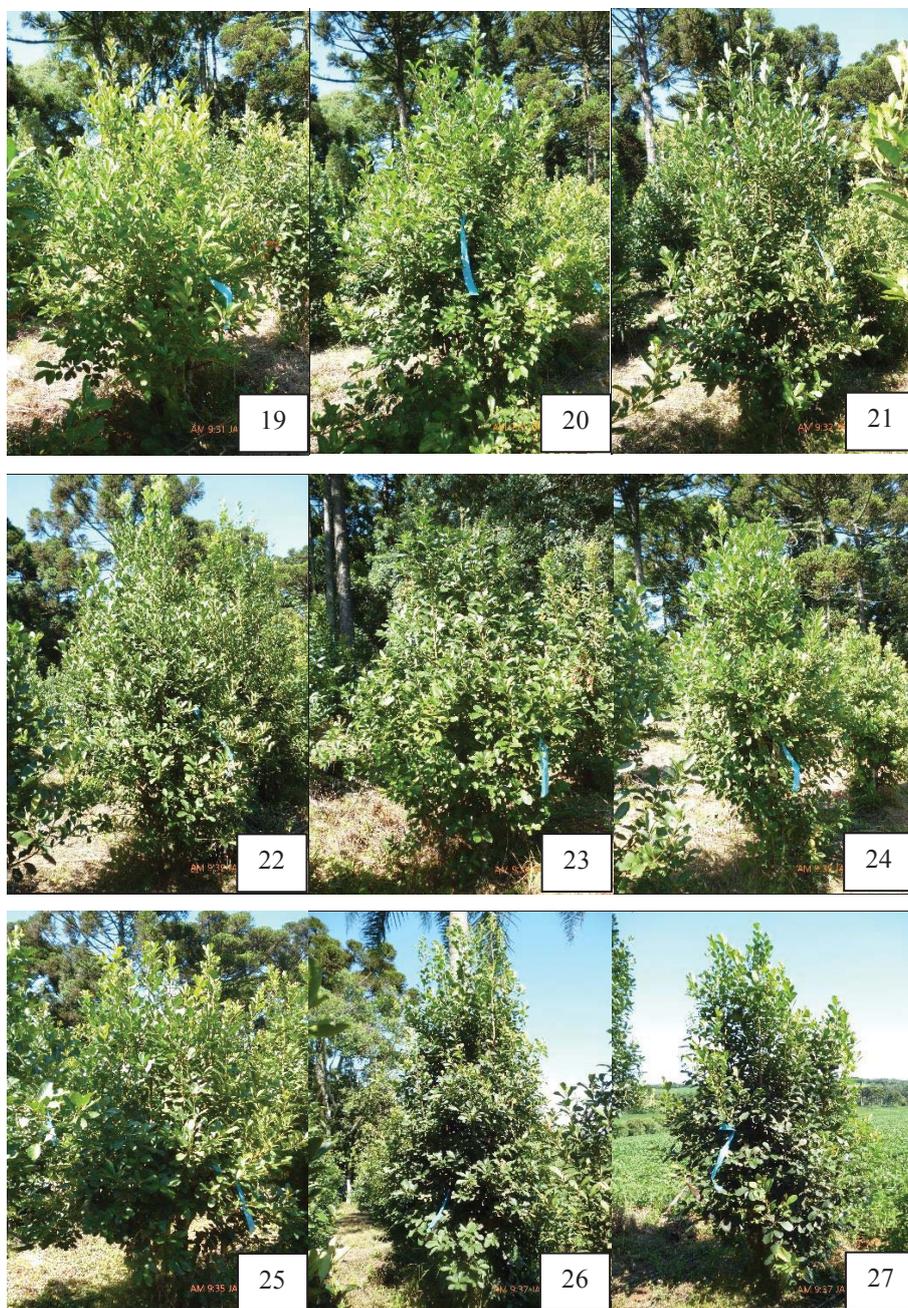


Figura 3 – Genótipos 19 a 27 selecionados em um erval comercial localizado em Mato Castelhano, RS, 2015.



Figura 4 – Genótipos 28 a 30 selecionados em um erval comercial localizado em Mato Castelhana, RS, 2015.

### 3.1.2 Local e período

O erval está localizado a S -28.27862 W -52.17279 (Figura 5), no município de Mato Castelhana, RS, na altitude de 724 m, na região do Planalto Médio, com clima do tipo Cfa, segundo a classificação climática de Köppen, úmido em todas as estações do ano, com chuvas bem distribuídas e verão quente (KUINCHTNER & BURIAL, 2001). As avaliações foram feitas em setembro de 2015.

### 3.1.3 Procedimentos

A avaliação dos genótipos foi feita com base em 11 caracteres: 1) Ramos: número de folhas por metro linear de ramo e distância entre folhas; 2) Folhas: comprimento, largura, área foliar, área foliar específica, teor de clorofila a, b e total, massa fresca e seca.

Os ramos foram caracterizados *in situ*, a partir de uma amostra de oito ramos de médio vigor por planta, dois ramos em cada

quadrante da planta. Na extensão de 0,5 m do ramo, sem considerar o segmento apical, foi contado o número de folhas e, por divisão, determinada a distância entre folhas (comprimento dos entrenós) e estimado o número de folhas por metro linear de ramo.

A caracterização das folhas foi feita a partir de uma amostra de quarenta folhas por planta, coletadas cinco folhas de cada um dos oito ramos. Após, as folhas foram umedecidas com pulverizador manual, colocadas em saco de polietileno fechado e transportadas em caixas de isopor com gelo para o Laboratório de Virologia Vegetal da FAMV/UPF.

No laboratório foi utilizada uma régua para medir o comprimento e a largura das folhas, considerando apenas o limbo. A área foliar foi determinada com um integrador de área foliar LI-COR, modelo LI-3000. A área foliar específica foi obtida pela divisão do valor da área foliar pelo valor de massa seca. Os teores de clorofila a, b e total foram determinados utilizando um clorofilômetro Falker modelo CFL 1030 realizando-se a medição no terço apical do limbo foliar. Após a determinação da massa fresca, as folhas foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em estufa a 60 °C, até estabilizar a massa, para a avaliação da massa seca. As pesagens de massa fresca e seca foram realizadas em balança eletrônica com precisão de 0,001 g.

#### **3.1.4 Análise dos dados**

A análise dos dados foi feita inicialmente por estatística descritiva, determinando-se a média  $\pm$  desvio padrão dos trinta genótipos.

Para avaliar a diversidade entre os genótipos, foram utilizadas as técnicas multivariadas de análise de componentes principais e métodos de agrupamento. Foi gerada a matriz de distância euclidiana média padronizada (D), a ser utilizada como medida de dissimilaridade para testar os métodos hierárquicos de agrupamento de ligação simples (vizinho mais próximo), ligação completa (vizinho mais distante), Ward e ligação média entre grupos (UPGMA), e método de otimização de Tocher. De todos os métodos hierárquicos de agrupamento foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (CCC) para escolha do melhor método de agrupamento, além da avaliação visual do dendrograma. Foi obtida a contribuição relativa dos caracteres para a divergência genética pelo método de Singh (1981). As análises estatísticas foram feitas utilizando-se o programa Genes (CRUZ, 2013).



Figura 5 – Localização do erval. Mato Castelhano, RS, 2015.

## **3.2 Estudo 2 – Propagação por estaquia de genótipos de erva-mate**

### **3.2.1 Material vegetal**

Os trinta genótipos de erva-mate caracterizados no Estudo 1, selecionados em um erval comercial implantado com mudas produzidas a partir de sementes, foram avaliados quanto ao potencial de enraizamento de estacas, considerando que, para se tornarem potenciais plantas matrizes um dos requisitos fundamentais é a satisfatória resposta na utilização da técnica. Foram utilizadas estacas apicais semilenhosas de plantas que haviam sido colhidas no sistema de poda drástica há 21 meses (novembro de 2013), portanto, submetidas há um certo grau de rejuvenescimento por conta da forma e intervalo de tempo entre colheitas.

### **3.2.2 Local e período**

A estaquia foi realizada em 15 de janeiro estendendo-se até 15 de maio, na Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), em Passo Fundo, RS, município situado nas coordenadas 28°15' S e 52°24' O, altitude de 680 m, na região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul.

Segundo a classificação climática de Köppen, o clima da região é do tipo subtropical úmido (Cfa), úmido em todas as estações do ano, com chuvas bem distribuídas e verão quente (KUINCHTNER & BURIOL, 2001).

As estacas foram colocadas para enraizar em uma estufa plástica revestida de polietileno de baixa densidade (PEBD) com 150 µm de espessura, dotado de aditivo antiultravioleta, e cortinas laterais do mesmo material. A estufa possuía sistema de nebulização intermitente, com linhas de irrigação distanciadas de 1,5 m, com bicos nebulizadores dispostos a cada 1 m. O sistema de nebulização, controlado por um *timer*, foi regulado para ser acionado em intervalos de 8 minutos, com duração do molhamento de 10 segundos.

### **3.2.3 Tratamentos e delineamento experimental**

Os tratamentos consistiram nos trinta genótipos. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e 12 estacas por parcela.

### **3.2.4 Procedimentos**

A coleta das estacas herbáceas foi feita com tesoura de poda, mantendo 3-4 folhas para reduzir a transpiração, umedecidas com pulverizador manual, acondicionadas em sacos de polietileno e em caixas de isopor com gelo, para transporte até o Laboratório de Virologia Vegetal da FAMV-UPF.

No laboratório, as estacas foram submetidas à desinfestação mediante imersão, por cinco minutos, em solução de hipoclorito de sódio 5%, e lavadas em água corrente. Posteriormente, as estacas foram padronizadas com 10 cm, eliminando transversalmente o ápice, e corte em bisel na base, mantendo um par de folhas pela metade (Figura 6A).

No preparo da solução de AIB, o produto puro ( $C_{12}H_{13}NO_2$  - cristalino) da marca Sigma, foi dissolvido e diluído em 50% de álcool etílico 70 °GL, completando o volume com água destilada.

Na execução da estaquia foi feita a lesão na base das estacas, com raspagem da casca na extensão de 2 cm utilizando um canivete de enxertia, de forma bilateral, para exposição do câmbio e melhor absorção do AIB. A região basal das estacas (em torno de 3- 4 cm) foi imersa por 10 segundos na solução de  $8.000 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB, e plantadas a uma profundidade média de 4 cm, em tubetes plásticos de 46,5 mm x 46,5 mm de diâmetro (quadrados) e 140 mm de comprimento ( $140 \text{ cm}^3$ ), utilizando como substrato casca de arroz carbonizada. Os tubetes foram acondicionados em bandejas de 96 células (Figura 6B).

Para determinação dos açúcares solúveis totais, o extrato bruto foi obtido pela homogeneização de 200 g de matéria seca foliar em cadinhos de porcelana, com auxílio de um pistilo. Para extração utilizou-se 2 ml de tampão fosfato de potássio 0,2 M pH 6,7 (gelado) seguido de centrifugação por 1,5 minutos a 3.000 rpm. Os açúcares solúveis totais foram determinados utilizando o método do ácido fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). O meio de reação continha 10  $\mu\text{l}$  do extrato bruto, 990  $\mu\text{l}$  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 seca.

### **3.2.5 Avaliações e análise estatística**

Semanalmente foram avaliadas as porcentagens de sobrevivência e retenção foliar. Por ocorrer certa estabilidade dos dados durante o período, considerou-se para a análise estatística as avaliações feitas aos 7, 14, 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112 e 120 dias. Os dados foram submetidos à análise de variância considerando o delineamento parcela subdividida com medidas repetidas no tempo, e as diferenças entre médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Após 120 dias foram avaliadas a porcentagem de sobrevivência, de retenção foliar, de estacas enraizadas e com calo, comprimento das três maiores raízes, massa fresca e seca de raízes. 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.

As análises estatísticas foram feitas utilizando-se o programa Genes (CRUZ, 2013).

Após a avaliação, todas as estacas vivas, incluindo as que haviam enraizado, mas cujas raízes foram retiradas para as avaliações, foram recolocadas nos tubetes, sem aplicação de AIB, e mantidas de maio a outubro para avaliar a capacidade de enraizar ou, para aquelas que tiveram as raízes eliminadas, retomar o processo.



Figura 6 – Estacas padronizadas com 10 cm, mantidas duas folhas pela metade (A); vista geral da estaquia (B). Passo Fundo, RS, 2015.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Estudo 1 – Divergência genética em germoplasma de erva-mate com base em caracteres fenotípicos

#### 4.1.1 Caracterização das folhas e ramos

A variabilidade entre genótipos de erva-mate, gerada pela utilização de mudas obtidas a partir de sementes, permitiu a seleção, em um pequeno erval comercial, de plantas com características fenotípicas diferenciadas quanto às características das folhas e ramos.

O comprimento médio das folhas foi de 9,1 cm (Tabela 2). Considerando a diferença de 1 desvio padrão da média, o genótipo G7 (12,1 cm), seguido de G8 e G11 (10,7 e 11,0 cm), foram os que apresentaram maior comprimento, e G15, G16 e G26 menor comprimento, entre 7,2 e 7,8 cm. A largura média do limbo foliar foi de 4,1 cm. Também o G7 (5,6 cm) apresentou a maior largura de folha, seguido de G14, G18 e G27, entre 4,6 e 4,9 cm. O genótipo G2 revelou menor largura (3,4 cm). A área foliar média foi de 25,8 cm<sup>2</sup>, com destaque para o G7 (49,7 cm<sup>2</sup>), que apresentou maior comprimento e largura da folha, seguido do G11 (32,9 cm<sup>2</sup>), em razão, principalmente, do comprimento. Os genótipos G2, G5, G15 e G16 revelaram menor área foliar. As Figuras 7, 8, 9, 10 e 11 ilustram as folhas apresentadas por cada genótipo avaliado.

Tabela 2 – Características de limbo foliar de trinta genótipos de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015

Genótipo	Folhas			Área foliar específica (cm <sup>2</sup> /g massa seca)
	Comprimento (cm)	Largura (cm)	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	
G1	9,5 ± 0,9 c	4,2 ± 0,4 c	27,1 ± 4,6 c	62,9 ± 10,8 d
G2	8,4 ± 0,8 d	3,4 ± 0,4 e	19,3 ± 3,7 e	67,2 ± 12,9 c
G3	9,0 ± 0,7 d	4,0 ± 0,3 d	24,5 ± 3,6 d	67,7 ± 9,8 c
G4	9,6 ± 0,9 c	4,3 ± 0,5 c	28,0 ± 5,7 c	66,9 ± 13,6 c
G5	8,1 ± 1,0 d	3,6 ± 0,5 d	19,3 ± 5,9 e	78,2 ± 23,9 b
G6	8,6 ± 0,6 d	4,0 ± 0,4 d	23,0 ± 2,9 d	70,3 ± 9,0 c
G7	12,1 ± 1,3 a	5,6 ± 0,6 a	49,7 ± 11,1 a	73,3 ± 16,3 c
G8	10,7 ± 1,2 b	3,8 ± 0,4 d	28,2 ± 5,0 c	65,7 ± 11,7 d
G9	9,1 ± 0,7 c	4,3 ± 0,3 c	26,6 ± 3,5 c	70,5 ± 9,2 c
G10	8,4 ± 0,8 d	4,3 ± 0,4 c	23,1 ± 5,0 d	70,2 ± 15,3 c
G11	11,0 ± 1,2 b	4,5 ± 0,4 c	32,9 ± 5,9 b	54,3 ± 9,7 e
G12	8,7 ± 0,7 d	3,9 ± 0,4 d	22,2 ± 4,1 d	62,5 ± 11,4 d
G13	9,1 ± 0,7 c	3,9 ± 0,4 d	24,8 ± 3,9 d	63,7 ± 9,9 d
G14	8,7 ± 0,7 d	4,6 ± 0,3 b	27,7 ± 3,5 c	71,0 ± 9,0 c
G15	7,4 ± 0,8 e	3,9 ± 0,5 d	19,2 ± 4,5 e	79,4 ± 18,6 b
G16	7,8 ± 0,7 e	3,6 ± 0,4 d	18,6 ± 2,9 e	67,9 ± 10,6 c
G17	8,4 ± 0,8 d	3,6 ± 0,4 d	21,5 ± 3,7 d	70,5 ± 12,2 c
G18	10,0 ± 1,2 c	4,6 ± 0,5 b	30,7 ± 6,5 c	63,2 ± 13,4 d
G19	8,6 ± 0,7 d	4,3 ± 0,4 c	25,4 ± 4,1 d	55,5 ± 9,1 e
G20	9,4 ± 0,8 c	4,0 ± 0,3 d	25,4 ± 4,1 d	61,2 ± 9,8 d
G21	8,6 ± 0,9 d	3,6 ± 0,4 d	21,3 ± 3,7 d	65,9 ± 11,3 d
G22	9,6 ± 1,0 c	4,4 ± 0,4 c	29,7 ± 5,4 c	72,6 ± 13,3 c
G23	9,3 ± 1,0 c	4,0 ± 0,4 d	25,4 ± 5,1 d	68,3 ± 13,7 c
G24	8,7 ± 0,9 d	3,7 ± 0,5 d	22,9 ± 4,6 d	60,0 ± 12,2 d
G25	9,5 ± 1,1 c	4,2 ± 0,4 d	27,9 ± 5,2 c	61,1 ± 11,4 d
G26	7,2 ± 1,0 e	4,1 ± 0,4 c	20,7 ± 4,7 d	86,4 ± 19,5 a
G27	8,6 ± 1,0 d	4,9 ± 0,6 b	29,7 ± 5,8 c	50,1 ± 9,9 e
G28	9,6 ± 0,8 c	4,2 ± 0,5 c	27,8 ± 5,1 c	65,9 ± 12,0 d
G29	9,9 ± 0,8 c	3,8 ± 0,3 d	25,9 ± 3,9 c	59,5 ± 8,9 d
G30	8,9 ± 0,8 d	4,1 ± 0,5 c	25,2 ± 4,8 d	65,1 ± 12,4 d
<b>Média±DP</b>	9,1 ± 1,0	4,1 ± 0,5	25,8 ± 5,8	66,6 ± 7,4
<b>Variância</b>	1,0	0,2	34,0	55,5

Médias seguidas de mesma letra não diferem considerando a diferença de 1 desvio padrão da média.



Figura 7 – Variabilidade das folhas de trinta genótipos de erva-mate. Mato Castelhano, RS, 2015.

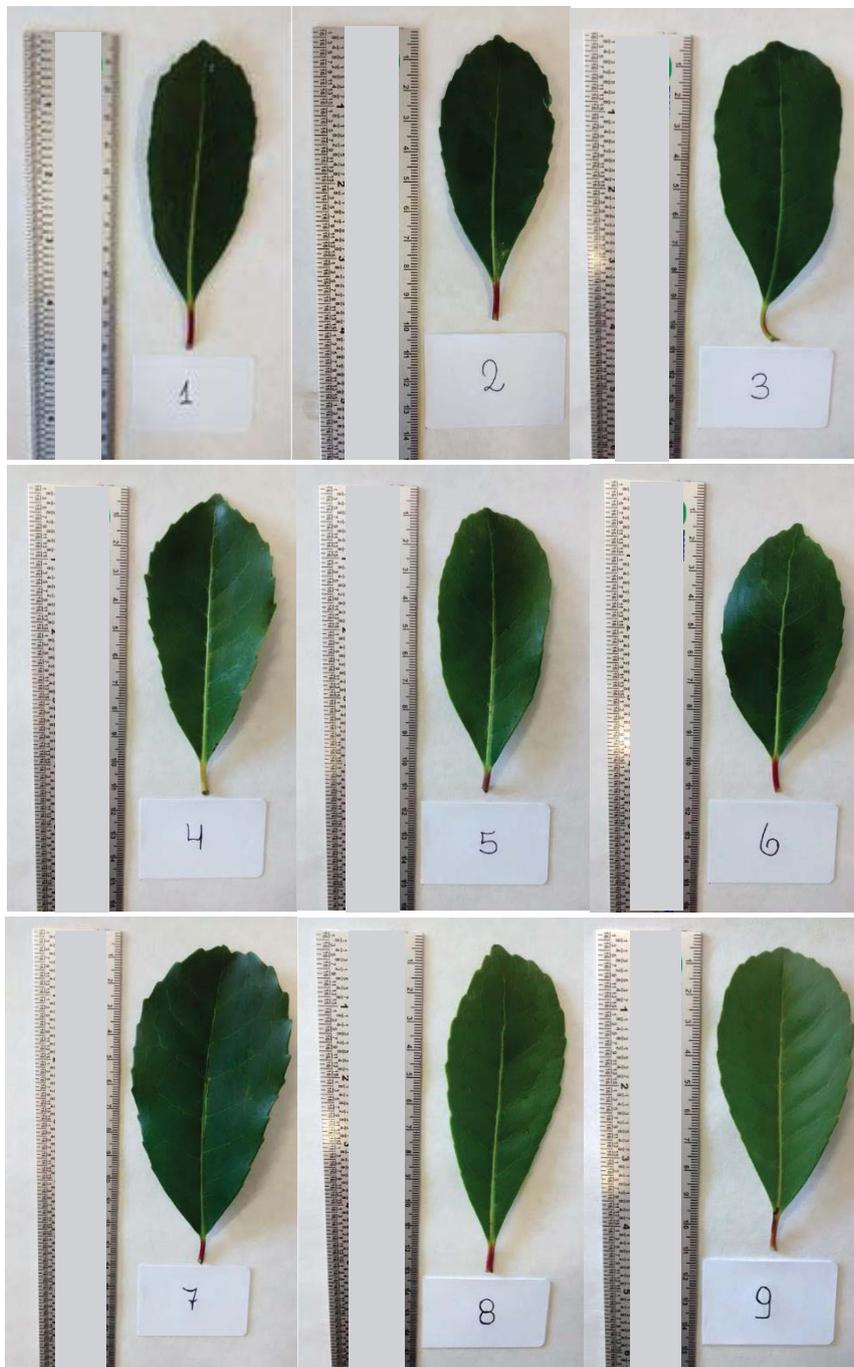


Figura 8 – Folha representativa da média dos genótipos 1 a 9 de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.



Figura 9 – Folha representativa da média dos genótipos 10 a 18 de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.



Figura 10 – Folha representativa da média dos genótipos 19 a 27 de erva-mate. Mato Castelhanos, RS, 2015.



Figura 11 – Folha representativa da média dos genótipos 28 a 30 de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015.

A área foliar específica expressa a razão entre a área foliar e a massa seca das folhas. Portanto, o inverso da área foliar específica reflete a espessura das folhas. Assim, folhas podem apresentar o mesmo valor ou muito próximos para área foliar, mas com área foliar específica diferentes. Por exemplo, os genótipos G22 e G27 mostraram a mesma área foliar, de 29,7 cm<sup>2</sup>, porém o G22 apresentou área foliar específica de 72,6 cm<sup>2</sup>/g e o G27 de 50,1 cm<sup>2</sup>/g. Portanto, o G27 se caracterizou por folhas mais espessas em relação ao G22. Verificou-se, para essa variável, que dentre os genótipos, o que revelou folha menos espessa foi o G26 (86,4 cm<sup>2</sup>/g), seguido de G5 e G15 (78,2 e 79,4 cm<sup>2</sup>/g, respectivamente), e folhas mais espessas, os genótipos G11, G19 e G27, entre 50,1 e 55,5 cm<sup>2</sup>/g. Esse caractere, associado a outros, como número de folhas por metro de ramo, velocidade e porte da planta, ramificação, capacidade de retenção de folhas, entre outros, definem a capacidade produtiva da erva-mate.

No trabalho de Hettwer (2013), com a erva-mate *Cambona 4*, também foi verificada variabilidade entre genótipos quanto às características das folhas, obtendo valores médios mais elevados que no presente trabalho. Na *Cambona 4* a média para comprimento foi de 9,7 cm, largura de 4,9 cm e área foliar de 40,2 cm<sup>2</sup>, mas variações ocorreram de 7,6 a 11,8 cm de comprimento, 3,7 a 5,7 cm de largura, e 22,8 a 49,6 cm<sup>2</sup> de área foliar.

As médias de massa fresca e massa seca de folhas foram de 1,04 g e 0,4 g, respectivamente (Tabela 3). Com folhas de maior tamanho, o genótipo G7 apresentou a maior massa fresca de folha (1,88 g) e massa seca (0,68 g), seguido dos genótipos G11 (1,55 e 0,61 g, respectivamente) e G 27 (1,50 e 0,59 g). Por sua vez, os genótipos G2, G5, G15, G16 e G26, com menor área foliar (Tabela 2), também revelaram menor massa fresca (0,66 a 0,76 g) e seca (0,24 a 0,29 g).

A distância média entre folhas no ramo foi de 2,1 cm e a presença de 53 folhas/m de ramo. A maior distância entre folhas foi determinada nos genótipos G7 e G5, com 3,5 e 3,1 cm, respectivamente, levando a apresentarem também o menor número de folhas por metro de ramo (30 e 33 folhas, respectivamente), juntamente com o G10 (39 folhas). A menor distância foi verificada nos genótipos G12, G13, G21, G26 e G28, entre 1,4 e 1,5 cm, determinando maior número de folhas por metro de ramo, de 66 a 74 folhas.

Tabela 3 – Massa fresca e seca de folha, distância entre folhas e número de folhas por metro de ramo de trinta genótipos de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015

Genótipo	Massa fresca de folha (g/folha)	Massa seca de folha (g/folha)	Distância entre folhas (cm)	Nº folhas/m ramo
G1	1,08 c	0,43 c	2,5 ± 0,4 c	42 ± 8 c
G2	0,76 e	0,29 e	1,8 ± 0,4 d	58 ± 10 b
G3	0,93 d	0,36 d	2,0 ± 0,2 d	52 ± 5 c
G4	1,14 b	0,42 c	2,3 ± 0,4 c	45 ± 7 c
G5	0,72 e	0,25 e	3,1 ± 0,7 a	33 ± 8 d
G6	0,88 d	0,33 d	2,2 ± 0,3 c	45 ± 5 c
G7	1,88 a	0,68 a	3,5 ± 1,1 a	30 ± 8 d
G8	1,16 c	0,43 c	2,6 ± 0,6 b	41 ± 10 c
G9	0,94 d	0,38 d	1,7 ± 0,4 d	61 ± 14 b
G10	0,90 d	0,33 d	2,7 ± 0,6 b	39 ± 9 d
G11	1,55 b	0,61 a	1,7 ± 0,3 d	59 ± 8 b
G12	0,99 d	0,36 d	1,4 ± 0,2 e	74 ± 8 a
G13	0,99 d	0,39 d	1,4 ± 0,1 e	72 ± 7 a
G14	0,81 d	0,39 d	2,6 ± 0,6 b	41 ± 9 c
G15	0,66 e	0,24 e	1,8 ± 0,3 d	58 ± 14 b
G16	0,78 d	0,27 e	1,8 ± 0,2 d	58 ± 6 b
G17	0,88 d	0,30 d	1,6 ± 0,3 d	64 ± 14 b
G18	1,30 c	0,49 c	1,8 ± 0,3 d	58 ± 8 b
G19	1,11 c	0,46 c	2,4 ± 0,4 c	43 ± 7 c
G20	0,95 d	0,42 c	2,2 ± 0,5 c	48 ± 10 c
G21	0,88 d	0,32 d	1,5 ± 0,3 e	69 ± 12 a
G22	1,16 c	0,41 c	1,7 ± 0,4 d	60 ± 11 b
G23	1,03 d	0,37 d	2,4 ± 0,8 c	46 ± 18 c
G24	0,92 d	0,38 d	2,1 ± 0,2 c	48 ± 4 c
G25	1,18 c	0,46 c	2,3 ± 0,6 c	46 ± 10 c
G26	0,67 e	0,24 e	1,5 ± 0,2 e	66 ± 6 a
G27	1,50 b	0,59 b	2,1 ± 0,3 c	48 ± 7 c
G28	1,23 c	0,42 c	1,4 ± 0,1 e	71 ± 6 a
G29	1,15 c	0,44 c	1,7 ± 0,4 d	63 ± 15 b
G30	1,04 c	0,39 d	2,2 ± 0,5 c	47 ± 10 c
<b>Média ± DP</b>	1,04 ± 0,27	0,40 ± 0,10	2,1 ± 0,50	53 ± 12
<b>Variância</b>	0,07	0,01	0,3	137

Médias seguidas de mesma letra não diferem considerando a diferença de 1 desvio padrão da média.

O número de folhas por metro de ramo é um indicativo do potencial de brotações pela presença das gemas axilares. Considerando apenas os caracteres de MF e NFMR, sem levar em conta o ritmo de crescimento da planta, a distribuição de ramos na copa, a capacidade de retenção das folhas, entre outros fatores, poderia se inferir que a produtividade em massa fresca de folha, por metro de ramo, é mais elevada nos genótipos G11 (91,1 g) e G28 (87,1 g), seguidos de G18, G12, G29, G27 e G13, com 71,4 g a 74,8 g.

Com a erva-mate *Cambona 4*, Hettwer (2013) observou valores de 1,06 a 1,63 g de massa fresca de folha, 0,29 a 0,69 g de massa seca, e distância entre folhas variando de 1,5 a 3,3 cm, com 30 a 47 folhas/m de ramo, valores superiores aos observados neste estudo.

Variabilidade em dois ervais implantados com mudas por propagação sexuada foi observada por Dalazen et al. (2012), em Ilópolis e Arvorezinha (RS) com relação à área foliar e massa seca foliar de cada indivíduo. Em um dos ervais, as folhas apresentaram o dobro de área foliar sob sombreamento, em comparação à pleno sol, o que não ocorreu no outro erval.

A importância dessas características da planta foi destacada por Sturion & Resende (2005), que observaram diferentes comportamentos entre procedências, e indivíduos dentro de procedências quanto à massa foliar.

Verificou-se variação nos índices de clorofila entre os genótipos (Tabela 4). O índice Falker médio de clorofila *a* foi de 40,2, de clorofila *b* 25,9 e de clorofila total 66,1. Os genótipos G1, G2, G12, G14, G22, G27 e G29 se destacaram pelo maior índice, entre 42,1 e 43,4. Os mais baixos índices foram detectados nas folhas dos genótipos

G5, G10, G13, G17 e, G19, entre 34,9 e 37,8. O G27, além de revelar maior índice de clorofila *a*, também apresentou maior clorofila *b* e, conseqüentemente, clorofila total. Os genótipos G28 e G29 também se destacaram com maior teor de clorofila *b* e total.

As clorofilas são pigmentos responsáveis pela captura de luz usada na fotossíntese, sendo essenciais na conversão da radiação luminosa em energia química, na forma de ATP e NADPH (JESUS & MARENCO, 2008). O conteúdo de clorofilas nas folhas é um dos fatores ligados à eficiência fotossintética de plantas, e conseqüentemente ao crescimento e adaptabilidade a diversos ambientes. Não só a concentração total de clorofila, mas também a proporção entre os diversos tipos desta (clorofila *a* e *b*, por exemplo) mudam em função da intensidade luminosa (ENGEL & POGGIANI, 1991).

Tabela 4 – Índice Falker de Clorofila (IFC) a, b e total nas folhas de trinta genótipos de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015

<b>Genótipo</b>	<b>Clorofila a</b>	<b>Clorofila b</b>	<b>Clorofila Total</b>
G1	42,6 ± 0,7 a	35,2 ± 3,9 b	77,8 ± 4,4 b
G2	42,8 ± 0,9 a	31,8 ± 5,0 c	74,6 ± 5,8 b
G3	40,1 ± 1,3 b	25,3 ± 5,4 d	65,4 ± 6,7 d
G4	40,9 ± 2,2 b	27,1 ± 7,0 c	68,0 ± 8,9 c
G5	37,6 ± 1,8 d	17,7 ± 4,1 e	55,2 ± 5,7 e
G6	41,7 ± 1,4 b	26,3 ± 6,0 c	68,0 ± 7,3 c
G7	41,3 ± 1,2 b	26,3 ± 5,2 c	67,6 ± 6,2 c
G8	40,3 ± 1,3 b	21,4 ± 4,1 d	61,8 ± 5,3 d
G9	38,3 ± 2,7 c	24,9 ± 5,3 d	63,2 ± 7,5 d
G10	37,6 ± 2,7 d	15,8 ± 3,9 e	53,4 ± 6,6 e
G11	40,3 ± 1,8 b	23,4 ± 5,8 d	63,7 ± 7,5 d
G12	42,7 ± 1,1 a	31,7 ± 5,8 c	74,4 ± 6,8 b
G13	37,8 ± 3,7 d	24,9 ± 5,1 d	62,7 ± 8,0 d
G14	42,1 ± 1,1 a	32,1 ± 5,9 c	74,2 ± 6,8 c
G15	40,4 ± 1,8 b	22,7 ± 5,4 d	63,0 ± 7,0 d
G16	41,0 ± 3,1 b	25,3 ± 7,9 d	66,3 ± 10,6 c
G17	34,9 ± 3,3 e	12,3 ± 3,2 f	47,2 ± 6,4 f
G18	39,6 ± 2,5 c	22,9 ± 6,4 d	62,5 ± 8,3 d
G19	37,4 ± 2,3 d	20,1 ± 5,6 d	57,6 ± 7,8 d
G20	38,8 ± 2,2 c	18,0 ± 4,5 e	56,8 ± 6,6 e
G21	39,9 ± 3,2 c	24,3 ± 5,7 d	64,2 ± 7,9 d
G22	42,1 ± 0,9 a	29,2 ± 4,7 c	71,3 ± 5,5 c
G23	39,7 ± 2,1 c	26,7 ± 7,3 c	66,4 ± 9,2 c
G24	38,3 ± 1,6 c	21,7 ± 4,4 d	59,9 ± 5,8 d
G25	41,0 ± 2,1 b	27,4 ± 5,8 d	68,4 ± 7,1 c
G26	40,6 ± 2,8 b	26,5 ± 7,7 c	67,1 ± 10,0 c
G27	43,4 ± 0,6 a	41,6 ± 3,9 a	85,0 ± 4,4 a
G28	40,9 ± 1,0 b	38,4 ± 4,8 b	79,3 ± 5,6 b
G29	42,1 ± 0,9 a	35,2 ± 5,2 b	77,3 ± 6,0 b
G30	39,0 ± 3,3 c	21,1 ± 6,2 d	60,0 ± 9,2 d
<b>Média ± DP</b>	40,2 ± 1,9	25,9 ± 6,5	66,1 ± 8,3
<b>Variância</b>	3,8	42,8	68,3

Médias seguidas de mesma letra não diferem considerando a diferença de 1 desvio padrão da média.

#### 4.1.2 Análise multivariada na avaliação da divergência genética

As técnicas de análise multivariada confirmaram a variabilidade genética no germoplasma avaliado. A análise multivariada permite verificar a variabilidade existente no germoplasma e identificar os caracteres que mais contribuem para a discriminação dos genótipos, e vem sendo utilizada com frequência em estudos de variabilidade genética em diversas culturas, como pessegueiro (SILVA et al., 2014), aveia (SCHEFFER-BASSO et al., 2012), mamoneira (RODRIGUES et al., 2010), trigo (BERTAN et al., 2006), pimenta e pimentão (SUDRÉ et al., 2005), entre outros.

Os valores da distância euclidiana média (D) (Tabela 5) revelaram os genótipos G28 e G30 como mais divergentes (0,62), e os genótipos G15 e G27 mostraram-se os mais similares (0,06).

Variabilidade genética também foi observada por Hettwer (2013) em 14 genótipos erva-mate *Cambona 4*, considerada a primeira progênie bi-parental do Brasil, restringindo o cruzamento entre uma planta feminina e outra masculina. Em germoplasma de erva-mate proveniente de diferentes regiões do Uruguai, Paraguai, Argentina e Brasil foi observada variabilidade genética e correlação positiva entre genética e distância geográfica (CASCALES et al., 2014).

Tabela 5 - Distância euclidiana média padronizada entre pares de trinta genótipos de erva-mate com base em onze caracteres fenotípicos. Mato Castelhano, RS, 2015

Gen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30			
1	1	0,48	0,42	0,49	0,51	0,44	0,54	0,57	0,46	0,50	0,49	0,46	0,14	0,46	0,41	0,54	0,50	0,45	0,48	0,52	0,44	0,52	0,48	0,49	0,11	0,41	0,41	0,55	0,46	0,49			
2		1	0,41	0,50	0,49	0,44	0,58	0,59	0,55	0,55	0,49	0,53	0,53	0,09	0,36	0,56	0,52	0,49	0,52	0,52	0,50	0,46	0,57	0,50	0,12	0,35	0,58	0,52	0,52				
3			1	0,44	0,52	0,48	0,46	0,52	0,45	0,46	0,48	0,45	0,49	0,43	0,06	0,49	0,52	0,54	0,47	0,46	0,39	0,46	0,50	0,49	0,45	0,38	0,08	0,49	0,50	0,60			
4				1	0,45	0,42	0,47	0,44	0,50	0,50	0,48	0,42	0,53	0,51	0,43	0,09	0,46	0,48	0,47	0,43	0,47	0,46	0,50	0,48	0,46	0,48	0,43	0,15	0,41	0,54			
5					1	0,42	0,49	0,47	0,49	0,53	0,52	0,55	0,48	0,48	0,50	0,50	0,12	0,46	0,49	0,46	0,46	0,47	0,52	0,58	0,48	0,41	0,50	0,53	0,16	0,48			
6						1	0,41	0,46	0,44	0,40	0,49	0,41	0,47	0,39	0,46	0,48	0,44	0,10	0,41	0,43	0,40	0,40	0,50	0,47	0,39	0,37	0,43	0,51	0,42	0,20			
7							1	0,42	0,48	0,46	0,51	0,51	0,52	0,55	0,47	0,49	0,51	0,45	0,16	0,41	0,45	0,49	0,53	0,56	0,48	0,51	0,44	0,50	0,48	0,50			
8								1	0,49	0,53	0,47	0,47	0,54	0,55	0,52	0,46	0,47	0,49	0,46	0,10	0,45	0,54	0,50	0,52	0,54	0,51	0,50	0,47	0,40	0,51			
9									1	0,44	0,47	0,51	0,50	0,52	0,45	0,52	0,44	0,46	0,53	0,46	0,47	0,50	0,41	0,54	0,47	0,50	0,41	0,52	0,41	0,47			
10										1	0,42	0,50	0,55	0,53	0,47	0,52	0,52	0,41	0,49	0,50	0,42	0,13	0,43	0,55	0,48	0,50	0,44	0,51	0,50	0,45			
11											1	0,43	0,53	0,48	0,49	0,50	0,47	0,53	0,46	0,40	0,43	0,44	0,07	0,47	0,48	0,44	0,47	0,50	0,43	0,58			
12												1	0,50	0,52	0,43	0,47	0,51	0,42	0,47	0,44	0,45	0,53	0,44	0,08	0,42	0,48	0,44	0,50	0,48	0,47			
13													1	0,50	0,48	0,57	0,49	0,46	0,47	0,49	0,48	0,56	0,52	0,53	0,13	0,44	0,48	0,58	0,43	0,48			
14														1	0,38	0,57	0,51	0,43	0,50	0,48	0,49	0,45	0,56	0,47	0,10	0,36	0,59	0,50	0,46				
15															1	0,48	0,51	0,52	0,48	0,45	0,39	0,46	0,49	0,47	0,45	0,34	0,06	0,49	0,49	0,58			
16																1	0,51	0,53	0,49	0,46	0,50	0,48	0,53	0,54	0,51	0,54	0,48	0,06	0,45	0,59			
17																	1	0,47	0,52	0,45	0,41	0,48	0,47	0,53	0,48	0,44	0,51	0,53	0,10	0,49			
18																		1	0,45	0,47	0,43	0,42	0,53	0,47	0,39	0,42	0,49	0,57	0,45	0,11			
19																			1	0,44	0,50	0,52	0,46	0,52	0,42	0,45	0,51	0,48	0,50				
20																				1	0,41	0,51	0,43	0,50	0,49	0,43	0,43	0,50	0,39	0,50			
21																					1	0,45	0,47	0,48	0,45	0,47	0,35	0,50	0,38	0,45			
22																						1	0,44	0,58	0,50	0,46	0,44	0,47	0,47	0,46			
23																							1	0,48	0,47	0,41	0,47	0,53	0,44	0,58			
24																								1	0,45	0,53	0,48	0,56	0,51	0,51			
25																									1	0,42	0,44	0,52	0,43	0,43			
26																										1	0,33	0,56	0,44	0,46			
27																											1	0,48	0,49	0,55			
28																												1	0,47	0,62			
29																													1	0,47			
30																														1	0,47		

Em populações naturais de erva-mate foi observada maior variabilidade genética dentro de cada população do que entre as populações (GAUER & CAVALLI-MOLLINA, 2000; CANSIAN, 2003). Diaz et al. (2013), por sua vez, também em populações naturais de erva-mate, verificaram baixa diversidade genética nas duas populações estudadas, com divergência maior entre do que dentro de populações. Vidor et al. (2002) constataram alta similaridade entre duas procedências, não sendo possível diferenciar geneticamente as procedências entre si. Baixas distâncias genéticas também foram observadas por Wendt et al. (2007) entre procedências e progênies, com maiores diferenças genéticas entre progênies do que entre procedências.

Entre os métodos hierárquicos de agrupamento testados, o método de Ligação média entre grupos (UPGMA) foi considerado o mais adequado para a representação da divergência genética, por apresentar o maior valor de correlação cofenética (CCC), de 0,91 (Tabela 6). A partir desse foi gerado o dendrograma (Figura 12). O CCC é um coeficiente utilizado para avaliar a consistência do padrão de agrupamento de métodos hierárquicos, sendo que valores próximos à unidade indicam melhor representação (CRUZ & CARNEIRO, 2003).

Conforme Cargnelutti Filho et al. (2010), esse coeficiente representa a correlação linear de Pearson entre os elementos da matriz de dissimilaridade (matriz de distâncias entre as cultivares, obtida a partir dos dados originais) e os elementos da matriz cofenética (matriz de distâncias entre os genótipos, obtida a partir do dendrograma).

Tabela 6 – Correlações cofenéticas conforme o método de agrupamento utilizado

<b>Método de agrupamento</b>	<b>Valor</b>
Ligação simples	0,90
Ligação completa	0,86
Ward	0,65
Ligação média entre grupos - UPGMA	0,91

Considerando-se ponte de corte de 40% da distância total, houve a formação de 12 grupos, seguindo-se o critério de Cruz & Carneiro (2003) de que pontos de alta mudança de nível no dendrograma delimita o número de genótipos para determinado grupo.

A realização do agrupamento pelo método de Tocher promoveu a formação dos mesmos 12 grupos formados pelo método UPGMA, com a mesma distribuição dos genótipos formando cada grupo (Tabela 7), o que demonstra a adequação do método UPGMA para a elaboração do dendrograma. A total concordância entre os dois métodos de agrupamento permite que se façam referências mais seguras sobre a divergência genética entre os genótipos.

O método de otimização de Tocher permite que se tenha mais homogeneidade entre acessos do mesmo grupo do que entre acessos de grupos diferentes (MONTEIRO et al., 2010), pois esse método possui a particularidade de apresentar a distância média dentro dos grupos sempre menor que a distância média entre os grupos (VASCONCELOS et al., 2007).

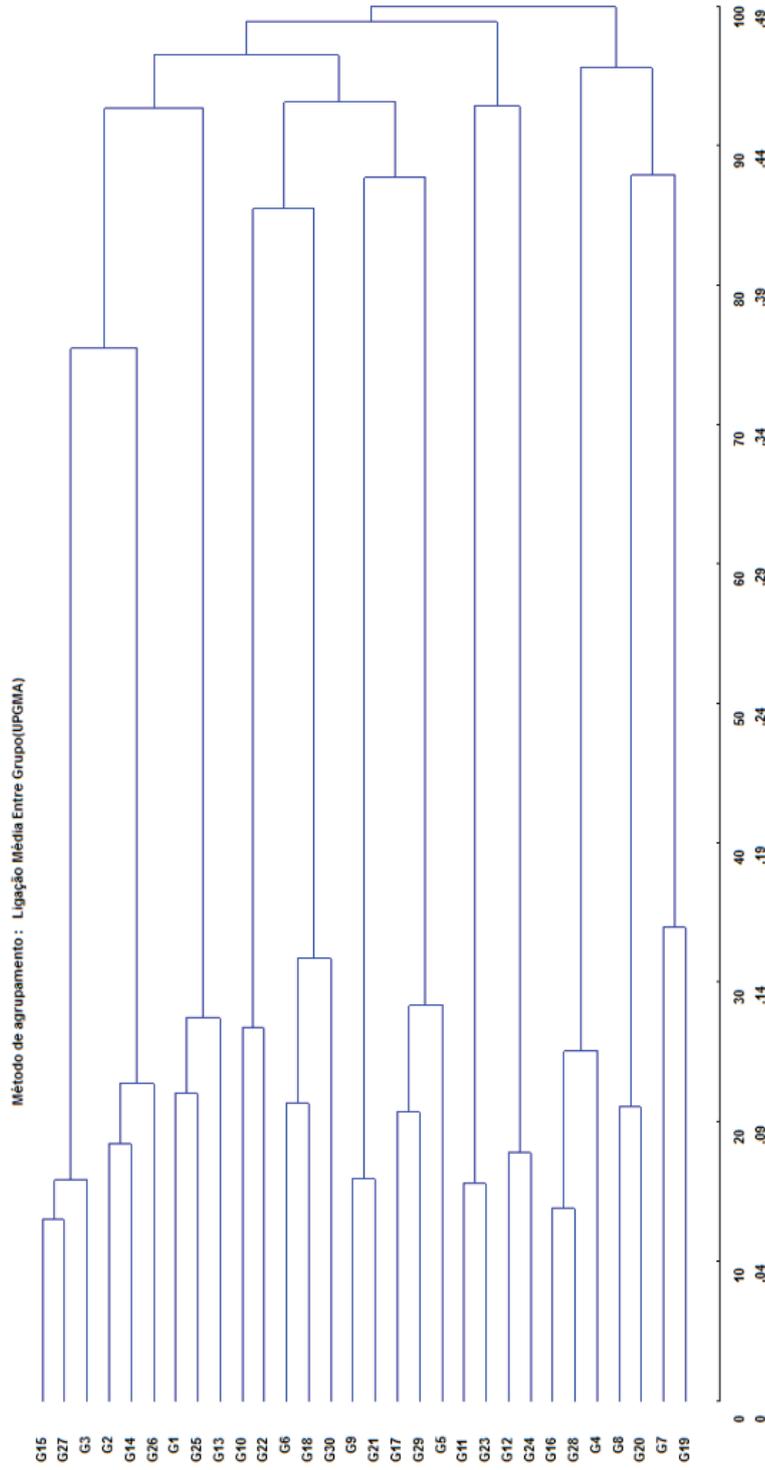


Figura 12 - Dendrograma obtido pelo método de agrupamento ligação média entre grupos (UPGMA), com base na matriz de Distância Euclidiana Média para trinta genótipos de erva-mate, considerando-se caracteres fenotípicos e ponto de corte a 40% da distância total. Mato Castelhana, RS, 2015.

Tabela 7 - Grupos estabelecidos pelo método de Tocher, com base na Distância Euclidiana Média, obtida com onze caracteres em trinta genótipos de erva-mate

<b>Grupo</b>	<b>Genótipos</b>
1	15, 27, 3
2	16, 28, 4
3	11, 23
4	9, 21
5	12, 24
6	2, 14, 26
7	17, 29, 5
8	8, 20
9	6, 18, 30
10	1, 25, 13
11	10, 22
12	7, 19

A contribuição dos caracteres para a divergência foi bem distribuída, variando de 11,52% a 7,08% (Tabela 8). No entanto, três caracteres contribuíram com mais de 10% cada para a divergência dos genótipos, que foram massa fresca de folha (11,52%), número de folhas por metro de ramo (10,36%) e comprimento da folha (10,32%). O número de folhas por metro de ramo também esteve entre os caracteres de maior contribuição para a divergência (47,53%) no estudo de Hettwer (2013), juntamente com a área foliar (34,46%).

Tabela 8 - Contribuição relativa dos caracteres para a divergência genética (C.R.D.G) de trinta genótipos de erva-mate pelo método de Singh (1981)

<b>Caractere</b>	<b>C.R.D.G. (%)</b>
Massa fresca da folha (g/folha)	11,52
Número de folhas por metro de ramo (n°/m)	10,36
Comprimento da folha (cm)	10,32
Distância entre folhas (cm)	9,85
Massa seca da folha (g/folha)	9,36
Índice Falker Clorofila a	9,28
Área foliar (cm <sup>2</sup> /folha)	8,99
Índice Falker Clorofila total	8,15
Índice Falker Clorofila b	7,73
Largura da folha (cm)	7,36
Área foliar específica (cm <sup>2</sup> /g)	7,08

As correlações observadas na análise dos componentes principais (Tabela 9) revelaram a existência de correlação significativa entre a largura da folha (LARG), o número de folhas por metro de ramo (NFMR) e a distância entre folhas (DF), ou seja, o aumento da LARG aumenta a DF e diminui o NFMR. Também houve correlação positiva entre comprimento da folha (COMP) e largura da folha, sendo que o incremento destes aumentam a área foliar (AF), incrementando a massa fresca (MF) e seca (MS) da folha. Folhas de menor comprimento apresentam maior área foliar específica (AFE), que por sua vez diminui a MF e MS. Folhas com maior Índice Falker de Clorofila a (CLa) apresentam, também, de Clorofila b (CLb) e, por conseguinte, de Clorofila Total (CLT). Em erva-mate *Cambona 4* foram verificados

resultados muito semelhantes de correlação entre as mesmas variáveis fenotípicas estudadas, exceto AFE, que não foi determinada (HETTWER, 2013).

Os dois primeiros componentes principais explicaram 72,98% da variância total (Tabela 10). Considerando-se também o terceiro componente tem-se 86,78% da variação total explicada, o que viabiliza a análise dos grupos de genótipos através de gráficos de dispersão (Figura 13). Segundo Cruz & Regazzi (2001), com 80% da variação total explicada nos dois ou três primeiros componentes principais é possível a aplicação da análise de dispersão.

As variáveis de maior peso no primeiro componente principal (Tabela 11), que explica 46,77% da variação total, em ordem decrescente, foram MS, MF, AF, LARG e COMP. No segundo componente principal, que explica 26,21% da variação total, as variáveis que apresentaram maior peso foram CLB, CLA, CLT, DF e NFMR.

Rosse & Fernandes (2002) utilizaram a análise dos componentes principais a fim de selecionar caracteres para o melhoramento genético de erva-mate. Os caracteres altura da planta e diâmetro da copa podem representar de maneira satisfatória a variação ocorrida, e a altura do fuste foi o caractere que menos contribuiu para a variação dos dados, podendo ser descartado.

Tabela 9 – Coeficientes de correlação de Pearson entre onze caracteres de erva-mate. Mato Castellhano, RS, 2015

VAR	NFMR	DF	COMP	LARG	AF	AFLE	CLA	CLB	CLT	MF	MS
NFMR	1	-0,96**	-0,24	-0,37*	-0,35	-0,02	0,02	0,21	0,17	-0,21	-0,26
DF		1	0,32	0,42*	0,44*	0,10	-0,03	-0,20	-0,16	0,26	0,29
COMP			1	0,57**	0,87**	-0,36*	0,17	0,12	0,14	0,85**	0,82**
LARG				1	0,88**	-0,11	0,26	0,26	0,27	0,77**	0,79**
AF					1	-0,20	0,23	0,20	0,22	0,90**	0,89**
AFLE						1	-0,12	-0,26	-0,24	-0,50**	-0,60**
CLA							1	0,84**	0,90**	0,25	0,25
CLB								1	0,99**	0,29	0,30
CLT									1	0,29	0,30
MF										1	0,96**
MS											1

\*\* \*: Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t.

#NFMR=Número de folhas por metro de ramo (n°/m); DF=Distância entre folhas (cm); COMP=Comprimento da folha (cm); LARG=Largura da folha (cm); AF= Área foliar (cm²); AFE=Área foliar específica (cm²/g); CLA=Índice Falker Clorofila a (ICF); CLB= Índice Falker Clorofila b (ICF); CLT=índice Falker Clorofila Total (ICF); MFF=Massa fresca de folha (g/folha); MS= Massa seca de folha (g).

Tabela 10 – Variância do autovalor, porcentagens da variância e variância acumulada dos componentes principais de oito caracteres de erva-mate. Mato Castelhana, RS, 2015

Componente	Autovalor	Variância (%)	Variância acumulada (%)
1	5,14494	46,77226	46,77226
2	2,88355	26,21411	72,98638
3	1,51796	13,79963	86,78602
4	0,83837	7,62155	94,40758
5	0,38270	3,47910	97,88668
6	0,13374	1,21589	99,10258
7	0,05617	0,51066	99,61324
8	0,02123	0,19304	99,80629
9	0,01406	0,12785	99,93414
10	0,00723	0,06572	99,99987
11	0,00001	0,00012	100,0

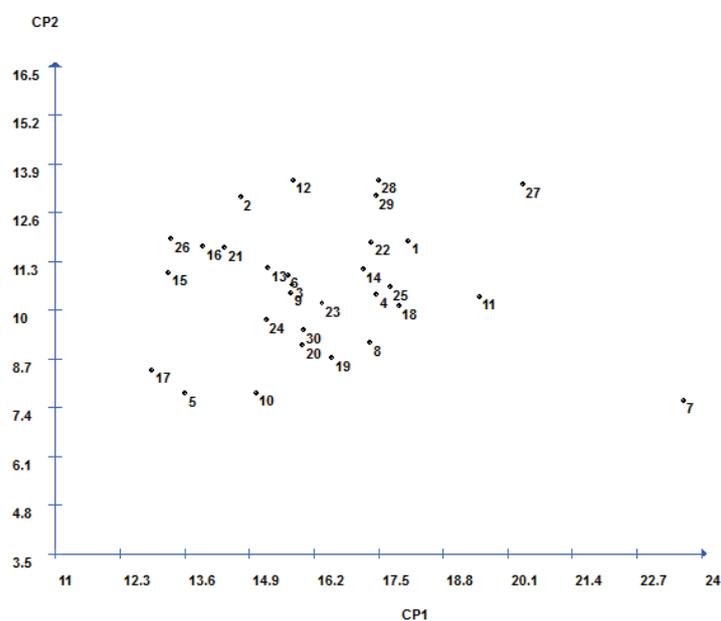


Figura 13 – Distribuição dos pontos referentes aos genótipos de erva-mate nos dois eixos correspondentes ao primeiro e segundo componente principal. Mato Castelhana, RS, 2015.

Tabela 11 – Estimativas dos autovetores e os pesos de cada variável para sua constituição. Mato Castelhana, RS, 2015

CP	NFMR	DF	COMP	LARG	AF	AFLE	CLA	CLB	CLT	MF	MS
<b>CP1</b>	-0,1575	0,1772	0,3654	0,3685	0,4082	-0,1981	0,2003	0,1988	0,2055	0,4134	0,4193
<b>CP2</b>	0,3745	-0,3864	-0,1210	-0,0985	-0,1347	-0,1104	0,4176	0,4899	0,4866	-0,0465	-0,0496
<b>CP3</b>	0,4743	-0,4750	0,2078	-0,0954	0,0417	-0,4195	-0,3573	-0,2005	-0,2426	0,2179	0,2127
<b>CP4</b>	0,3728	-0,2352	0,0983	0,3424	0,3037	0,7558	-0,0270	-0,0538	-0,0497	0,0563	-0,0784
<b>CP5</b>	-0,0212	-0,0839	-0,6968	0,6238	-0,0519	-0,1769	-0,2466	0,0739	-0,0006	0,0041	0,1323
<b>CP6</b>	-0,0469	-0,2149	-0,1017	0,1609	-0,0645	-0,0962	0,7367	-0,5379	-0,2510	-0,0173	0,0809
<b>CP7</b>	-0,0501	-0,1240	0,3667	0,3212	0,1370	-0,1967	-0,0577	0,0391	0,0227	-0,8255	0,0172
<b>CP8</b>	-0,6505	-0,6464	0,1450	0,0110	-0,2279	0,1886	-0,1289	0,0939	0,0411	0,1385	0,0641
<b>CP9</b>	-0,1167	-0,1362	-0,3700	-0,4576	0,5499	0,1193	0,0063	0,0039	-0,0056	-0,2421	0,4961
<b>CP10</b>	-0,1705	-0,1828	-0,1032	-0,0185	0,5842	-0,2690	0,0143	-0,0073	-0,0070	0,1296	-0,7041
<b>CP11</b>	-0,0026	-0,0025	-0,0051	-0,0047	0,0052	0,0019	-0,1827	-0,6100	0,7710	0,0020	0,0012

#CP=Componente principal; NFMR=Número de folhas por metro de ramo (n°/m); DF=Distância entre folhas (cm); COMP=Comprimento da folha (cm); LARG=Largura da folha (cm); AF= Área foliar (cm²); AFE=Área foliar específica (cm²/g); CLA=Índice Falker Cloro fila a (ICF); CLB= Índice Falker Clorofila b (ICF); CLT=índice Falker Clorofila Total (ICF); MFF=Massa fresca de folha (g/folha); MS= Massa seca de folha (g).

Lobão et al. (2011) aplicaram a estatística multivariada para agrupar e identificar o potencial de uso de 12 espécies florestais, nativas e exóticas, a partir das propriedades anatômicas, físicas e químicas da madeira. Os autores observaram que os dois primeiros componentes principais explicaram 58% da variabilidade, e que análise de componentes principais foi mais eficiente do que o teste de Scott-Knott (estatística univariada), no agrupamento das espécies e na preconização do uso da madeira das doze espécies.

Mesmo sendo duas técnicas de análise multivariadas diferentes utilizadas nesse estudo, observou-se concordância das técnicas com relação à importância dos caracteres para a divergência, pois na avaliação da contribuição relativa dos caracteres a contribuição de cada caractere foi bem distribuída (11,52% a 7,08%). De maneira similar, isto foi observado também na análise de componentes principais, pois dez dos onze caracteres avaliados, estiveram relacionados com os dois primeiros componentes principais. Além disso, nas duas técnicas, a área foliar específica foi o caractere que menos contribuiu para a discriminação dos genótipos, pois na análise da contribuição relativa dos caracteres teve a menor contribuição (7,08%) entre as variáveis e na análise de componentes principais foi a única variável que não esteve relacionada com o primeiro e segundo componente principal.

Devido à total concordância dos métodos UPGMA e de Tocher na formação dos grupos entre os trinta genótipos, foi feita a caracterização dos grupos (Tabela 12) com base nos três caracteres de maior contribuição para a divergência observados no método de Singh (1981), destacando-se os grupos que apresentaram as maiores médias.

Tabela 12 – Caracterização dos grupos estabelecidos pelos métodos UPGMA e de Tocher, com base nos três caracteres de maior relevância

Grupos	Genótipos	Média dos caracteres		
		Massa fresca de folha (g/folha)	Nº folhas/m ramo	Comprimento da folha (cm)
1	15, 27, 3	1,0	53	8,3
2	16, 28, 4	1,1	58	9,0
3	11, 23	1,3	53	10,2
4	9, 21	0,9	65	8,9
5	12, 24	1,0	61	8,7
6	2, 14, 26	0,7	55	8,1
7	17, 29, 5	0,9	54	8,8
8	8, 20	1,1	45	10,1
9	6, 18, 30	1,1	50	9,2
10	1, 25, 13	1,1	53	9,4
11	10, 22	1,0	50	9,0
12	7, 19	1,5	37	10,4

O grupo 12 (Tabela 12), formado pelos genótipos G7 e G19, apresentou as maiores médias para MF (1,5 g) e COMP (10,4 cm), e menor para NFMR (37 folhas). O genótipo G7 foi o mais determinante para o aumento das médias de MF e COMP do grupo, apresentando os maiores valores entre todos os genótipos (Tabelas 2 e 3), de 1,9 g e 12,1 cm para os dois caracteres, respectivamente. No grupo 3, representado pelos genótipos G11 e G23, foram determinadas as segundas maiores médias para os caracteres MF (1,3 g) e COMP (10,2 cm), e valor intermediário de NFMR. O G11 foi determinante, com a segunda maior

média entre os genótipos para MF e COMP (1,55 g e 11 cm) (Tabelas 2 e 3).

Os grupos 4 e 5 apresentaram as maiores médias para NFMR (65 e 61 folhas, respectivamente), com predominância nesse caractere do G21, no grupo 4, e do G12, no grupo 5.

#### **4.2 Estudo 2 – Propagação por estaquia de genótipos de erva-mate**

Os genótipos variaram significativamente quanto à retenção foliar durante o período de estaquia, e ao final. Queda significativa de folhas foi registrada somente a partir da segunda semana após a estaquia, até a sexta semana (42 dias) (Tabela 13). Aos 14 dias, doze genótipos mantiveram-se sem queda significativa, sendo que três desses genótipos (G7, G13 e G26) estatisticamente retiveram as folhas até os 120 dias. Outros cinco genótipos (G8, G9, G19, G21 e G24), que apresentaram queda de folhas, não sofreram mais alterações significativas. O genótipo com menor retenção foliar foi o G12 (38,5%), seguido do G2 (59,4%), G27 (63,5%) e G29 (65,6%). Os demais apresentaram 73,9% a 97,9% das folhas.

Dos 14 aos 28 dias foi verificada a maior frequência de genótipos com queda significativa de folhas (19 genótipos), porém 15 desses genótipos mantiveram-se estáveis a partir dessa avaliação. Aos 42 dias outros 7 genótipos reduziram a retenção foliar, mantendo-se sem queda até o final do trabalho. Nesse momento da estaquia, a menor retenção foliar foi apresentada pelo G12 (16,7%), seguido de G2 (37,5%) e G27 (35,4%), e G10 e G29, com 45,8%. Os demais genótipos apresentavam de 56,2% a 90,6% de manutenção das folhas.

Tabela 13 – Retenção foliar em estacas de trinta genótipos de erva-mate tratadas com 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Passo Fundo, RS, 2015

Gen	Dias após a estaquia										
	7	14	28	42	56	70	84	98	112	120	
1	A 100 a	A 90,6 a	B 78,1 b	C 67,7 b	C 66,7 b	C 65,6 b	C 63,5 b	C 63,5 b	C 60,4 b	C 59,4 c	
2	A 100 a	B 59,4 d	C 41,7 d	C 37,5 e	C 37,5 e	C 37,5 d	C 37,5 d	C 37,5 d	C 37,5 d	C 37,5 e	
3	A 100 a	B 84,4 b	C 72,9 b	C 70,8 b							
4	A 100 a	A 96,9 a	B 86,4 a	B 81,2 a	B 80,2 a	B 80,2 a	B 79,2 a	B 79,2 a	B 79,2 a	B 79,2 a	
5	A 100 a	B 83,3 b	C 76,0 b	C 70,8 b	C 69,8 b	C 69,8 b	C 67,7 b	C 67,7 b	C 67,7 b	C 66,7 b	
6	A 100 a	A 93,8 a	A 89,6 a	B 76,0 b	B 75,0 b	B 71,9 b	B 69,8 b	B 66,7 b	B 64,6 b	B 62,5 c	
7	A 100 a	A 94,8 a	A 91,7 a	A 91,7 a	A 91,7 a	A 90,6 a	A 88,5 a	A 88,5 a	A 87,5 a	A 87,5 a	
8	A 100 a	B 92,7 a	B 86,4 a	B 79,2 a	B 78,1 a	B 78,1 a					
9	A 100 a	B 92,7 a	B 86,4 a	B 85,4 a	B 85,4 a	B 85,4 a	B 84,4 a	B 84,4 a	B 84,4 a	B 84,4 a	
10	A 100 a	B 85,4 b	C 56,2 c	C 45,8 d	C 44,8 d	C 44,8 c	C 44,8 c	C 43,8 c	C 43,8 d	C 43,8 e	
11	A 100 a	B 86,4 b	B 80,2 b	C 63,5 b	C 59,4 c	C 58,3 c	C 58,3 c	C 57,3 c	C 57,3 b	C 57,3 c	
12	A 100 a	B 38,5 e	C 18,8 e	C 16,7 f	C 15,6 f	C 15,6 e	C 15,6 e	C 15,6 e	C 15,6 e	C 15,6 f	
13	A 100 a	A 92,7 a	A 91,7 a	A 89,6 a	A 88,5 a	A 88,5 a					
14	A 100 a	A 92,7 a	B 83,3 a	B 83,3 a	B 81,2 a	B 79,2 a	A 78,1 a	B 77,1 a	B 77,1 a	B 77,1 a	
15	A 100 a	B 86,4 b	C 59,4 c	C 56,2 c	C 52,1 d						
16	A 100 a	A 97,9 a	B 85,4 a	B 81,2 a	B 78,1 a	B 78,1 a	B 77,1 a	B 77,1 a	B 77,1 a	B 76,0 a	
17	A 100 a	B 86,4 b	B 77,1 b	C 63,5 b	C 58,3 c	C 58,3 c	C 58,3 c	C 58,3 c	C 58,3 b	C 58,3 c	
18	A 100 a	B 84,4 b	C 68,8 b	C 67,7 b	C 66,7 b	C 66,7 b	C 65,6 b	C 65,6 b	C 65,6 b	B 65,6 b	
19	A 100 a	B 79,2 b	B 71,9 b	B 68,8 b	B 68,8 b	B 68,8 c	B 67,7 b	B 66,7 b	B 66,7 b	B 66,7 b	

Tabela 13 – Continuação...

Gen	Dias após a estaquia									
	7	14	28	42	56	70	84	98	112	120
20	A 100 a	B 88,5 b	C 72,9 b	D 57,3 c						
21	A 100 a	B 73,9 c	B 66,7 b	B 63,5 b	B 63,5 b	B 63,5 b	B 62,5 b	B 62,5 b	B 62,5 b	B 62,5 c
22	A 100 a	A 93,8 a	B 76,0 b	B 65,6 b	B 62,5 b	B 61,4 c				
23	A 100 a	A 94,8 a	B 85,4 a	B 83,3 a	B 83,3 a	B 83,3 a	B 82,3 a	B 82,3 a	B 81,2 a	B 81,2 a
24	A 100 a	B 76,0 c	B 72,9 b	B 70,8 b	B 70,8 b	B 70,8 b	B 69,8 b	B 69,8 b	B 69,8 b	B 69,8 b
25	A 100 a	A 93,8 a	B 90,6 a	B 88,5 a	B 85,4 a	B 85,4 a	B 84,4 a	B 84,4 a	B 84,4 a	B 84,4 a
26	A 100 a	A 96,9 a	A 93,8 a	A 90,6 a	A 89,6 a	A 89,6 a	A 89,6 a	A 88,5 a	A 88,5 a	A 88,5 a
27	A 100 a	B 63,5 d	C 48,9 d	D 35,4 e	D 32,3 e	D 30,2 d	D 28,1 d	D 28,1 d	D 26,0 e	D 25,0 f
28	A 100 a	A 92,7 a	B 87,5 a	B 84,4 a	B 84,4 a	B 84,4 a	B 84,4 a	B 83,3 a	B 82,3 a	B 82,3 a
29	A 100 a	B 65,6 d	C 52,1 d	D 45,8 d	D 42,7 d	D 39,6 d	D 39,6 d	D 39,6 d	D 38,5 d	D 38,5 e
30	A 100 a	B 76,0 c	C 61,4 c	C 59,4 c	C 56,2 c	C 55,2 c	C 55,2 c	C 55,2 c	C 55,2 b	C 55,2 c

CV Genótipos (PP) (%): 75,99

CV tempo (SP) (%): 10,93

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

Ao final dos 120 dias de estaquia, onze genótipos se destacaram pela maior manutenção das folhas (G4, G7, G8, G9, G13, G14, G16, G23, G25, G26 e G28), entre 76,0% e 88,5%, que pode ser considerado para erva-mate satisfatório. Os genótipos G12 e G27, seguidos de G2, G10 e G29, apresentaram a menor retenção de folhas, entre 15,6% e 43,8%.

A sobrevivência no decorrer do período de estaquia, para a maioria dos genótipos, foi satisfatória, mantendo-se alta durante o primeiro mês (Tabela 14), quando apenas o genótipo G12 apresentou mortalidade, diferentemente do observado por Santos (2011), que considerou as primeiras três semanas o período mais crítico. A satisfatória permanência das folhas durante as primeiras semanas possibilitou que as estacas se mantivessem vivas nesse período.

Aos 42 dias, redução na sobrevivência foi registrada nos genótipos G10, G11, G12, G20 e G27, com destaque para G12 e G27, que ao final da estaquia revelaram menor sobrevivência, de 25,0% e 45,8%, respectivamente. Outros genótipos, a partir desta avaliação, tiveram redução na sobrevivência, mas 12 genótipos se destacaram por apresentar a maior sobrevivência (G4, G7, G8, G9, G13, G14, G16, G22, G23, G25, G26 e G28), sem apresentar reduções significativas no decorrer do período de estaquia, o que pode ser considerado difícil de ocorrer com a erva-mate. A sobrevivência se manteve para esses genótipos entre 89,6% e 97,9%, mas em 22 genótipos a sobrevivência foi superior a 72,9%.

Tabela 14 – Sobrevivência das estacas de trinta genótipos de erva-mate tratadas com 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Passo Fundo, RS, 2015

Gen	Dias após a estaquia										
	7	14	28	42	56	70	84	98	112	120	
1	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 93,8 a	A 91,6 a	B 89,6 b	B 85,4 b	B 85,4 b	B 81,3 b	B 79,2 b	
2	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 95,8 a	A 91,7 a	A 87,5 b	B 72,9 c	B 72,9 b	
3	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	B 91,6 a	B 89,6 b	B 85,4 b	B 85,4 b	B 83,3 b	B 83,3 b	
4	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 95,8 a	A 95,8 a	A 95,8 a	
5	A 100 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 93,8 a	B 87,5 b	B 87,5 b	B 85,4 b	B 83,3 b	B 83,3 b	
6	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 95,8 a	B 87,5 a	B 85,4 b	B 81,2 b	B 81,2 b	B 81,2 b	B 81,2 b	
7	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 97,9 a	
8	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 95,8 a	A 93,8 a	A 93,8 a	A 91,6 a	A 89,6 a	A 89,6 a	
9	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 95,8 a	A 91,6 a	A 89,6 a	A 89,6 a	A 89,6 a	
10	A 100 a	A 97,9 a	A 91,7 a	A 89,6 b	B 81,2 b	B 79,2 b	C 72,9 c	C 68,8 c	C 66,7 c	C 64,6 c	
11	A 100 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 91,7 b	B 81,2 b	B 77,1 b	B 75,0 b	B 72,9 c	B 70,8 c	B 70,8 c	
12	A 100 a	A 100 a	B 89,6 a	B 83,3 b	C 60,4 c	D 43,8 d	D 39,6 e	E 31,2 e	E 25,0 e	E 25,0 e	
13	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 95,8 a	A 95,8 a	A 95,8 a	A 95,8 a	
14	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 95,8 a	A 93,8 a	A 91,7 a	A 91,7 a	A 91,7 a	
15	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 95,8 a	A 95,8 a	B 83,3 b	B 81,2 b	C 72,9 c	C 68,8 c	C 68,8 c	
16	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 93,8 a	A 91,7 a	A 89,6 a	A 89,6 a	A 89,6 a	
17	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 95,8 a	A 93,8 a	A 89,6 b	B 81,2 b	B 81,2 b	B 79,2 b	B 79,2 b	
18	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 95,8 a	B 87,5 b	B 83,3 b	B 79,2 b	B 77,1 b	
19	A 100 a	A 97,9 a	A 95,8 a	B 85,4 b	B 85,4 a	B 81,3 b	B 79,2 b	B 77,1 b	B 75,0 b	B 75,0 b	

Tabela 14 – Continuação...

Gen	Dias após a estaquia									
	7	14	28	42	56	70	84	98	112	120
20	A 100 a	A 100 a	A 100 a	B 85,4 b	C 75,0 b	C 64,6 c				
21	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 93,8 a	A 89,6 a	B 85,4 b	B 81,2 b	B 79,2 b	B 79,2 b	B 79,2 b
22	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 95,8 a	A 93,8 a	A 93,8 a
23	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 93,8 a	A 89,6 b	A 89,6 a	A 89,6 a	A 89,6 a	A 89,6 a
24	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	B 89,6 a	B 87,5 b	B 81,2 b	B 79,2 b	B 79,2 b	B 79,2 b
25	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 97,9 a	A 95,8 a	A 95,8 a	A 95,8 a
26	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 95,8 a	A 93,8 a	A 93,8 a	A 93,8 a	A 93,8 a
27	A 100 a	A 100 a	A 95,8 a	B 87,5 b	C 75,0 b	D 58,3 c	D 54,2 d	D 50,0 d	D 45,8 d	D 45,8 d
28	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 95,8 a	A 93,8 a	A 93,8 a	A 89,6 a
29	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 97,9 a	A 89,6 a	B 75,0 b	C 64,6 c	C 62,5 c	C 56,2 c	C 56,2 c
30	A 100 a	A 100 a	A 100 a	A 95,8 a	A 91,7 a	B 83,3 b	B 77,1 b	B 72,9 c	B 68,8 c	B 68,8 c

CV (%) PP = 35,97

CV (%) SP = 9,42

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

Importante destacar que, dos 12 genótipos que apresentaram maior sobrevivência, apenas o G22 não constou da relação dos genótipos com maior retenção foliar. Portanto, verificou-se que a permanência das folhas foi fundamental para a sobrevivência das estacas, confirmada pela elevada correlação (Pearson  $r = 0,93$ ) obtida entre essas variáveis (Tabela 15). As folhas mantidas por ocasião do preparo das estacas têm por objetivo dar continuidade à produção de fotoassimilados, necessários por manter o metabolismo bem como o fornecimento de auxinas e cofatores, auxiliando o processo de enraizamento.

Tabela 15 – Coeficiente de correlação de Pearson ( $R^2$ ) entre porcentagem de sobrevivência, de retenção foliar e de enraizamento, e teor de açúcares totais (mg açúcares/g massa seca) em folhas de estacas de trinta genótipos de erva-mate tratadas com 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Passo Fundo, RS, 2015

Variáveis	Retenção foliar	Enraizamento	Teor de açúcares totais
Sobrevivência	0,93**	0,53 **	-0,12
Retenção foliar		0,48**	-0,06
Enraizamento			-0,22

\*\* Significativo pelo teste t ( $P \leq 0,01$ ).

Conforme Pimenta et al. (2005), a baixa sobrevivência de alguns genótipos está relacionada com a queda das folhas, pois estas funcionam como um laboratório de produção de hormônios e nutrientes. Em louro (*Laurus nobilis*), a presença das folhas permitiu uma alta sobrevivência das estacas, enquanto que todas as estacas que perderam as folhas morreram, devido ao esgotamento das reservas para

a brotação e as baixas temperaturas no período da estaquia (FOCHESATO et al., 2006).

Observou-se que 73,3% dos genótipos estudados apresentaram sobrevivência superior a 72,9%, e 53,3% retenção foliar acima de 65,6%, resultados considerados bastante satisfatórios. Porém, devido ao elevado número de genótipos avaliados, não tenha sido testado o tratamento sem AIB, genótipos com menor desempenho provavelmente são mais sensíveis ao AIB exógeno ou mais autossuficientes em produção de auxina endógena. Santos (2011) relatou que a dose de 6.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB não favoreceu a retenção de folhas de erva-mate, inclusive reduzindo significativamente em alguns genótipos, quando comparadas com estacas não tratadas com AIB. Também Hettwer (2013) constatou, para a maioria dos 14 genótipos de erva-mate *Cambona 4*, queda de folhas com a utilização de 6.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB.

Quanto ao enraizamento, houve variações significativas, de 2,1% a 85,4% (Tabela 16 e Figura 14A), com as maiores porcentagens obtidas em 15 genótipos, de 43,8% a 85,4%. Os mais baixos enraizamentos foram verificados em 7 genótipos, variando de 2,1% a 16,7%. Baixas taxas de retenção de folhas, de sobrevivência e de enraizamento em alguns genótipos evidenciam que a dose de 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB pode ter sido fitotóxica.

Tabela 16 – Enraizamento e estacas com calo de trinta genótipos de erva-mate após 120 dias, tratadas com 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, açúcares totais nas folhas (plantas do erval) e enraizamento sem AIB, após refeita a estaquia com as estacas vivas e enraizadas (raízes eliminadas). Passo Fundo, RS, 2015

Genótipos	Enraizamento (%)	Açúcares totais nas folhas (mg/g massa seca)	Estacas com calo (%)	Enraizamento na 2ª avaliação (%)
G1	25,0 b	94,9 a	47,9 b	43,8 b
G2	43,8 a	91,8 a	8,3 c	52,1 b
G3	60,4 a	88,3 a	18,8 c	77,1 a
G4	85,4 a	77,3 a	10,4 c	93,8 a
G5	37,5 b	94,9 a	41,7 b	47,9 b
G6	31,2 b	76,8 a	43,8 b	43,8 b
G7	12,5 c	90,6 a	85,4 a	41,6 b
G8	2,1 c	96,8 a	72,9 a	52,1 b
G9	62,5 a	86,3 a	20,8 c	85,4 a
G10	14,6 c	95,2 a	33,3 c	29,2 c
G11	52,1 a	90,6 a	16,7 c	64,6 a
G12	4,2 c	94,1 a	20,8 c	6,2 c
G13	29,2 b	97,9 a	64,6 a	49,9 b
G14	16,7 c	77,3 a	70,8 a	43,8 b
G15	12,5 c	88,7 a	47,9 b	29,2 c
G16	58,3 a	37,5 c	27,1 c	64,6 a
G17	64,6 a	106,8 a	4,2 c	68,8 a
G18	58,3 a	83,4 a	2,1 c	62,5 a
G19	33,3 b	89,1 a	41,7 b	68,8 a
G20	29,2 b	103,1 a	35,4 c	54,2 b
G21	58,3 a	35,9 c	20,8 c	77,1 a
G22	70,9 a	65,7 b	2,1 c	75,0 a
G23	68,7 a	96,9 a	20,8 c	77,1 a
G24	43,8 a	84,7 a	33,3 c	64,6 a
G25	77,1 a	112,8 a	16,6 c	89,6 a
G26	62,5 a	87,5 a	27,0 c	89,6 a
G27	16,7 c	94,1 a	22,9 c	29,1 c
G28	75,0 a	55,3 b	12,5 c	77,1 a
G29	12,5 c	63,5 b	27,1 c	22,9 c
G30	29,2 b	78,4 a	33,3 c	45,8 b
<b>CV (%)</b>	41,24	16,40	69,74	26,97

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



Figura 14 – Estaca de erva-mate enraizada (A) e com calo (B). Passo Fundo, RS, 2015.

Verificou-se que entre os 15 genótipos de melhor enraizamento sete revelaram elevada retenção foliar (G4, G9, G16, G23, G25, G26 e G28), acima de 76,0%, demonstrando que a presença de folhas é importante, mas nesse estudo a retenção foliar se mostrou mais correlacionada com a sobrevivência ( $R^2 = 0,93$ ) que com o enraizamento ( $R^2 = 0,48$ ) (Tabela 15), possivelmente pelo enraizamento envolver outros fatores, como a presença de cofatores e o balanço hormonal, por exemplo. A correlação entre a porcentagem de sobrevivência e de enraizamento também não foi elevada, de 0,53, sendo que os genótipos G4, G25 e G28 se destacaram por apresentar as taxas de sobrevivência e de enraizamento mais próximas (95,8% e 85,4%; 95,8% e 77,1%; e 89,6% e 75,0%, respectivamente).

Tarragó et al. (2005) afirmaram que a presença das folhas é essencial para o enraizamento de estacas de erva-mate, observando uma forte correlação entre enraizamento e retenção foliar ( $R^2 = 0,72$ ), superior ao observado no presente trabalho. Em açoita-cavalo (*Luehea divaricata*) não ocorreu enraizamento em estacas sem folhas (PACHECO & FRANCO, 2008). Conforme Lima et al. (2011), com a queda das folhas pode ocorrer um déficit de carboidratos, pois as reservas armazenadas não seriam suficientes, ou não foram transportadas em tempo hábil, para que ocorresse o enraizamento. A necessidade da presença de folhas nas estacas foi também constatada por Tavares et al. (1992), que obtiveram os melhores resultados com um par de folhas reduzidas, com taxa de 50%, sendo que, na ausência de folhas, o enraizamento foi nulo. O mesmo foi relatado por Quadros (2009), onde a não permanência de folhas afetou negativamente o enraizamento de estacas de erva-mate.

Elevada variação na capacidade de enraizamento da erva-mate tem sido relatada. Tavares et al. (1992) obtiveram diferenças de 0 a 100% entre procedências e progênies. Prat Krikun et al. (1983) observaram que o enraizamento médio variou de 0% a 88% entre clones selecionados. Sturion & Resende (1997), em estudo semelhante, selecionaram fenotipicamente trinta árvores, sendo que o percentual de enraizamento variou de 1,1% a 60,1%. Santos (2011) obteve enraizamentos entre 5,7% e 63,7%, variando entre genótipos, estações do ano e tratamento ou não com AIB. Da mesma forma, Hettwer (2013) observou variação entre genótipos e com uso ou não de AIB, com percentuais de 0% a 52,6%. Zerbielli et al. (2011), em estudo com quatro genótipos, obtiveram para um dos genótipos 77,8% de estacas

enraizadas com o uso de AIB, e sem o regulador 19,4%. Os demais genótipos apresentaram baixo ou nulo enraizamento, sem ou com AIB.

Os trabalhos realizados com erva-mate têm demonstrado que o uso do AIB pode melhorar o enraizamento, mas também têm sido constados possíveis prejuízos à retenção foliar e sobrevivência, variáveis que combinadas irão definir o potencial de propagação por estaquia de um genótipo. Graça et al. (1988) afirmam que o tratamento com AIB é necessário para o enraizamento. Observaram que concentrações de 5.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB possibilitaram enraizamento de até 62% e 47% em estacas de brotações do ano de árvores adultas e de mudas, respectivamente.

Horbach (2008) obteve melhores resultados com tratamento de 4.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB (37,5%). Quadros (2009), ao utilizar 1.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, obteve 78,6% de enraizamento de microestacas de erva-mate, enquanto sem tratamento não houve emissão de raízes. Bitencourt et al. (2009), por sua vez, em estudo com estacas provenientes de brotações do ano de árvores com 13 anos de idade, e estacas de rebrota provenientes de decepa, observaram que o AIB não influenciou na formação de raízes, obtendo 65,5% de enraizamento com as estacas de material rejuvenescido, da rebrota.

A época de coleta das estacas, no verão, pode ter favorecido a obtenção de boas taxas de enraizamento em alguns genótipos, pois nas estações mais quentes o metabolismo das plantas aumenta, proporcionando condições fisiológicas mais favoráveis ao crescimento e desenvolvimento (NERY et al., 2014). Além disso, a síntese de auxinas nas plantas ocorre em maior quantidade nos pontos de

crescimento da parte aérea, gemas e folhas jovens (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Iritani & Soares (1981) observaram que estacas de erva-mate enraizaram melhor, com taxas de 75%, quando coletadas no início do outono, comparadas às de inverno. Santos (2011) observou que a estaquia da erva-mate na primavera/verão possibilita melhores resultados que no outono/inverno.

No presente trabalho, outro fator que pode ter contribuído para bons resultados de enraizamento em alguns genótipos foi a lesão feita na base da estaca, que pode ter proporcionado melhor absorção de AIB e estimulado a divisão das células da região do câmbio, responsáveis pela indução radicial, medida que pode ser importante para espécies de difícil enraizamento. Além disso, pode ter favorecido um acúmulo de auxina e carboidratos na base da estaca, pois foi observado que as raízes foram formadas junto à base.

O conteúdo de carboidratos nos tecidos das plantas é variável com a estação do ano, e tem sido relacionado com a capacidade de enraizamento adventício. A seleção de matrizes que tenham grandes reservas de carboidratos pode favorecer o enraizamento de estacas (STENVALL et al, 2009). Por sua vez, Hartmann et al. (2002) afirmaram que a relação entre carboidratos e enraizamento permanece controversa, e que os carboidratos não têm um papel regulador no enraizamento de estacas. Uma correlação positiva entre o conteúdo de carboidratos e enraizamento poderia revelar que o suprimento de fotoassimilados é insuficiente para suportar o enraizamento ideal.

Diante dessa possibilidade de correlação, folhas dos diferentes genótipos foram coletadas nas plantas para análise dos teores

de açúcares totais (Tabela 16). Foi constatado que o teor variou de 35,9 mg a 112,8 mg de açúcares totais/g de massa seca e, em apenas cinco genótipos, os valores foram mais baixos, entre 35,9 e 37,5 mg, nos genótipos G21 e G16 e, entre 55,3 e 65,7 mg, nos genótipos G22, G28 e G29. Esses genótipos, com exceção do G29, destacaram-se com melhor enraizamento, e outros com maior teor de açúcares apresentaram variado enraizamento, demonstrando que os teores iniciais não possuem correlação com as porcentagens de enraizamento, confirmado pela análise de Pearson (Tabela 15). Denota-se, assim, para a erva-mate, que possivelmente mais importante que os teores iniciais de açúcares é a contínua produção ao longo do período de estaquia, mediante a manutenção das folhas, fornecendo quantidades suficientes para atender aos drenos.

Em erva-mate, Wendling et al. (2013) estudaram o efeito da aplicação de sacarose e AIB, sozinhos e combinados, na indução de brotações epicórmicas em ramos destacados da planta matriz, e no posterior enraizamento das brotações. Observaram que a aplicação de AIB e sacarose não influenciam na indução de brotações nem no seu enraizamento. Por sua vez, Ono et al. (1995) observaram, em estudo com kiwi (*Actinidia chinensis*), que pode existir uma relação entre a quantidade de açúcares redutores e totais nas estacas, e a porcentagem de enraizamento, pois as épocas que foi obtido maior enraizamento coincidiram com as épocas de maiores conteúdos de açúcares.

A porcentagem de estacas com calo (Tabela 16 e Figura 14B) foi determinada considerando as estacas vivas que não enraizaram. Assim, genótipos com satisfatória sobrevivência, mas com baixo enraizamento, foram, em geral, os que mais se destacaram, como

G7, G8, G13 e G14, variando de 64,6% a 85,4%. Outros cinco genótipos formaram calo em 41,7% a 47,9% das estacas, e os demais abaixo de 35,4%, inclusive alguns que apresentaram razoável sobrevivência e baixo enraizamento, como G10, G20, G29 e G30.

A formação de calos depende do teor endógeno de auxina nas estacas, assim como do balanço adequado entre auxinas, giberelinas e citocininas, considerados promotores da divisão celular e, portanto, também da formação de calo (NERY et al., 2014). Segundo Hartmann et al. (2002), a formação de raízes adventícias e de calos é independente, e a ocorrência de ambos, ao mesmo tempo, é devido aos dois processos envolverem divisão celular, que pode depender de condições internas e ambientais parecidas.

Quadros (2009) relata que a formação de calo interferiu positivamente na diminuição da mortalidade de estacas de erva-mate, porém a maior taxa de enraizamento foi obtida quando a formação de calo foi menor. Hettwer (2013) cita que, ao tratar as estacas de *Cambona 4* com AIB, houve evidências de efeito inibidor de calo de parte do regulador, quando comparado aos resultados sem AIB. Santos (2011) também não obteve aumento na porcentagem de estacas com calo ao utilizar o AIB. Em estacas herbáceas de pitangueira, a formação de calo foi somente 7,6% sem uso de AIB, e quando este foi aplicado não houve formação de calos (LATTUADA et al., 2011).

As elevadas taxas de sobrevivência e, em alguns genótipos, também de formação de calo, poderiam sugerir que, se o tempo de estaquia fosse mais prolongado poderiam ser observadas maiores taxas de enraizamento. Assim, após a avaliação do experimento aos 120 dias, a estaquia foi refeita, sem nova aplicação de AIB, com todas as estacas

vivas, inclusive as enraizadas, mas que tiveram as raízes retiradas para avaliação da massa fresca e seca.

Os resultados, após cinco meses (maio a outubro) (Tabela 16), demonstraram que 15 genótipos se destacaram com maior enraizamento, entre 62,5% e 93,8%, sendo que 14 já haviam apresentado melhor enraizamento durante o primeiro período de estaquia, revelando a capacidade de refazer as raízes eliminadas e formar raízes em estacas que não haviam enraizado. Por exemplo, o G19, em um universo de cem estacas apresentaria 75 vivas (75%) (Tabela 14) e 33 enraizadas, em 120 dias (Tabela 16), mas quando refeita a estaquia alcançou 52 enraizadas (68,8% das 75 vivas). Os genótipos G7, G8, G13 e G14, que apresentaram mais estacas com calo, revelaram os maiores acréscimos, sugerindo que a presença de calo pode ter sido um indicativo de formação de raízes com maior tempo. Por outro lado, o G12, que apresentou baixa sobrevivência e enraizamento (4,2%), manteve baixa porcentagem (6,2%).

A qualidade do sistema radicial é importante na produção de mudas de erva-mate, tendo em vista que o crescimento das plantas no campo, após seu plantio definitivo, está diretamente relacionado ao vigor radicial (BRONDANI et al., 2007). O comprimento médio das três maiores raízes variou de 1,4 cm a 7,9 cm (Tabela 17), com 15 genótipos apresentando comprimento acima de 5,2 cm.

Tabela 17 – Comprimento médio das três maiores raízes, massa fresca e seca de raízes de estacas de trinta genótipos de erva-mate tratadas com 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Passo Fundo, RS, 2015

Genótipos	Comprimento das 3 maiores raízes (cm)	Massa fresca de raiz (g)	Massa seca de raiz (g)
G1	4,0 b	0,650 c	0,098 c
G2	5,2 a	1,034 c	0,136 c
G3	6,2 a	2,199 b	0,292 b
G4	5,8 a	4,136 a	0,647 a
G5	6,6 a	1,281 c	0,192 c
G6	6,0 a	1,153 c	0,144 c
G7	1,8 b	0,092 c	0,012 c
G8	2,0 b	0,142 c	0,019 c
G9	4,2 b	0,966 c	0,134 c
G10	2,1 b	0,202 c	0,026 c
G11	5,5 a	1,345 c	0,172 c
G12	1,4 b	0,080 c	0,011 c
G13	5,5 a	0,416 c	0,064 c
G14	3,0 b	0,073 c	0,011 c
G15	1,6 b	0,065 c	0,007 c
G16	6,5 a	2,350 b	0,312 b
G17	7,9 a	3,862 a	0,566 a
G18	6,3 a	2,836 b	0,389 b
G19	2,8 b	0,270 c	0,040 c
G20	4,0 b	0,802 c	0,104 c
G21	4,6 b	1,052 c	0,158 c
G22	6,5 a	2,257 b	0,306 b
G23	6,2 a	2,086 b	0,308 b
G24	5,5 a	1,199 c	0,148 c
G25	6,5 a	3,652 a	0,531 a
G26	7,1 a	3,539 a	0,491 a
G27	2,8 b	0,159 c	0,018 c
G28	7,4 a	3,715 a	0,494 a
G29	4,1 b	0,132 c	0,016 c
G30	4,4 b	0,518 c	0,068 c
<b>CV (%)</b>	41,56	71,75	75,97

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

Embora no presente trabalho a comparação com e sem AIB não tenha sido realizada, trabalhos demonstram o efeito positivo do fitorregulador no desenvolvimento radicial de estacas de erva-mate, como Horbach (2008). Santos (2011) verificou que o AIB aumentou em até 60% o comprimento da maior raiz. Da mesma forma, Hettwer (2013) observou comprimento médio de até 5,0 cm com o uso de AIB.

A massa fresca e seca de raízes foi mais elevada nos genótipos G4, G17, G25, G26 e G28, entre 3,539 g e 4,136 g, e 0,491 g e 0,647 g, respectivamente (Tabela 17).

Finalizando, pode-se afirmar que é necessário e fundamental, com base nos resultados obtidos de variabilidade das características das plantas e do potencial de enraizamento, a prospecção de materiais genéticos de erva-mate superiores (matrizes) com elevada produtividade e qualidade da matéria prima, e satisfatória capacidade de multiplicar-se por estaquia, como alguns genótipos identificados nesse trabalho. A clonagem, como método de produção de mudas, pode viabilizar a implantação de ervais comerciais mais uniformes e produtivos, e melhor padronização do produto comercial.

## 5 CONCLUSÕES

a) Há divergência genética em trinta genótipos de erva-mate oriundos de propagação sexual, conforme mensuração de caracteres fenotípicos.

b) Os caracteres que mais contribuem para a divergência são massa fresca da folha, número de folhas por metro de ramo e comprimento da folha.

c) O germoplasma apresenta variabilidade quanto à capacidade de retenção foliar, sobrevivência e enraizamento de estacas.

d) A capacidade de retenção das folhas mantidas nas estacas pode influenciar positivamente na sobrevivência e no enraizamento, mas o conteúdo de açúcares totais na planta matriz não se correlaciona com essas variáveis.

e) O enraizamento foi significativamente superior em 50% dos genótipos estudados, variando de 43,8% a 85,4%, demonstrando, com base apenas nessa variável, potencial para serem utilizados como plantas matrizes em um programa de produção de mudas por clonagem.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. N.; BITTENCOURT, A. M.; SANTOS, A. J. dos; EISFELD, C. L.; SOUZA, V. S. Production and price evolution of the main extractive non timber forest products in Brazil. *Cerne*, Lavras, v. 15, n. 3, p. 282-287, 2009.

BERTAN, I.; CARVALHO, I. F. de; OLIVEIRA, A. C. de; VIEIRA, E. A.; HARTWIG, I.; SILVA, J. A. G. da; SHIMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; BUSATO, C. C.; RIBEIRO, G. Comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v. 12, n. 3, p. 279-286, 2006.

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

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. *Melhoramento de plantas*. 4. ed. Viçosa: UFV, 2005. 525 p.

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; ROVEDA, L. F.; ORRUTÉA, A. G. Ambiente de enraizamento e substratos na miniestaqueia de erva-mate. *Scientia Agraria*, Curitiba, v. 8, n. 3, p. 257-267, 2007.

BRONDANI, G. E.; ARAUJO, de A. M.; WENDLING, I.; KRATZ, D. Enraizamento de miniestacas de erva-mate sob diferentes ambientes. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, n. 57, p. 29-38, 2008.

CANSIAN, R. L. *Variabilidade genética e de compostos voláteis e semi-voláteis em populações nativas de Ilex paraguariensis (St. Hil.) do Brasil, visando a conservação da espécie*. 2003. 82 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade de São Carlos, São Carlos, SP.

CARGNELUTTI FILHO, A.; RIBEIRO, N. D.; REIS, R. C. P. dos; SOUZA, J. R. de; JOST, E. Comparação de métodos de agrupamento para o estudo da divergência genética em cultivares de feijão. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2138-2145, 2008.

CARGNELUTTI FILHO, A.; RIBEIRO, N. D.; BURIN, C. Consistência do padrão de agrupamento de cultivares de feijão conforme medidas de dissimilaridade e métodos de agrupamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 45, n. 3, p. 236-243, 2010.

CARVALHO, L. P. de; LANZA, M. A.; FALLIERI, J.; SANTOS, J. W. dos. Análise da diversidade genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v. 38, n. 10, p. 1149-1155. 2003.

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

CASCALES, J.; BRACCO, M.; POGGIO, L.; GOTTLIEB, A. M. Genetic diversity of wild germplasm of “yerba mate” (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) from Uruguay. *Genetica*, v. 142, p. 563–573, 2014.

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

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 2003. 585 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa, UFV, 2001, 390 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 2004. 480 p.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*, Maringá, v. 35, n. 3, p.271-276, 2013.

DALAZEN, D. F.; ÁVILA, J. de. S. R.; STEFENON, V. M. Diversidade na morfologia foliar de erva-mate (*Ilex paraguariensis* (St. Hil.)). In: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UNIPAMPA, 3., 2012, Uruguaiana. *Anais eletrônicos...* Uruguaiana: Unipampa, 2012.

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

DIAZ, V. S.; SEOANE, C. E. S.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. *Diversidade genética, estrutura genética espacial e fluxo gênico em populações de erva-mate (Ilex paraguariensis A. St. Hil.) na área de entorno do Parque Nacional do Iguaçu*. Colombo: Embrapa Florestas, 2013. 46 p. (Documentos, 247).

DOMINGOS, D. M.; WENDLING, I. Sobrevivência e vigor vegetativo de plantas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* a. St.- hil.) enxertadas diretamente a campo. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 16, n. 1, p. 107-112, 2006.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, Saint Paul, v. 28, n. 3, p. 350 -356, 1956.

DUTRA, F. L. G. *Compostos fenólicos e metilxantinas em erva-mate armazenada em sistemas de estacionamento natural e acelerado*. 2009. 73 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

DUTRA, L. F.; SILVA, N. D. G. da. *Estabelecimento In Vitro de erva-Mate (Ilex paraguariensis St. Hil.)*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 7 p. (Comunicado Técnico, 215).

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Londrina, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

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

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. *Propagação vegetativa de espécies florestais*. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 22 p. (Documentos, 94).

FERREIRA, F. R. Germoplasma de fruteiras. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. E, p. 001-06, 2011.

FOCHESATO, M. L.; MARTINS, F. T.; SOUZA, P. V. D.; SCHWARZ, S. F.; BARROS, I. B. I. Propagação de louro (*Laurus nobilis* L.) por estacas semilenhosas com diferentes quantidades de folhas e tratadas com ácido indolbutírico. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 72-77, 2006.

FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A. *Aspectos da formação do fruto e da semente na germinação da erva-mate*. Curitiba: Embrapa Florestas, 2000. 5 p. (Circular Técnica, 5).

GAUER, L.; CAVALLI-MOLINA, S. Genetic variation in natural populations of maté (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) using RAPD markers. *Heredity*, London, v. 84, n. 6, p. 647-656, 2000.

GOULART, P. B.; XAVIER, A.; DIAS, J. M. M. Efeito dos cofatores hidroquinona, prolina e triptofano no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. *Revista Árvore*, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 1017-1026, 2011.

GRAÇA, M. E. C.; COOPER, M. A.; TAVARES, F. R.; CARPANEZZI, A. A. *Estaquia de erva-mate*. Curitiba: Embrapa Florestas, 1988. 6 p. (Circular Técnica, 18).

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. 847 p.

\_\_\_\_\_. *Plant propagation: principles and practices*. 8. ed. New Jersey: Prentice- Hall, 2011. 915 p.

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) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2013.

HIGA, R. C. V. Estaquia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): resultados preliminares. *Silvicultura*, São Paulo, v. 8, n. 28, p. 304-305, 1983.

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* – ano de 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 18 nov. 2015.

INOUE, M. T.; PUTTON, V. Macropropagação de 12 espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Mista. *Revista Floresta*, Curitiba, v. 37, n. 1, p. 55-61, 2007.

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

JESUS, S. V. de; MARENCO, R. A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. *Acta Amazonica*, Manaus, v. 38, n. 4, p. 815-818, 2008.

KARASAWA, M.; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C. P.; SILVA, M. P. da; RIVA, E. M.; JÚNIOR, A. T. do A. Aplicação de métodos de agrupamento na quantificação da divergência genética entre acessos de tomateiro. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 23, n. 4, p. 1000-1005, 2005.

KUINCHTNER, A.; BURIAL, G. A. Clima do estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação climática de Köppen e Thornthwaite. *Disciplinarum Scientia*, Santa Maria, v. 2, n. 1, p. 171-182, 2001.

LATTUADA, D. S.; SPIER, M.; SOUZA, P. V. D. de. Pré-tratamento com água e doses de ácido indolbutírico para estaquia herbácea de pitangueiras. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 41, n. 12, p. 2073-2079, 2011.

LIMA, D. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indolbutírico relacionada aos aspectos anatômicos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 13, n. 4, p. 422-438, 2011.

LOBÃO, M. S.; CASTRO, V. R. de; RANGEL, A.; SARTO, C.; TOMAZELLO FILHO, M.; SILVA JÚNIOR, F. G. da; CAMARGO NETO, L. de; BERMUDEZ, M. A. R. C. Agrupamento de espécies florestais por análises univariadas e multivariadas das características anatômica, física e química das suas madeiras. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, v. 39, n. 92, p. 469-477, 2011.

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 6. ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014. 384 p.

MACCARI JR., A.; MAZUCHOWSKI, J.Z. *Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate*. Curitiba: Câmara Setorial Produtiva da Erva-Mate do Paraná, 2000. 160 p.

MOITA NETO, J. M.; MOITA, G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. *Química Nova*, São Paulo, v. 21, n. 6, p. 467-469, 1998.

MONTEIRO, E. R.; BASTOS, E. M.; LOPES, Â. C. de A.; GOMES, R. L. F.; NUNES, J. A. R. Diversidade genética entre acessos de espécies cultivadas de pimentas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 288-283, 2010.

MOREIRA, G. R.; SILVA, D. J. da; PICANÇO, M. C.; PETERNELLI, L. A.; CALIMAN, F. R. B. Divergência genética entre acessos de tomateiro infestados por diferentes populações de traça-do-tomateiro. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 23, n. 4, p. 893-898, 2005.

NERY, F. da S. G.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) nas quatro estações do ano. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 24, n. 1, p. 243-250, 2014.

OLIVEIRA, F. J.; FILHO, C. J. A.; BASTOS, G. Q.; REIS, O. V. Divergência genética entre cultivares de caupi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 38, n. 5, p. 605-611, 2003a.

OLIVEIRA, A. F. de; PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; REGINA, M. de A.; RINCÓN, C. D. R. Enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira sob efeito de diferentes épocas, substratos e concentrações de ácido indolbutírico. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 27, n. 1, p. 117-125, 2003b.

ONO, E. G.; RODRIGUES, J. D.; DE PINHO, S. Z. Enraizamento de estacas caulinares de kiwi (*Actinidia chinensis* Planch cv Abbott) tratadas com auxinas e boro. *Scientia agrícola*, Piracicaba, v. 52, n. 3, p. 462-468, 1995.

PACHECO, J. P.; FRANCO, E. T. H. Ácido indolbutírico em diferentes diâmetros na estaquia de *Luehea divaricata*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1624-1629, 2008.

PAIVA, H. N. de; GOMES, J. M. *Propagação vegetativa de espécies florestais*. Viçosa: UFV, 2005. 46 p. (Caderno Didático, 83).

PIMENTA, A. C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; OLIVEIRA, B. H. de; CARPANEZZI, A. A.; KOEHLER, H. S. Interações entre reguladores vegetais, épocas do ano e tipos de substrato no enraizamento de estacas caulinares de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. (Pau-de-leite). *Boletim de Pesquisa Florestal*, Colombo, n. 50, p. 53-67, 2005.

PRAT KRIKUN, S. D.; BELINGHERI, L. D.; PICCOLO, G. A.; MAGRAN, E.; SWIER, R.; FLORES, S. E. R.; ACUNA, D. O.; ABELARDO, S. *Yerba-mate: informe sobre investigaciones realizadas, período 1982-83*. Cerro Azul: INTA, 1983. 32 p. (Publicación Miscelánea, 7).

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

RICCI, M. D. S. F.; COSTA, J. R.; OLIVEIRA, N. G. D. Utilização de componentes principais para analisar o comportamento do cafeeiro a pleno sol e sombreado. *Coffee Science*, Lavras, v. 6, n. 1, p. 44-54, 2011.

RODRIGUES, H. C. de A.; CARVALHO, S. P. de; CARVALHO, A. A. de; FILHO, J. L. S. de C.; CUSTÓDIO, T. N. Avaliação da diversidade genética entre acessos de mamoneira (*Ricinus communis* L.) por meio de caracteres morfoagronômicos. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 57, n. 6, p. 773-777, 2010.

ROSSE, L. N.; FERNANDES, J. S. C. Escolha de caracteres para o melhoramento genético em erva-mate por meio de técnicas multivariadas. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 12, n. 1, p. 21-27, 2002.

SALOMÃO, A. N. *Manual de curadores de germoplasma – Vegetal: Glossário*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 14 p. (Documentos, 326).

SANTOS, S. R. F. dos. *Multiplicação 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.

SCHEFFER-BASSO, S. M.; ORSATO, J.; MORO, G. V.; ALBUQUERQUE, A. C. S. Divergência genética em germoplasma de aveias silvestres com base em caracteres multicategóricos e quantitativos. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 59, n. 5, p. 654-667, 2012.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. *The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding*, New Delhi, v. 41, n. 2, p. 237-245, 1981.

SILVA, J. O. da C.; CREMASCO, J. P. G.; MATIAS, R. G. P.; SILVA, D. F. P. da; SALAZAR, A. H.; BRUCKNER, C. H. Divergência genética entre populações de pessegueiro baseada em características da planta e do fruto. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 44, n. 10, p. 1770-1775, 2014.

SOUZA, A. da S.; SOUZA, F. V. D.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; PAZ, O. P. da; MONTARROYOS, A. V. V.; SANTOS, V. da S.; MORAIS, L. S. *Preservação de germoplasma vegetal, com ênfase na conservação in vitro de variedades de mandioca*. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. 24 p. (Circular Técnica, 90).

STENVALL, N.; PIISILÄ, M.; PULKKINEN, P. Seasonal fluctuation of root carbohydrates in hybrid aspen clones and its relationship to the sprouting efficiency of root cuttings. *Canadian Journal of Forest Research*, Ottawa, v. 39, n. 8, p. 1531-1537, 2009.

STURION, J. A.; RESENDE, M. D. Programa de melhoramento genético da erva-mate no Centro Nacional de Pesquisa de Florestas da Embrapa. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. Anais... Colombo: EMBRAPA-CNPF, 1997. p. 285-297.

STURION, J. A.; RESENDE, M. D. V. de; OLISZESKI, A.; NEIVERTH, D. D. *Seleção de árvores para produção de massa foliar em erva-mate com base em valores genéticos*. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. 4 p. (Comunicado Técnico, 143).

STURION, J. A.; RESENDE, M. D. V. de. *Melhoramento genético da erva-mate*. Colombo: Embrapa Florestas, 2010. 274 p.

SUDRÉ, C. P.; RODRIGUES, S.; RIVA, E. M.; KARASAWA, M.; JÚNIOR, A. T. do A. Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 23, n. 1, p. 22-27, 2005.

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

TARRAGÓ, J.; SANSBERRO, P.; FILIP, R.; LÓPEZ, P.; GONZÁLEZ, A.; LUNA, C.; MROGINSKI, L. Effect of leaf retention and flavonoids on rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 103, p. 479-488, 2005.

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

VASCONCELOS, E. S. de; CRUZ, C. D.; BHERING, L. L.; RESENDE JÚNIOR, M. F. R. Método alternativo para análise de agrupamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 42, n. 10. p.1421-1428, 2007.

VIDOR, M. A.; RUIZ, C. P.; MORENO, S. V.; FLOSS, P. A. Variabilidade genética em um ensaio de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St.Hil.). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 583-587, 2002.

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

WENDLING, I.; PAIVA, H. N. de; GONÇALVES, W. *Técnicas de produção de mudas de plantas ornamentais*. Viçosa: Aprenda Fácil, 2005. 223 p.

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

WENDLING, I.; LAVORANTI, O. J.; RESENDE, M. D.; HORMANN, H. A. Seleção de matrizes e tipo de propágulo na enxertia de substituição de copa em *Ilex paraguariensis*. *Revista Árvore*, Viçosa, v. 33, n. 5, p. 811-819, 2009.

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E.; BIASSIO, A. de; DUTRA, L. F. Vegetative propagation of adult *Ilex paraguariensis* trees through epicormic shoots. *Acta Scientiarum. Agronomy*, Maringá, v. 35, n. 1, p. 117-125, 2013.

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Produção de mudas de erva-mate. In: WENDLING, I.; SANTIN, D. *Propagação e nutrição de erva-mate*. Brasília: Embrapa, 2015. p. 11-98.

WENDT, S. N.; SOUSA, V. A.; QUOIRIN, M.; SEBBENN, A. M.; MAZZA, M. C.; STURION, J. A. Caracterização genética de procedências e progênies de *Ilex paraguariensis* St. Hil. utilizando marcadores RAPD. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, v. 35, n. 73, p. 47-53, 2007.

ZERBIELLI, L.; NIENOW, A. A.; BONAFÉ, M. Propagação de gnótipos 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.