

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

Nathalia Pimentel

**ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS E QUALIDADE DE MUDAS DE
Ilex paraguariensis A. St.-Hil.**

Santa Maria, RS
2020

Nathalia Pimentel

**ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS E QUALIDADE DE MUDAS DE
Ilex paraguariensis A. St.- Hil.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Área de concentração em Silvicultura, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Engenharia Florestal.**

Orientador: Prof. Dilson Antônio Bisognin, PhD.

Santa Maria – RS, Brasil
2020

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Pimentel, Nathalia
ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS E QUALIDADE DE MUDAS DE
Ilex paraguariensis A. St.-Hil. / Nathalia Pimentel.-
2020.
143 p.; 30 cm

Orientador: Dilson Antônio Bisognin
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Engenharia Florestal, RS, 2020

1. Erva-mate 2. Anatomia das plantas 3. Miniestaquia
4. Substrato 5. Sombreamento I. Antônio Bisognin, Dilson
II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, NATHALIA PIMENTEL, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Nathalia Pimentel

**ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS E QUALIDADE DE MUDAS DE
Ilex paraguariensis A. St.- Hil.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Área de concentração em Silvicultura, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Engenharia Florestal**.


Aprovado em 16 de março de 2020:



Dilson Antônio Bisognin, PhD. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Dr. Nilton Cesar Mantovani (UFSM)



Dr. Renato Trevisan (UFSM/Politécnico)



Dra. Marília Lazarotto (UFPEL)



Dr. Eliseo Salvatierra Gimenes (IFFarroupilha/SVS)

Santa Maria, RS
2020

AGRADECIMENTOS

À Deus que em cada obstáculo me mostrou que, com fé e paciência, poderia vencer, e a todos que Ele, direta ou indiretamente, colocou em meu caminho, tornando esta etapa mais branda.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em especial aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, pelos ensinamentos compartilhados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de apoio financeiro, possibilitando o desenvolvimento desta pesquisa.

À Empresa Ximango, especialmente ao Valcir e a Juliana Montagner, agradeço a cooperação, a hospitalidade, o apoio logístico e principalmente o interesse científico mostrado pelo trabalho.

Ao meu orientador Professor Dilson Antônio Bisognin, pela confiança em mim depositada, pelos ensinamentos, pela postura ética e profissional exemplar, pela paciência e por todo apoio durante a realização deste trabalho. Você sempre será referência para meu crescimento tanto profissional quanto pessoal.

Ao meu co-orientador Professor Frederico Dimas Fleig, pelo constante empenho, disponibilidade e valorosas contribuições no decorrer deste trabalho.

Aos membros da banca, Professores Nilton Cesar Mantovani, Renato Trevisan, Marília Lazarotto e Eliseo Salvatierra Gimenes pela disponibilidade e valiosas sugestões na confecção deste estudo.

Aos meus amados pais, Marcia e Jairo Pimentel, não apenas pelo apoio e amor incondicional nesta trajetória, mas por tudo que sempre fizeram e que ainda fazem por mim, bem como ao meu irmão Matheus Pimentel, por sua amizade, carinho e compreensão infinitos. Tudo o que faço, fiz e farei é por eles e para eles. São a causa dos meus esforços para ser uma pessoa melhor e conquistar cada vez mais na vida.

Ao meu querido esposo Jonatas Maciel, por ser tão presente na minha vida mesmo com a distância física que existe entre nós. Sempre me apoiando, me fortalecendo e me fazendo acreditar que posso mais do que imagino. Devido ao seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio e amor, este trabalho pôde ser concretizado. Obrigada por ter feito do meu sonho, o nosso sonho.

Aos colegas do MPVP pelas contribuições neste trabalho e pelos momentos divididos, especialmente à Mhaiandry, Denise, Kelen, Mariana, Taise, Luana e Francielly agradeço por dividirem comigo as angústias e alegrias, me ouvirem e ampararem em todos os momentos. Foi um grande prazer fazer parte deste grupo de pesquisa por tantos anos, e é com muito orgulho

que agradeço cada momento que pude absorver um pouquinho da experiência profissional de cada uma de vocês.

Aos meus amados afilhados, Pedro Floss e Benjamin Maciel, meus filhos de coração, por tornarem a minha vida mais leve, alegre e valorosa.

Aos meus amigos Cristina Peiter, Lisandro Bolzan, minhas amadas primas Betina Muller, Maiara Muller e Gabriela Bonfanti, pela parceria constante ao longo dos anos, pela qualidade da nossa amizade e convivência. Em especial à Leidiane de Lucca, irmã que Deus me deu a oportunidade de escolher, agradeço por ter sido meu porto-seguro em Santa Maria por muitos anos, minha companhia tanto nos momentos de calma quanto nos momentos de stress. Obrigada por tudo que já passamos juntas minha amiga-irmã.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram com o desenvolvimento deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

Não sei se estou perto ou longe demais, se peguei o rumo certo ou errado. Sei apenas que sigo em frente, vivendo dias iguais de forma diferente. Já não caminho mais sozinho, levo comigo cada recordação, cada vivência, cada lição. E, mesmo que tudo não ande da forma que eu gostaria, saber que já não sou a mesma de ontem me faz perceber que valeu a pena. Procure ser uma pessoa de valor, em vez de procurar ser uma pessoa de sucesso. O sucesso é só consequência.

(Albert Einstein)

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal
Universidade Federal de Santa Maria

ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS E QUALIDADE DE MUDAS DE *Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.

AUTORA: Nathalia Pimentel
ORIENTADOR: Dilson Antônio Bisognin

Local e data: Santa Maria, 16 de março de 2020.

Devido ao crescente interesse comercial em produtos florestais não madeireiros, como as folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.), principalmente no preparo de bebidas e produtos nutracêuticos, o desenvolvimento das técnicas de propagação clonal desta espécie é de extrema importância, podendo resultar em povoamentos uniformes e com alta produtividade foliar. Diante deste contexto, o presente estudo objetivou caracterizar anatomicamente as raízes adventícias de miniestacas e determinar a qualidade das mudas de erva-mate produzidas por miniestaquia. Para a caracterização anatômica, miniestacas dos clones 10SM07, 06SM17, 06SM15 e 06SM12 foram coletadas aos 0, 30 e 60 dias de cultivo em câmara úmida, fixadas e seccionadas em micrótomo de rotação. Cloreto férrico foi utilizado para detectar compostos fenólicos e a solução de lugol para identificar grãos de amido. Para determinar o tamanho ideal das miniestacas, realizou-se a coleta das brotações das minicepas mantidas em minijardim clonal, as quais foram classificadas quanto ao seu comprimento em pequeno (até 2,5 cm), médio (2,6 a 5,0 cm) e grande (5,1 a 10,0 cm) e plantadas em iguais proporções de substrato comercial, vermiculita e areia. Aos 45, 60, 75 e 90 dias de cultivo em câmara úmida, as miniestacas foram avaliadas quanto às porcentagens de sobrevivência, calogênese, brotação, número e comprimento dos brotos, porcentagem de miniestacas enraizadas e número e comprimentos das raízes. Para avaliar o efeito da composição dos substratos na qualidade morfofisiológica das mudas, miniestacas enraizadas foram cultivadas em substrato comercial, terra de subsolo e vermiculita (2:1:1 v/v/v), substrato comercial e terra de subsolo (2:1 v/v) ou terra de subsolo, esterco bovino e casca de arroz carbonizada (2:1:1 v/v/v) e avaliadas aos 30, 60, 90 e 120 dias de cultivo quanto à porcentagem de sobrevivência, diâmetro de colo, altura da parte aérea, relação entre altura da parte aérea e diâmetro de colo e número de folhas. Também, aos 120 dias de cultivo, três mudas de cada tratamento foram analisadas quanto à relação entre massa seca da parte aérea e das raízes, comprimento total, área superficial, volume total, número de extremidades das raízes e índice de qualidade de Dickson. Posteriormente, estas mudas foram distribuídas aleatoriamente em bancadas com telas de sombreamento de 50 e 80% e avaliadas quanto à porcentagem de sobrevivência, diâmetro de colo, altura da parte aérea e número de folhas aos 30, 60, 90 e 120 dias de cultivo. Além disso, em cada uma das avaliações morfológicas realizadas também foi quantificado o teor relativo de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e relação entre clorofila *a* e *b*, com auxílio do clorofilômetro. A diferença na capacidade rizogênica das miniestacas dos clones de erva-mate estudados não é dependente da presença de barreiras anatômicas ou da acumulação de compostos fenólicos, mas pode estar associada à presença e distribuição dos grãos de amido nos propágulos vegetativos. Miniestacas com diferentes tamanhos possibilitam o enraizamento adventício, no entanto o uso de miniestacas pequenas (até 2,5 cm) pode maximizar a produção de mudas por miniestaquia. Mudanças clonais de erva-mate com satisfatória qualidade morfofisiológica podem ser produzidas em substrato comercial e terra de subsolo (2:1 v/v) sob 50 e 80% de sombreamento.

Palavras-chave: Erva-mate. Anatomia das plantas. Miniestaquia. Substrato. Sombreamento.

ABSTRACT

Doctoral dissertation
Graduate Program of Forest Engineering
Federal University of Santa Maria

ROOTING MINI-CUTTINGS AND PLANTLET QUALITY OF *Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.

AUTHOR: Nathalia Pimentel
ADVISER: Dilson Antônio Bisognin

Place and date: Santa Maria, March 16th, 2020.

Due to the growing commercial interest in non-timber forest products, such as mate leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.), mainly in the preparation of drinks and nutraceutical products, the development of clonal propagation techniques for this species is extremely important, and may result in uniform stands and high leaf yield. Given this context, the present study aimed to anatomically characterize the adventitious roots of mini-cuttings and determine the quality of plantlets of mate produced by mini-cuttings. For the anatomical characterization, mini-cuttings of 10SM07, 06SM17, 06SM15 and 06SM12 clones were collected at 0, 30 and 60 days of cultivation in humid chamber, fixed and sectioned on a rotating microtome. Ferric chloride was used to detect phenolic compounds and the lugol solution to identify starch grains. For the study of mini-cutting size, shoots were collected from mini-stumps maintained in mini-clonal hedge, classified as small (up to 2.5 cm), medium (2.6 to 5.0 cm) and large (5.1 to 10.0 cm) and planted in equal proportions of commercial substrate, vermiculite and sand. At 45, 60, 75 and 90 days of cultivation in humid chamber, mini-cuttings were evaluated for percentages of survival, calogenesis, shooting, number and length of shoot, percentages of rooting, number and length of roots. To evaluate the effect of the substrate compositions, rooted mini-cuttings were cultivated on commercial substrate, subsoil and vermiculite (2:1:1 v/v/v), commercial substrate and subsoil (2:1 v/v) or subsoil, cattle manure and carbonized rice husks (2:1:1 v/v/v). At 30, 60, 90 and 120 days of cultivation, mini-cuttings were evaluated for survival percentage, stem diameter, shoot height, ratio of shoot height and stem diameter and number of leaves. At 120 days of cultivation, three plantlets of each treatment were also evaluated for shoot and root dry mass ratio, total length, surface area, total volume, number of root tips and Dickson quality index. The produced plantlets were randomly distributed in benches with shading screens of 50 and 80% and evaluated for survival percentage, stem diameter, shoot height, and number of leaves at 30, 60, 90 and 120 days of cultivation. The relative content of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total chlorophyll and ratio of chlorophyll *a* and *b* were also quantified with the chlorophyll meter. Differences in the rhizogenic capacity of mini-cuttings of four mate clones did not depend on the presence of anatomical barriers or the accumulation of phenolic compounds, but may be associated with the presence and distribution of starch grains in vegetative propagules. Mini-cuttings with different sizes allowed adventitious rooting, however, the use of small mini-cuttings (up to 2.5 cm) can maximize plantlets production by mini-cuttings. Mate clonal plantlets with satisfactory morphophysiological quality can be produced in commercial substrate and subsoil (2:1 v/v) under 50 and 80% shading.

Keywords: Erva-mate. Plant anatomy. Mini-cutting technique. Substrates. Shading.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Locais de ocorrência natural da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.) no Brasil. 26
- Figura 2 – Árvore (a), folhas simples alternas (b), ovaladas e com margens dentadas (c), inflorescência pistilada (feminina) (d) e estaminada (masculina) (e), detalhe das flores de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.) (f - g). Barra =1 cm. 27
- Figure 3. Bright field microscopy of mini-cuttings of the mate clone 10SM07 treated with 2000 mg L⁻¹ of IBA at 0 days of cultivation. (a) Transverse section, with details of the epidermis (ep), endoderm (en), and cortical region (cr) arranged compactly, continuous layer of fibers (cf), primary phloem (pp), secondary phloem (sp), vascular cambium (vc), and secondary xylem (sx). (b) Longitudinal section, with details of secondary xylem (sx), continuous layer of fibers and stone cells interspersed (cf), cortical region (cr), and the length of the vascular cambium cells (asterisk). (c) Longitudinal section, with starch grains (arrow). (D) Transverse section, detailing the medullary region (mr) with starch grains (arrow). Scale: a = 100 µm; b = 500 µm; c and d = 50 µm..... 53
- Figure 4. Rooted mini-cutting of mate clone 06SM15 not treated with IBA at 30 days of cultivation in the wet chamber. (a) Macroscopic aspects of adventitious rooting. (b) Longitudinal section of rooted mini-cutting, detailing the epidermis (ep), cortical region (cr), vascular region (vr), and new proliferated tissues (red lines), such as neoformed xylem (nx) and phloem (np) with vascular connection with the adventitious roots (white arrow) and tissues with calluses at the base of the vegetative propagule (yellow line). (c) Longitudinal section of rooted mini-cutting, detailing neoformed vascular cambium cells (asterisk). Scale: a = 5 mm; b = 500 µm; c = 50 µm. 54
- Figure 5. Transverse sections of mini-cuttings of mate clone 10SM07 not treated with IBA, in bright field (a, b) and polarized light (c) at 30 days of cultivation. (a) Cortical region (cr), neoformed secondary phloem (nsp), neoformed secondary xylem (nsx), and vascular grouping of curved cells (asterisk), arrows indicate the discontinuity of the anatomical barrier (ab). (b) Detail of the discontinuity of the anatomical barrier (ab) and the neoformed secondary xylem (nsx), arrows indicate regions of proliferation of new tissues. (c) Detail of the tracheoidal elements (te) and anatomical barrier (ab). Scale: a = 200 µm, b = 100 µm and c = 200 µm. 56
- Figure 6. Transverse (a, b, c, e) and longitudinal (d) sections of adventitious roots formed in mini-cuttings of the mate clone 06SM15 in bright field (a, b, c, and d), fluorescence (e) and DIC (f) at 60 days of cultivation. (a) Root formed in mini-cutting treated with 2000 mg L⁻¹ of IBA, which presented xylem (x) and phloem (p) disorganized in the central cylinder. (b) Diarch adventitious root formed in the mini-cutting not treated with IBA, with organized pattern of both xylem (x) and phloem (p). (c) Detail of the root hair zone formed in mini-cutting not treated with IBA. (d) General aspect of vascular connection that vascularizes the adventitious roots. (e) Detail of the tissues with callose. Fluorescence indicates accumulation of callose in sieve plates (arrows). (f) Vessel elements present in tissues with calluses, which appear as plates of simple

- perforation (arrows) and fiber-tracheids (asterisk). Scale: a, b, c and e = 100 μm ; d = 500 μm ; f = 50 μm 57
- Figure 7. Identification and localization of phenolic compounds and starch. (a) Ferric Chloride and (b) Toluidine Blue in longitudinal sections, hand-cut from fresh material of mate mini-cuttings of clone 10SM07 not treated with IBA, at 60 days of cultivation in a wet chamber. Detection of the starch grains using lugol solution in transverse sections of mini-cuttings of clone 10SM07 (c, e and g) and 06SM15 (d, f and h) not treated with IBA at 0 (c and d), 30 (e and f) and 60 days (g and h) of cultivation in a wet chamber. Scale: a, b, c, d and f = 50 μm ; e = 20 μm ; g and h = 100 μm 59
- Figure 8. Percentage of survival and callus and shoot formation, number and length of shoots, percentage of rooted mini-cuttings, and number and length of roots on mate mini-cuttings of different sizes after 45, 60, 75, and 90 days of cultivation. Sizes: small mini-cuttings (one bud, mini-cutting up to 2.5 cm long), medium (multiple buds, 2.6–5.0 cm long) and large (multiple buds, 5.1 to 10.0 cm long). **Lower case letters indicate means differed significantly among cutting size for a particular time period according to Scott–Knott’s test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant according to the *F*-values in ANOVA.... 71
- Figure 9. Rooted mini-cuttings of mate (a–c) after 90 days in a humidity chamber and plantlets (d–f) after 120 days in the greenhouse. Mini-cuttings of small (a and d), medium (b and e), and large (c and f) sizes are shown. Bar = 2 cm. 73
- Figure 10. Percentage survival, number of leaves, shoot height, stem diameter, and shoot height to stem diameter ratio of mate plantlets from mini-cuttings of different sizes after 30, 60, 90, and 120 days in a greenhouse. *Small mini-cuttings (one bud; up to 2.5 cm long), medium (multiple buds; 2.6–5.0 cm), and large (multiple buds; 5.1–10.0 cm). **Lower case letters indicate that means differed significantly among mini-cutting size for a particular time of evaluation in Scott–Knott’s test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant according to the *F*-values in ANOVA. 74
- Figure 11. Supplementary material. Relationship between shoot and root dry mass, total length, surface area, total volume, average diameter of the roots, and Dickson quality index of mate plantlets produced by mini-cuttings of different sizes after 120 days of cultivation. *Small mini-cuttings (one bud; up to 2.5 cm long), medium (multiple buds; 2.6 to 5.0 cm long) and large (multiple buds; 5.1 to 10.0 cm long). **Lower case letters indicate means differed among cutting size in Scott–Knott’s test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant according to *F*-values in ANOVA..... 76
- Figure 12. Stem diameter (A), shoot height (B), ratio between shoot height and stem diameter (C) and number of leaves (D) in mate (*Ilex paraguariensis*) plantlets produced by mini-cuttings, cultivated in different substrate compositions and evaluated at 30, 60, 90 and 120 days. CS= commercial substrate, SS= subsurface soil, V= vermiculite, CM= cattle manure, CRH= carbonized rice hulls. *Treatments followed by the different letters are significantly different according to a Tukey test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant..... 86
- Figure 13. Relationship between shoot and root dry mass (A), total length (B), surface area (C), total volume (D), number of root tips (E) and the Dickson quality index (F) of mate (*Ilex paraguariensis*) plantlets cultivated for 120 days in different substrate compositions. CS= commercial substrate, SS= subsurface soil, V= vermiculite, CM= cattle manure, CRH= carbonized rice hulls. * Treatments followed by the different

letters are significantly different according to a Tukey test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant.	88
Figure 14. Ratio between shoot height and stem diameter (A), stem diameter (B), shoot height (C) and number of leaves (D) in plantlets of four clones of mate (<i>Ilex paraguariensis</i>) produced by mini-cuttings and evaluated at 30, 60, 90 and 120 days. *Treatments followed by the different letters are significantly different according to a Tukey test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant.	90
Figure 15. Relationships between shoot and root dry mass (A), total length (B), surface area (C), total volume (D), number of root tips (E) and the Dickson quality index (F) in plantlets of four clones of mate (<i>Ilex paraguariensis</i>) at 120 days of cultivation. *Treatments followed by the different letters are significantly different according to a Tukey test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant.	91
Figure 16. Survival percentage (A), stem diameter (B), shoot height (C), number of leaves (D), chlorophyll index <i>a</i> (E), chlorophyll index <i>b</i> (F), chlorophyll index total (G) and relationship between chlorophyll index <i>a</i> and <i>b</i> (H) of mate (<i>Ilex paraguariensis</i>) plantlets produced by mini-cuttings, cultivated at different levels of shade and evaluated at 30, 60, 90 and 120 days of cultivation. FCI = Falker Chlorophyll Index. ^{ns} Not significant according to the F test.	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Produtos que utilizam como matéria-prima folhas de erva-mate no processo de industrialização.	31
Tabela 2 – Área colhida, produção total, produtividade, quantidade e valor de exportação e importação de erva-mate em forma de chá e de extratos, nos países da Argentina, Brasil e Paraguai, no ano de 2017.	32
Table 3. Physical and chemical characteristics of substrate compositions used in the production of mate plantlets clonal (<i>Ilex paraguariensis</i>).....	84

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A1 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.	118
APÊNDICE A2 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.	118
APÊNDICE A3 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.	118
APÊNDICE A4 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.	118
APÊNDICE A5 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de calogênese das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.	118
APÊNDICE A6 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de calogênese das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.	119
APÊNDICE A7 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de calogênese das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.	119
APÊNDICE A8 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de calogênese das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.	119
APÊNDICE A9 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de brotação das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.	119
APÊNDICE A10 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de brotação das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.	119
APÊNDICE A11 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de brotação das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.	120
APÊNDICE A12 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de brotação das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.	120
APÊNDICE A13 – Resumo da análise de variância para o número de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.....	120
APÊNDICE A14 – Resumo da análise de variância para o número de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.....	120

APÊNDICE A15 – Resumo da análise de variância para o número de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.....	120
APÊNDICE A16 – Resumo da análise de variância para o número de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.....	121
APÊNDICE A17 – Resumo da análise de variância para o comprimento de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.....	121
APÊNDICE A18 – Resumo da análise de variância para o comprimento de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.....	121
APÊNDICE A19 – Resumo da análise de variância para o comprimento de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.....	121
APÊNDICE A20 – Resumo da análise de variância para o comprimento de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.....	121
APÊNDICE A21 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de enraizamento das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.	122
APÊNDICE A22 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de enraizamento das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.	122
APÊNDICE A23 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de enraizamento das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.	122
APÊNDICE A24 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de enraizamento das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.	122
APÊNDICE A25 – Resumo da análise de variância para o número de raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.	122
APÊNDICE A26 – Resumo da análise de variância para o número de raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.	123
APÊNDICE A27 – Resumo da análise de variância para o número de raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.	123
APÊNDICE A28 – Resumo da análise de variância para o número de raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.	123
APÊNDICE A29 – Resumo da análise de variância para o comprimento das raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.	123

APÊNDICE A30 – Resumo da análise de variância para o comprimento das raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.....	123
APÊNDICE A31 – Resumo da análise de variância para o comprimento das raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.....	124
APÊNDICE A32 – Resumo da análise de variância para o comprimento das raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.....	124
APÊNDICE A33 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 30 dias de cultivo.....	124
APÊNDICE A34 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.....	124
APÊNDICE A35 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.....	124
APÊNDICE A36 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.....	125
APÊNDICE A37 – Resumo da análise de variância para o número de folhas formadas nas mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 30 dias de cultivo.....	125
APÊNDICE A38 – Resumo da análise de variância para o número de folhas formadas nas mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.....	125
APÊNDICE A39 – Resumo da análise de variância para o número de folhas formadas nas mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.....	125
APÊNDICE A40 – Resumo da análise de variância para o número de folhas formadas nas mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.....	125
APÊNDICE A41 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 30 dias de cultivo.....	126
APÊNDICE A42 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.....	126
APÊNDICE A43 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.....	126

APÊNDICE A44 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.	126
APÊNDICE A45 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 30 dias de cultivo.	126
APÊNDICE A46 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.	127
APÊNDICE A47 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.	127
APÊNDICE A48 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.	127
APÊNDICE A49 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 30 dias de cultivo.	127
APÊNDICE A50 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.	127
APÊNDICE A51 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.	128
APÊNDICE A52 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.	128
APÊNDICE A53 – Resumo da análise de variância para a relação massa seca da parte aérea e das raízes das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.	128
APÊNDICE A54 – Resumo da análise de variância para o comprimento das raízes de mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.	128
APÊNDICE A55 – Resumo da análise de variância para a área superficial das raízes de mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.	128
APÊNDICE A56 – Resumo da análise de variância para o volume total das raízes de mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.	129
APÊNDICE A57 – Resumo da análise de variância para o diâmetro médio das raízes de mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.	129

APÊNDICE A58 – Resumo da análise de variância para o índice de qualidade de Dickson das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.	129
APÊNDICE B1 – Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 30 dias de cultivo.	129
APÊNDICE B2 – Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 60 dias de cultivo.	130
APÊNDICE B3 – Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 90 dias de cultivo.	130
APÊNDICE B4 – Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	130
APÊNDICE B5 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 30 dias de cultivo.	131
APÊNDICE B6 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 60 dias de cultivo.	131
APÊNDICE B7 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 90 dias de cultivo.	131
APÊNDICE B8 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	132
APÊNDICE B9 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 30 dias de cultivo.	132
APÊNDICE B10 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 60 dias de cultivo.	132
APÊNDICE B11 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 90 dias de cultivo.	133
APÊNDICE B12 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	133
APÊNDICE B13 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 30 dias de cultivo.	133

APÊNDICE B14 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 60 dias de cultivo.	134
APÊNDICE B15 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 90 dias de cultivo.	134
APÊNDICE B16 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	134
APÊNDICE B17 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 30 dias de cultivo.	135
APÊNDICE B18 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 60 dias de cultivo.	135
APÊNDICE B19 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 90 dias de cultivo.	135
APÊNDICE B20 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	136
APÊNDICE B21 – Resumo da análise de variância para a relação entre a massa seca da parte aérea e do sistema radicial de mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	136
APÊNDICE B22 – Resumo da análise de variância para o comprimento total das raízes das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	136
APÊNDICE B23 – Resumo da análise de variância para a área superficial das raízes das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	137
APÊNDICE B24 – Resumo da análise de variância para o volume total das raízes das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	137
APÊNDICE B25 – Resumo da análise de variância para o número de extremidades das raízes das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	137
APÊNDICE B26 – Resumo da análise de variância para o índice de qualidade de Dickson das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.	138
APÊNDICE B27 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.	138

APÊNDICE B28 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.	138
APÊNDICE B29 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.	138
APÊNDICE B30 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.	139
APÊNDICE B31 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.	139
APÊNDICE B32 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.	139
APÊNDICE B33 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.	139
APÊNDICE B34 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.	139
APÊNDICE B35 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.	140
APÊNDICE B36 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.	140
APÊNDICE B37 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.	140
APÊNDICE B38 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.	140
APÊNDICE B39 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.	140
APÊNDICE B40 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.	141
APÊNDICE B41 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.	141
APÊNDICE B42 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.	141
APÊNDICE B43 – Resumo da análise de variância para clorofila <i>a</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.	141
APÊNDICE B44 – Resumo da análise de variância para clorofila <i>a</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.	141

APÊNDICE B45 – Resumo da análise de variância para clorofila <i>a</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.	142
APÊNDICE B46 – Resumo da análise de variância para clorofila <i>a</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.	142
APÊNDICE B47 – Resumo da análise de variância para clorofila <i>b</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.	142
APÊNDICE B48 – Resumo da análise de variância para clorofila <i>b</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.	142
APÊNDICE B49 – Resumo da análise de variância para clorofila <i>b</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.	142
APÊNDICE B50 – Resumo da análise de variância para clorofila <i>b</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.	143
APÊNDICE B51 – Resumo da análise de variância para clorofila total das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.	143
APÊNDICE B52 – Resumo da análise de variância para clorofila total das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.	143
APÊNDICE B53 – Resumo da análise de variância para clorofila total das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.	143
APÊNDICE B54 – Resumo da análise de variância para clorofila total das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.	143
APÊNDICE B55 – Resumo da análise de variância para relação entre clorofila <i>a</i> e clorofila <i>b</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.....	144
APÊNDICE B56 – Resumo da análise de variância para relação entre clorofila <i>a</i> e clorofila <i>b</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.....	144
APÊNDICE B57 – Resumo da análise de variância para relação entre clorofila <i>a</i> e clorofila <i>b</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.....	144
APÊNDICE B58 – Resumo da análise de variância para relação entre clorofila <i>a</i> e clorofila <i>b</i> das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.....	144
APÊNDICE C1 – Minijardim clonal de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.) estabelecido em sistema fechado de cultivo sem solo, composto por uma telha de fibrocimento de 6 mm de espessura, suspensa em cavaletes de ferro. Detalhe das minicepas de 14 diferentes clones, oriundas do cultivo in vitro de embrião zigótico (clones 06SM17, 06SM15 e 06SM12), da estaquia de brotos epicórmicos de árvores adultas (clones 10SM07, 13SMU05, 13SMU01 e 13SMI62) e da estaquia de mudas seminais (clones 14SMC02, 14SMC03, 15SMI04, 15SMI02, 15MA05, 15MA07 e 15MA03), das quais foram coletadas brotações para a confecção das miniestacas de erva-mate.....	145

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
1.1 OBJETIVO GERAL.....	24
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
2 REVISÃO DE LITERATURA	26
2.1 DESCRIÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ERVA-MATE	26
2.2 IMPORTÂNCIA SOCIAL E ECONÔMICA DA ERVA-MATE	30
2.3 PROPAGAÇÃO DE ERVA-MATE	33
2.4 ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO.....	34
2.4.1 Genética	37
2.4.2 Tamanho dos propágulos vegetativos	37
2.4.3 Fitohormônios e fitorreguladores	38
2.4.4 Compostos fenólicos	41
2.4.5 Carboidratos	42
2.5 QUALIDADE DE MUDAS	43
2.5.1 Substratos	44
2.5.2 Sombreamento	47
3 ARTIGO I	
ANATOMICAL CHARACTERIZATION OF THE ADVENTITIOUS ROOTS OF MATE (<i>ILEX PARAGUARIENSIS</i> A. ST.-HIL.) MINI-CUTTINGS	49
4 ARTIGO II	
EFFECT OF MINI-CUTTING SIZE ON ADVENTITIOUS ROOTING AND MORPHOPHYSIOLOGICAL QUALITY OF <i>ILEX PARAGUARIENSIS</i> PLANTLETS	66
5. ARTIGO III	
HOW DO CLONAL PLANTLETS OF MATE RESPOND TO DIFFERENT SUBSTRATE COMPOSITIONS AND SHADING LEVELS?	81
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	100
REFERÊNCIAS	102
APÊNDICES	118

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.), pertencente a família Aquifoliaceae, é uma espécie arbórea, cujas folhas são frequentemente produzidas e consumidas nos países da América do Sul, como a Argentina, o Paraguai e o Brasil. No Brasil, especialmente na região Sul, suas folhas são utilizadas para o preparo do chimarrão (infusão de água quente em fragmentos de folha e talos moídos), o qual apresenta relevante importância cultural, devido à ser a bebida símbolo de diversos municípios e Estados, como do Rio Grande do Sul (Lei nº 11.929) (RIO GRANDE DO SUL, 2003). Além disso, as folhas da erva-mate também apresentam usos gastronômicos e, principalmente, medicinais, gerando emprego e renda em aproximadamente 180 mil propriedades rurais, sendo a maioria de pequenos produtores, congregando cerca de 600 empresas e 700 mil empregos no Brasil (CHECHI et al., 2017). Ademais, é uma espécie que desempenha um papel importante na conservação da Mata Atlântica (DOMINGUES et al., 2019).

Nas últimas décadas, se observa uma reduzida disponibilidade de matéria-prima de qualidade (SILVEIRA; SCHULTZ, 2019) e crescimento da demanda por produtos florestais não madeiros, como as folhas de erva-mate; o que tem direcionado a área de silvicultura a desenvolver e aperfeiçoar técnicas que maximizem a produtividade das áreas de cultivo (XAVIER; SILVA, 2010). Este novo cenário demanda, entre outros fatores, à produção de mudas com qualidade para atender aos plantios comerciais (SILVA et al., 2007). No entanto, esta espécie possui alguns problemas silviculturais, já que as suas sementes são oriundas de ervais nativos ou plantados, sem nenhum critério de seleção, além de apresentarem germinação baixa, irregular e lenta, com graus de dormência (MIRESKI et al., 2019) e baixa qualidade fisiológica das sementes (CUQUEL et al., 1994), as quais podem apresentar um alto índice de contaminação por fungos, dentre eles do gênero *Fusarium* (SOUZA et al., 2019), resultando na produção de mudas com reduzida qualidade morfofisiológica, implicando em ervais com inferior produtividade comercial (SANTIN et al., 2008).

Os problemas silviculturais que ocorrem com a produção de mudas seminais de erva-mate podem ser minimizados, ou até resolvidos por meio da obtenção de mudas via propagação vegetativa de indivíduos geneticamente superiores (WENDLING, 2004), através da técnica da miniestaquia (WENDLING; SANTIN, 2015). A miniestaquia é um aprimoramento da convencional técnica de estaquia, apresentando variações na metodologia para a otimização do enraizamento, pois utiliza propágulos rejuvenescidos, bem como da qualidade da muda clonal (JESUS et al., 2020). Entretanto, as porcentagens de enraizamento adventício das miniestacas

de erva-mate ainda são baixas (BRONDANI et al., 2008) e variável de acordo com o material genético propagado, sendo que as taxas rizogênicas variaram de 2,5 a 63,4% em quatro clones de erva-mate estudados (PIMENTEL et al., 2019). Diversos autores relatam que estas diferenças na facilidade de enraizamento de determinados materiais genéticos em detrimento dos demais, pode ser associada à utilização do tamanho ideal das miniestacas, à ausência de uma barreira anatômica, bem como a quantidade de compostos fenólicos e amido nos propágulos vegetativos (LI et al., 2009; PIJUT et al., 2011; HARTMANN et al., 2011), porém estudos avaliando a influência desses aspectos na rizogênese desta espécie ainda são escassos, o que torna a técnica de miniestaquia ainda experimental, não sendo utilizada para a produção de mudas de erva-mate em escala comercial (WENDLING, 2004; DIAS et al., 2012; WENDLING; SANTIN, 2015).

Atualmente, sabe-se que mudas clonais produzidas por miniestaquia apresentam maior produtividade de erva-mate comercial quando comparadas as plantas produzidas por sementes, aos 5 anos após o plantio (SANTIN et al., 2015), o que pode estar relacionado a qualidade do sistema radicial das plantas propagadas vegetativamente ser diferenciada das mudas seminais, apresentando-se mais fasciculado e, portanto, mais superficial (OLIVEIRA et al., 2001). Assim especificidades na produção de mudas, como composições de substratos, tipos e tamanhos de recipientes, manejo de sombreamento, frequência de irrigações e adubações, podem ocorrer em mudas clonais. No entanto, na literatura há apenas conhecimento à respeito do recipiente ideal para a produção de mudas clonais de erva-mate com satisfatória qualidade morfofisiológica (PIMENTEL et al., 2017), sendo necessárias informações referente ao efeito da composição de substratos e dos níveis de sombreamento na qualidade da muda de erva-mate produzida por miniestaquia.

1.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo objetivou caracterizar anatomicamente as raízes adventícias de miniestacas e determinar a qualidade das mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.) produzidas por miniestaquia.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

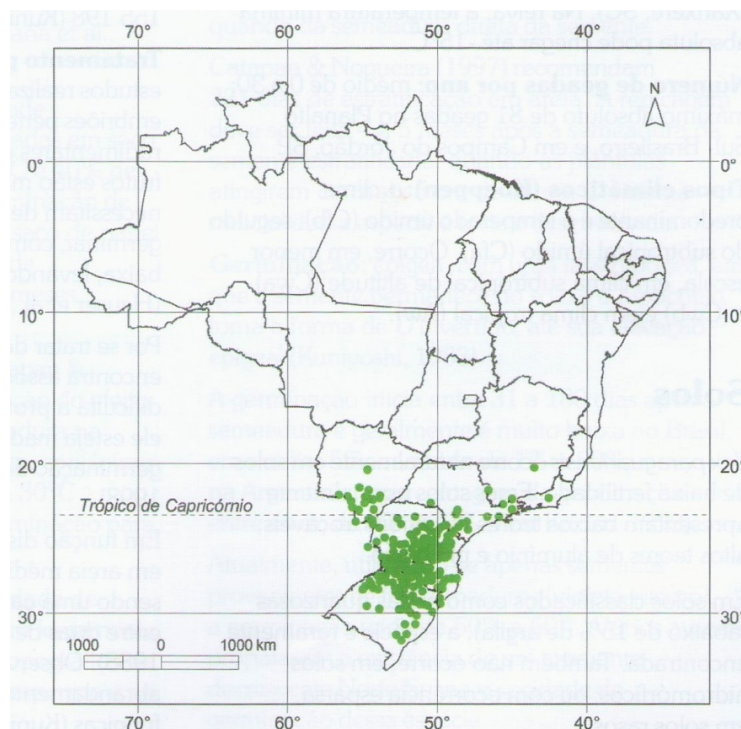
- i) Caracterizar anatomicamente as raízes adventícias, a presença de compostos fenólicos e amido nas miniestacas e sua relação com a competência ao enraizamento adventício de clones de erva-mate tratados ou não com ácido indolbutírico (AIB);
- ii) Avaliar as mudanças anatômicas que ocorrem em raízes adventícias formadas em miniestacas de erva-mate tratadas ou não com AIB;
- iii) Determinar o efeito do tamanho das miniestacas quanto a competência ao enraizamento adventício e na qualidade morfofisiológica das mudas de erva-mate oriundas da miniestaquia;
- iv) Avaliar o efeito da composição de substrato e dos níveis de sombreamento na qualidade morfofisiológica das mudas de clones de erva-mate produzidos por miniestaquia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DESCRIÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ERVA-MATE

O gênero *Ilex*, pertencente a família Aquifoliaceae, apresenta 58 espécies (GROPPO, 2015), dentre as quais a erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.), a qual possui seis cultivares registradas no Brasil (BRS 408, BRS 409, BRS BLS Aupaba, BRS BLD Yari, CAMBONA 4, SCSBRS Caa rari) (BRASIL, 2020). A área de ocorrência natural desta espécie totaliza aproximadamente, 450.000 km² no território brasileiro (ZAMPIER, 2001), englobando os estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, sul da Bahia, Minas Gerais, São Paulo até Rio Grande do Sul (Figura 1). É uma espécie umbrófila e seletiva higrófila (CARVALHO, 2003), que ocorre naturalmente no interior das matas de pinhais dos três estados sulinos (LORENZI, 2008).

Figura 1 – Locais de ocorrência natural da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.) no Brasil.

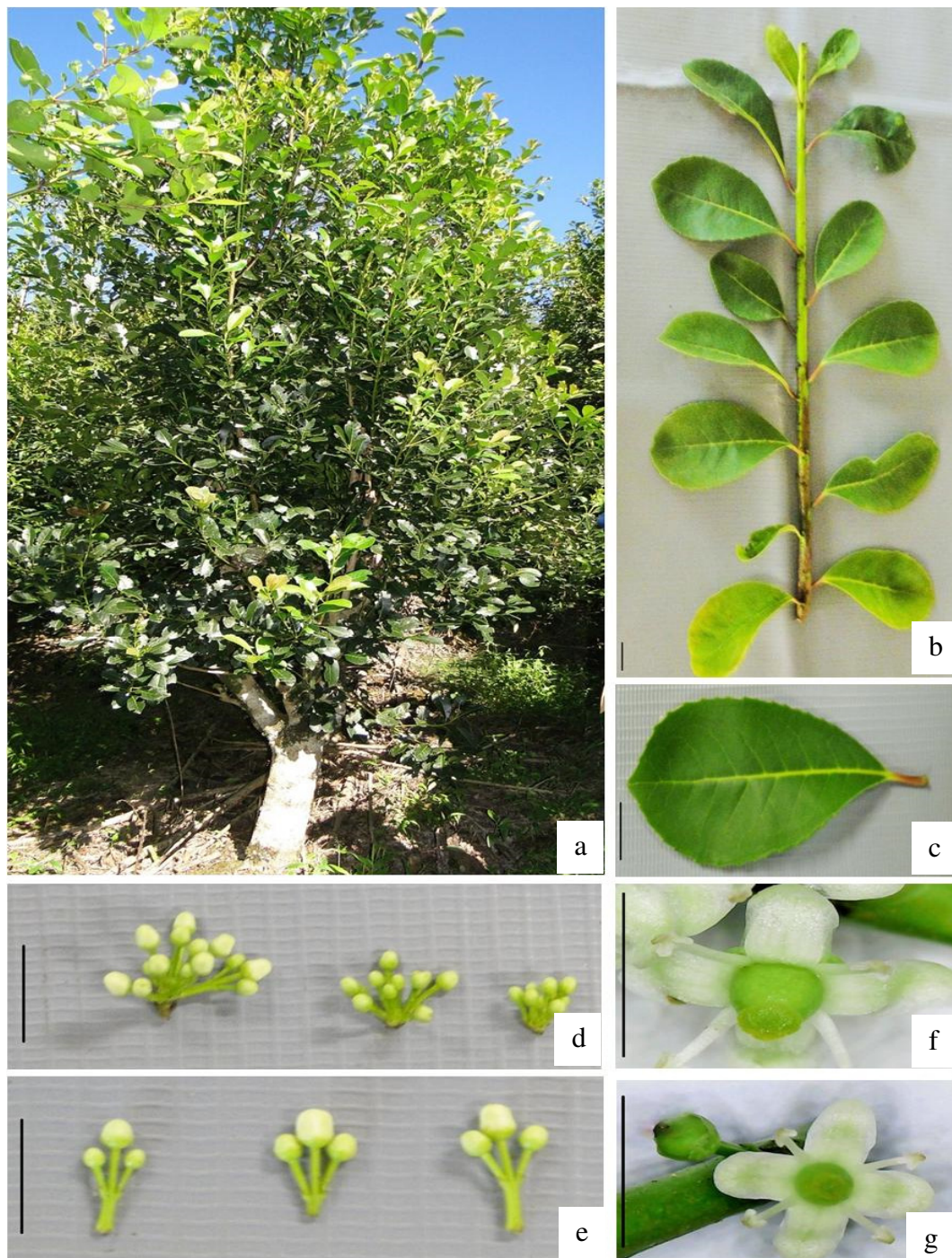


Fonte: CARVALHO, 2003.

Esta espécie apresenta porte arbustivo a arbóreo, com altura variável de acordo com a idade e tipo de sítio, podendo crescer a uma altura de oito a quinze metros (BRACESCO et al., 2011), sendo que quando manejadas possuem em torno de sete metros de altura

(MAZUCHOWSKI, 1991) (Figura 2a). Assim, destaca-se que a denominação “erva”, empregada para plantas arbustivas não lenhosas, é utilizada popularmente e não corresponde à descrição da erva-mate, já que esta é uma espécie lenhosa com porte relativamente desenvolvido (Figura 2a) (MACCARI JUNIOR, 2005).

Figura 2 – Árvore (a), folhas simples alternas (b), ovaladas e com margens dentadas (c), inflorescência pistilada (feminina) (d) e estaminada (masculina) (e), detalhe das flores (f, g) de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.). Barra =1 cm.



Fonte: Autor.

O diâmetro à altura do peito da erva-mate é geralmente pequeno, com média de 50 cm (BACKES; IRGANG, 2002), podendo atingir até 100 cm quando em condições de mata nativa (CARVALHO, 2003). Apresenta tronco cilíndrico, reto ou pouco tortuoso, com casca externa de coloração cinza-claro a acastanhada, persistente, áspera a rugosa, e interna com textura arenosa e cor branco-amarelada (CARVALHO, 2003; IVANCHECHEN, 1988). A madeira é leve, pouco compacta e de baixa durabilidade natural, a qual pode ser utilizada para caixotaria e lenha (LORENZI, 2008). Possui ramificação racemosa (CARVALHO, 2003), com copa baixa e densifoliada (CANSIAN, 2003). Os ramos são cilíndricos ou subcilíndricos e os terminais são densamente lenticelados (CANSIAN, 2003).

A erva-mate apresenta folhas simples, alternas, perenes, coriáceas (Figura 2b), de coloração verde-escura na superfície adaxial e mais clara na superfície abaxial (CARVALHO, 2003), ovaladas (GOETZ, 2013), margens dentadas e ápices obtusos (Figura 2c), com a base em forma de cunha (BRACESCO et al., 2011). Possuem 8 a 10 cm de comprimento por 3 a 4 cm de largura, sustentadas por pecíolo de 7 a 10 mm (LORENZI, 2008). É uma espécie dióica, sendo suas inflorescências diferenciadas conforme o sexo. A inflorescência pistilada (feminina) acontece em fascículos pedunculados múltiplos (Figura 2d) com uma flor pedicelada trazendo ovário súpero e anteras menores, modificadas e estéreis, sem produção de pólen. As inflorescências estaminadas (masculinas) ocorrem em fascículos pedunculados, nos quais são formados três botões florais por pedúnculo (Figura 2e), com gineceu contendo ovário estéril, abortado, com aspecto rudimentar, sem estilete e estigma, enquanto o androceu possui anteras maiores, perfeitas e férteis (PIRES et al., 2014).

A inflorescência da erva-mate apresenta variabilidade de fases fenológicas dependendo da região e dos indivíduos (SOUSA et al., 2003). A floração da espécie ocorre geralmente de setembro a novembro no estado do Paraná; de setembro a outubro no Rio Grande do Sul e de setembro a dezembro em Santa Catarina (BRITO et al., 2019), porém em novembro, mais de 50% das plantas já estão floridas no estado de Santa Catarina (PIRES et al., 2014). As flores desta espécie são tetrâmeras, pediceladas, com gamossépalo contendo quatro sépalas de coloração verde clara e uma corola com quatro pétalas de coloração branca, com quatro estames alternipétalos (PIRES et al., 2014) (Figuras 2f e 2g). As flores podem ser agrupadas em grupos de 1-15, as quais surgem nas axilas das folhas (BRACESCO et al., 2011).

Os frutos amadurecem no período de janeiro a março (HEUSER, 1990), podendo a fase de maturação ser estendida até maio (PIRES et al., 2014), sendo composto por uma baga dupla globular muito pequena, medindo de 6 a 8 mm de comprimento, tetralocular, tetraspérmico, com mesocarpo carnoso e endocarpo lenhoso (HEUSER, 1990). Apresentam coloração verde

quando jovem, passando a vermelho-arroxeadado quando maduro, contendo de quatro a cinco sementes pequenas por fruto (BACKES; IRGANG, 2002; BRACESCO et al., 2011). No entanto, em árvores de erva-mate, como na maioria das espécies nativas do sul do Brasil, a maturação dos frutos não é homogênea, o que se constitui em uma dificuldade para a colheita das sementes em quantidade e qualidade necessárias (ZANON, 1988).

As sementes de erva-mate são pequenas (4 a 6 mm de diâmetro), apresentando superfície lisa, coloração marrom que varia de claro a escuro, tegumento duro e formato variável (MARIATH et al., 1995). São envoltas externamente por um endocarpo lenhoso, constituindo o pireno, abaixo do endocarpo há uma camada de esclereídeos e um parênquima formado por células de paredes delgadas; o embrião localizado na região micropilar do endosperma pode ser classificado nos estágios de desenvolvimento globular, cordiforme, torpedo e cotiledonar (HEUSER, 1990).

Em ambientes naturais, as sementes possuem dispersão zoocórica, especialmente ornitocórica (LORENZI, 2008) e não apresentam boas condições para germinar, sendo que mesmo em condições ótimas foram observadas apenas 1% de sementes germinadas aos 150 dias e 30% de sementes consideradas com potencial de germinação aos 210 dias (MIRESKI et al., 2019). Esta baixa taxa de germinação das sementes ocorre devido aos embriões ainda estarem em fase inicial de desenvolvimento, apresentando-se em estágio cordiforme (FERREIRA; HU, 1989), mesmo quando o fruto já está maduro. Além disso, pesquisas apontam que a dormência das sementes de erva-mate também está associada à consistência do endocarpo e impermeabilidade do seu revestimento, fatores extrínsecos que dificultam a germinação (ALMEIDA et al., 2000). No entanto, sabe-se que estudos destinados a elucidar as principais causas e mecanismos de dormência presentes nas sementes desta espécie são de grande importância, porém, escassos (MIRESKI et al., 2019).

Diante deste contexto, até os dias atuais, os viveiristas comumente utilizam a estratificação das sementes de erva-mate em areia úmida por períodos de 4 a 6 meses (SOUZA et al., 2019) para a superação da dormência das sementes. No entanto, neste processo há alta concentração de sementes em ambiente úmido, o que favorece o desenvolvimento e a transmissão de patógenos. Poletto et al. (2015) relata casos em que a contaminação ocorreu em 100% das sementes no momento da sementeira. Além disso, as mudas obtidas através destas sementes podem não apresentar sintomas e estar contaminadas, vindo a contaminar áreas e solos livre dos patógenos e, conseqüentemente, levar à perdas futuras nos ervais.

2.2 IMPORTÂNCIA SOCIAL E ECONÔMICA DA ERVA-MATE

As folhas da erva-mate são consideradas produto de origem florestal não madeirável (BERTÉ et al., 2011), utilizadas, principalmente, para a fabricação de chás e bebidas (COELHO et al., 2002), como o tradicional chimarrão. Em torno de um a dois litros desta bebida é consumida diariamente por muitas pessoas nos países sul-americanos, resultando em um consumo médio de erva-mate processada de 6 a 8 kg/pessoa/ano no Uruguai, 5 kg/pessoa/ano na Argentina (BRASCESCO et al., 2011) e 0,5 kg/pessoa/ano no Brasil, sendo o consumo *per capita* brasileiro inferior devido a possuir, em geral, apenas três estados com população que ingere esta bebida (BRASCESCO et al., 2011).

O chimarrão permite uma extração contínua dos compostos bioativos das folhas secas de erva-mate (BRASCESCO et al., 2011), como cafeína, alcalóides de purina, vitaminas A, do complexo B, C, E e polifenóis, entre eles o ácido clorogênico, taninos, saponinas (MARTINET et al., 2001; BASTOS et al., 2007; HECK; DE MEJIA, 2007; MENINI et al., 2007) e flavonóides (GUGLIUCCI; BASTOS, 2009). Estas substâncias permitem o seu uso, tanto como fonte energética quanto como agente terapêutico (BRASCESCO et al., 2011), na eliminação de radicais livres, absorção da glicose (PRZYGODDA et al., 2010), estimulação do gasto de energia, sendo coadjuvante na redução de peso (ZAPATA et al., 2020) e tratamento da obesidade (KANG et al., 2012; ANTUNES et al., 2017), redução do teor de colesterol LDL e aumento do HDL (MORAIS et al., 2009), aumento das defesas antioxidantes (MATSUMOTO et al., 2009), ação anti-inflamatória (LUZ et al., 2016), prevenção de doenças cardiovasculares (CARDOZO JUNIOR; MORAND, 2016; CAHUÊ et al., 2019), entre outras.

Na última década, os múltiplos usos terapêuticos e nutracêuticos das folhas de erva-mate têm aumentado a utilização desta matéria-prima para a industrialização de um número significativo de novos produtos, como alimentos (chocolate, farimate, sorvete); bebidas (absinto, bebida hidroeletrólítica, cerveja, espumante, chás solúveis, bebida energética, chá-mate); cosméticos (creme hidratante corporal e facial, desodorante colônia, fluído termoprotetor, gloss labial, loção de limpeza demaquilante, shampoo e condicionador de cabelos); produtos de higiene e limpeza (água de cheiro para tecidos, aromatizador de ambiente, espuma de banho e de barbear, loção pós-sol, sabonete em barra e líquido, sal de banho, velas), produtos para saúde (erva-mate em cápsulas e florais) e outros (corante de tecidos) (DALLABRIDA et al., 2016) (Tabela 1).

Tabela 1 – Produtos que utilizam como matéria-prima folhas de erva-mate no processo de industrialização.

Categoria	Produto (s)	Uso / características
Alimentos	Chocolate	Chocolate com erva-mate e cacau
Alimentos	Farimate	Farinha de trigo c/ erva-mate
Alimentos	Sorvete de erva-mate	Alimento gelado, sorvete
Bebidas	Absinto	Bebida com teor alcoólico
Bebidas	Bebida hidroeletrólítica	Bebida para atletas
Bebidas	Cerveja à base de erva-mate	Bebida com teor alcoólico
Bebidas	Espumante de erva-mate	Bebida gaseificada c/ de erva-mate
Bebidas	Chás solúveis em pó	Para preparo de sucos e bebidas
Bebidas	Destilado	Bebida destiladas c/ álcool
Bebidas	Drink Energético	Bebida energética c/ erva-mate
Bebidas	Mate expresso tostado e natural	Bebida para consumo como chá
Bebidas	Mate verde instantâneo	Bebida p/ uso como chá
Bebidas	Suco com erva-mate	Sucos
Cosméticos	Creme hidratante corporal	Previnem o envelhecimento da pele
Cosméticos	Creme hidratante facial	Ação revitalizante e tônus da pele
Cosméticos	Desodorante colônia	Desodorante corporal
Cosméticos	Fluído termoprotetor	Protetor de fio de cabelo
Cosméticos	Gloss labial	Uso nos lábios
Cosméticos	Loção p/ limpeza demaquilante	Limpar, renovar as peles
Cosméticos	Shampoo fortalecedor	Shampoo capilar
Cosméticos	Condicionador de cabelos	Condicionador capilar
Higiene e limpeza	Água de cheiro	Para perfumar roupa
Higiene e limpeza	Aromatizador de ambiente	Para perfumar ambientes
Higiene e limpeza	Espuma de banho	Limpeza e hidratação da pele
Higiene e limpeza	Espuma de barbear	Para barbear
Higiene e limpeza	Loção pós-sol	Para a pele
Higiene e limpeza	Sabonete em barra e líquido	Corporal e limpeza em geral
Higiene e limpeza	Sal de banho	Relaxantes e antiestresse
Higiene e limpeza	Vela aromática / de massagem	P/ perfumar ambientes, tonificante e hidratante p/ o corpo
Saúde	Erva-mate em cápsulas	Diminuição do colesterol e funcionamento do intestino
Saúde	Florais	Uso interno
Outros usos	Corante natural verde oliva	Tingimento de tecidos

Fonte: Dallabrida et al. (2016).

O mercado de erva-mate vem crescendo e ganhando importância nos países e estados produtores, com os múltiplos usos alternativos que vem surgindo (SILVEIRA; SCHULTZ, 2019), passando por diversas mudanças nas técnicas de industrialização aplicadas ao processo

produtivo (RIGO et al., 2014). Neste novo cenário, a Argentina destaca-se como o país com maior área colhida de erva-mate (HECK; DE MEJIA, 2007), cultivando cerca de 165 mil hectares por ano, o que possibilitou a exportação de alta quantidade de matéria-prima (31.030 toneladas), totalizando US\$ 80.622.000 em 2017 (Tabela 2) (FAO, 2019).

Tabela 2 – Área colhida, produção total, produtividade, quantidade e valor de exportação e importação de erva-mate em forma de chá e de extratos, nos países da Argentina, Brasil e Paraguai, no ano de 2017.

País	Argentina	Brasil	Paraguai
Área colhida (hectares)	165.327	75.662	20.650
Produção total (toneladas)	290.950	619.003	105.005
Produtividade (Kg/ha)	1.762,0	8.176,5	5.085,0
Quantidade Exportação (toneladas)	31.030	33.625	1.220
Valor Exportação (US\$)	80.622.000	78.831.000	3.297.000
Quantidade Importação (toneladas)	230	254	38
Valor Importação (US\$)	955.000	309.000	120.000

Fonte: FAO, 2019.

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de erva-mate (BONFANTI JUNIOR et al., 2018) devido a sua produção por área ser uma das mais elevadas mundialmente (8.176,5 Kg/ha), totalizando aproximadamente 619 mil toneladas, seguida por 290 mil toneladas na Argentina e de 105 mil toneladas no Paraguai em 2017 (FAO, 2019). O país também pode ser considerado grande exportador desta matéria-prima, somando 33 mil toneladas exportadas anualmente (FAO, 2019) (Tabela 2), das quais, grande parte é destinada ao mercado inter-regional, principalmente com o Uruguai (VASCONCELLOS, 2012). O restante da produção brasileira é exportada para outros países como Chile, Japão, Estados Unidos, Alemanha e Síria (MENDES, 2005), os quais utilizam a erva-mate principalmente para a produção do chá mate, que é comercialmente embalado em sacos individuais ou concentrado para uso como alimento ou ingrediente nas indústrias de suplementos alimentares (HECK; DE MEJIA, 2007).

Além de realizar um grande volume de exportações, desde 1991, o Brasil é considerado um expressivo importador de erva-mate, totalizando 254 toneladas importadas no ano de 2017 (FAO, 2019) (Tabela 2), devido às relações comerciais estabelecidas com o Uruguai, Chile, Espanha e, principalmente, com a Argentina, fornecedor de grande parte da erva-mate cancheada consumida no Brasil (VASCONCELLOS, 2012). Diante deste panorama mundial,

os produtores têm buscado a implantação e/ou renovação dos ervais, com o intuito de obter matéria-prima para as indústrias e, conseqüentemente, atender o mercado interno e externo.

2.3 PROPAGAÇÃO DE ERVA-MATE

A implantação de ervais demanda a produção de mudas de erva-mate com quantidade e qualidade adequada (SILVA et al., 2007). No Brasil, a produção de mudas desta espécie é comumente realizada por sementes (WENDLING, 2004), devido às vantagens associadas a este tipo de multiplicação, tais como facilidade de produção e maior domínio da tecnologia pelos produtores (WENDLING; SANTIN, 2015). Além disso, a propagação seminal envolve menores custos de produção, já que requer estruturas mais baratas do que as necessárias na propagação vegetativa, bem como, não carece o uso de fitorreguladores (WENDLING; SANTIN, 2015), que apresentam altos valores de comercialização.

No entanto, muitas são as desvantagens do uso da reprodução sexuada para a produção de mudas de erva-mate para fins comerciais, tais como a baixa qualidade genética e fisiológica das sementes (CUQUEL et al., 1994), resultado da seleção apenas para o genitor feminino e, conseqüentemente, da relação genética de meios-irmãos das plantas (PIMENTEL et al., 2019), dormência e necessidade de estratificação das sementes, germinação demorada (STURION, 1988; CUQUEL et al., 1994) e longo período necessário para a produção de mudas (STURION, 1988). Além de acarretar em interferências diretas no desenvolvimento dos plantios, como crescimento desuniforme e baixa produtividade e qualidade da erva-mate comercial, resultando em um produto industrializado com reduzido valor agregado e de difícil comercialização (SANTIN et al., 2015). Estes problemas podem ser minimizados ou até solucionados através da obtenção de mudas por propagação vegetativa de indivíduos geneticamente superiores (WENDLING; SANTIN, 2015).

A propagação vegetativa permite a fixação de genótipos selecionados, minimizando a variabilidade genética, o que proporciona inúmeros benefícios ao setor florestal, principalmente pela formação de plantios clonais mais produtivos, aliado à melhoria da qualidade dos produtos (BANDEIRA et al., 2007; XAVIER et al., 2009). Técnicas de propagação vegetativa para a erva-mate, como a estaquia, começaram a ser desenvolvidas desde a década de 1930 (PRAT KRIKUN, 1995). Diversos estudos têm sido realizados com esta técnica, visando à obtenção de protocolos eficientes para a espécie (IRITANI; SOARES, 1981; HIGA, 1982; GRAÇA et al., 1988; BRONDANI et al., 2009; BITENCOURT et al., 2009; FABIANE et al., 2010; WENDLING et al., 2013; WENDLING et al., 2016; OLIVEIRA; DORIGON, 2016; STUEPP

et al., 2017; DUARTE et al., 2019; NASCIMENTO et al., 2019). No entanto, baixos índices de enraizamento adventício, limitações quanto ao rejuvenescimento de material adulto, desenvolvimento de técnicas de manejo do ambiente de propagação e manejo das estacas pós-enraizamento, comprometem o uso da estaquia para a produção massal de mudas de erva-mate (WENDLING; SANTIN, 2015).

Visando contornar tais limitações da estaquia e buscando facilitar o melhoramento genético da espécie (STURION; REZENDE, 1997), em meados do ano de 2003, pesquisadores iniciaram estudos para implementar a miniestaquia na erva-mate (WENDLING; SOUZA JUNIOR, 2003). Esta técnica de propagação vegetativa encontra-se bem desenvolvida para determinadas espécies florestais, tais como o gênero *Eucalyptus*, e consiste na utilização de brotações de mudas propagadas pelo método de estaquia ou de mudas produzidas por sementes como fonte de propágulos vegetativos (DIAS et al., 2012; XAVIER et al., 2009).

Posteriormente, diversas outras pesquisas foram realizadas com a finalidade de avaliar a sobrevivência de miniestacas e minicepas cultivadas em sistema semi-hidropônico (WENDLING et al., 2007a) e em minijardim seminal tipo ‘canaletão’ em estrutura de fibra de vidro (GAZZANA et al., 2019), soluções nutritivas para crescimento das minicepas (WENDLING; DUTRA, 2008), o enraizamento de miniestacas sob diferentes ambientes (BRONDANI et al., 2008), a influência de diferentes substratos renováveis no enraizamento de miniestacas (KRATZ et al., 2015), o efeito de épocas do ano (SÁ et al., 2018; PIMENTEL et al., 2019), de clones e do tratamento com ácido indolbutírico no enraizamento de miniestacas (PIMENTEL et al., 2019), bem como o crescimento de plantas de erva-mate produzidas por miniestaquia (SANTIN et al., 2015).

Apesar de diversas pesquisas terem sido realizadas avaliando a viabilidade da técnica de miniestaquia, esta não é utilizada para a produção de mudas de erva-mate em escala comercial, devido a uma série de fatores, entre eles a escassez de conhecimentos referentes aos aspectos que influenciam no enraizamento adventício desta espécie (WENDLING, 2004; DIAS et al., 2012; WENDLING; SANTIN, 2015) e a carência de informações sobre a qualidade e produtividade de erva-mate em plantio estabelecido com mudas propagadas por miniestaquia (SANTIN et al., 2015).

2.4 ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO

O enraizamento adventício é uma resposta multifatorial complexa que leva a formação de novas raízes na base dos propágulos vegetativos e ao estabelecimento de uma planta

autônoma (COSTA et al., 2013), desempenhando um papel ecológico importante e sendo um processo crítico na propagação clonal de espécies florestais (DRUEGE et al., 2019). Basicamente, o processo rizogênico pode ser dividido em três fases: a) indução, é a fase em que ocorre a reprogramação inicial da célula, desprovida de alterações celulares, com apenas modificações moleculares e bioquímicas (DRUEGE et al., 2019); b) iniciação, multiplicação celular e estabelecimento dos meristemas com surgimento dos primórdios radiculares; e c) expressão, fase em que há emergência e crescimento dos primórdios radiculares formados previamente (HARTMANN et al., 2011; GOULART et al., 2014). Obviamente, como o enraizamento é um processo assíncrono, essas etapas podem se sobrepor temporalmente em propágulos vegetativos em que a rizogênese esteja ocorrendo (GOULART et al., 2014).

Raízes adventícias compartilham algumas similaridades com raízes laterais, porém estudos têm elucidado as principais diferenças entre estes dois tipos radiculares (BELLINI et al., 2014; VERSTRAETEN et al., 2014). As raízes laterais se originam a partir de células do periciclo de raízes existentes, como raízes primárias e raízes laterais com maior idade cronológica (BELLINI et al., 2014). Já as raízes adventícias podem surgir naturalmente do tecido do caule sob condições ambientais estressantes ou ser induzidas por danos mecânicos (LI et al., 2009). Há pelo menos dois caminhos pelos quais as raízes adventícias podem ser formadas, denominados de organogênese direta e indireta.

Frequentemente, os tecidos envolvidos no processo de desenvolvimento das raízes são o câmbio e os tecidos vasculares, que sofrem as primeiras divisões mitóticas, levando diretamente a formação dos primórdios da raiz através da organogênese direta. No padrão indireto do enraizamento adventício, embora os mesmos tecidos geralmente participem, ocorre a proliferação do tecido calogênico do qual emergem os primórdios radiculares (HARTMANN et al., 2011; COSTA et al., 2013).

Na organogênese indireta é observado o estabelecimento de conexão vascular entre os primórdios da raiz recém-formada e o propágulo vegetativo, sendo esta, frequentemente, frágil, induzindo a formação de raízes não funcionais, que podem levar à morte da planta (FLECK et al., 2009; LI et al., 2009). Devido a isso, deseja-se que a conexão vascular tenha origem direta no câmbio vascular, o que resulta na funcionalidade da nova raiz (BRONDANI, 2012). No entanto, em algumas espécies consideradas de difícil enraizamento, a iniciação do desenvolvimento radicial somente acontece com a proliferação de calos (STRZELECKA, 2007), como observado em estacas da cultivar ‘Galega’ de oliveira (*Olea europaea* L.), nas quais as células parenquimatosas do calo de cicatrização originam os campos morfogênicos das

raízes (PEIXE et al., 2007), e em estacas de cootamundra (*Acacia baileyana* F. Muell), em que os primórdios radiciais são iniciados perifericamente nos calos (SCHWARZ et al., 1999).

A dificuldade de enraizamento adventício de algumas espécies, principalmente florestais e frutíferas, também pode ocorrer devido à presença de um cilindro lignificado no esclerênquima, formando uma camada externa ao floema primário, impedindo a formação e o desenvolvimento do sistema radicial (BEAKBANE, 1961; MEDRADO et al., 1995; ELBASHEER; ELKALIFA, 2010). A presença desta barreira anatômica que impede o enraizamento adventício foi observada em estacas de corymbia (*Corymbia torelliana* F. Muell.) e de eucalipto (*Eucalyptus camadulensis* Dehnh.) (BRYANT; TRUEMAN, 2015), bem como em estacas de espécies nativas do Brasil, como cancorosa (*Maytenus muelleri* Schwacke) (LIMA et al., 2011) e caliandra (*Calliandra tweedii* Benth. Brenan) (MAYER et al., 2008). De maneira semelhante, em azevinho, espécie florestal do gênero *Ilex*, não foram observadas lacunas visíveis no esclerênquima que possibilitassem a penetração das raízes iniciais (EDWARDS; THOMAS, 1980).

No entanto, a interferência deste cilindro lignificado no enraizamento adventício foi questionado por Sachs et al. (1964), Goodin (1965) e Darus (1990), afirmando que a dificuldade de enraizamento não pode ser explicada estritamente com base em uma barreira mecânica. Goodin (1995) sugere que há também um envolvimento químico no enraizamento adventício, já que em algumas espécies não é possível verificar relação entre a densidade dos tecidos esclerenquimatosos e a facilidade ou dificuldade do enraizamento adventício (SACHS et al., 1964). Já em outras espécies ou cultivares, esses tecidos estão ausentes ou presentes como uma camada não contínua, permitindo a passagem e o desenvolvimento do sistema radicial formado (SACHS et al., 1964; DARUS, 1990). Essa descontinuidade da camada esclerificada foi observada na análise anatômica realizada em estacas de acácia egípcia (*Acacia nilotica* L. Willd. ex Delile.) (ELBASHEER; ELKALIFA, 2010).

O enraizamento adventício é controlado por um complexo conjunto de fatores endógenos (ZHAO et al., 1991; ASSIS et al., 2004; POP et al., 2011) que incluem as características genéticas do material a ser propagado, o tipo e o tamanho do propágulo vegetativo, o conteúdo endógeno e exógeno de fitohormônios ou fitorreguladores, a presença de compostos fenólicos e de carboidratos, entre outros (ZHAO et al., 1991; ASSIS et al., 2004; LI et al., 2009; PIJUT et al., 2011; HARTMANN et al., 2011; DRUEGE et al., 2019).

2.4.1 Genética

Há variações entre e dentro das espécies quanto à capacidade rizogênica (XAVIER et al., 2009). Esse fato ocorre devido ao enraizamento adventício ser geneticamente dependente da capacidade das células sofrerem desdiferenciação, o que pode ser controlado pela expressão gênica (BADILLA et al., 2017). A interferência genética no enraizamento adventício dos propágulos vegetativos foi comprovada em estudos com estacas de 31 genótipos de murta de limão (*Backhousia citriodora* F. Muell) que apresentaram porcentagem de enraizamento variando de 0 a 100% (KIBBLER et al., 2004), bem como na estaquia de araucaria (*Araucaria angustifolia* Bertol. Kuntze), cujas taxas rizogênicas variaram de 3,33% a 38,33%, conforme o clone propagado (MAGGIONI et al., 2018).

Estudos com estacas de erva-mate também mostraram alta variabilidade genética para o enraizamento adventício, indicando variações na capacidade rizogênica entre progênies e entre indivíduos dentro das progênies (CORREA, 1995). Esta influência genética também foi observada em miniestacas de quatro clones de erva-mate, os quais apresentaram taxas de enraizamento adventício variando de 8,1% a 63,4%, aos 60 dias de cultivo em ambiente de enraizamento (PIMENTEL et al., 2019).

Devido as diferenças na potencialidade de uma espécie ou cultivar em formar raízes, Fachinello et al. (2005) sugeriram uma classificação destas em fácil, média ou difícil enraizamento, ainda que a facilidade de iniciar o desenvolvimento do sistema radicial seja resultante da interação de diversos fatores e não apenas do potencial genético. Esta dificuldade de algumas espécies ou cultivares pode ser controlada por locus de características quantitativas (QTLs) (MARQUES et al., 1999; MARQUES et al., 2002), pela alta expressão de genes repressores da sinalização de auxina (TOPLESS e IAA12) e ARR1 (envolvido na rota da citocinina), pela composição química dos diferentes materiais genéticos (BAUER et al., 1999), como os níveis de peróxido de hidrogênio (ZHANG et al., 2019), entre outros.

2.4.2 Tamanho dos propágulos vegetativos

O tamanho dos propágulos vegetativos é um fator muito importante envolvido na competência ao enraizamento e desenvolvimento da muda (FOSTER et al., 2000; VIGL; REWALD, 2014). Esta relação poderá ocorrer devido ao tamanho da estaca influenciar na taxa de transporte de auxinas (FRIML; PALME, 2002), sendo que propágulos menores geralmente apresentam baixos níveis de auxinas endógenas, o que leva à redução da competência

rizogênica ou à ausência do enraizamento adventício (PALANISAMY; KUMAR, 1997). Além disso, o tamanho dos propágulos vegetativos também afeta diretamente a quantidade de carboidratos (PONTES FILHO et al., 2014) e de fotoassimilados, os quais são considerados indutores da rizogênese (HARTMANN et al., 2011).

De maneira geral, os propágulos vegetativos com maior comprimento apresentam melhor sobrevivência e desenvolvimento do sistema radicial (HANNERZ et al., 1999; VIGL; REWALD, 2014). No entanto, o efeito do tamanho das estacas no enraizamento adventício é conflitante (OUYANG et al., 2015) e dependente da espécie vegetal propagada (NICOLOSO et al., 2001). Propágulos vegetativos maiores apresentaram as melhores respostas rizogênicas na propagação vegetativa de picea (*Picea abies* L. Karst.) (OUYANG et al., 2015), híbrido de eucalipto (*Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden x *E. urophylla* S. T. Blake) (NAIDU; JONES, 2009), cidró (*Aloysia triphylla* L. Hér. Britton) (PAULUS et al., 2014) e acácia (*Acacia mearnsii* De Wildman) (ENGEL et al., 2019), apresentando comprimento ideal de 9 a 12 cm (OUYANG et al., 2015), 8 a 10 cm (NAIDU; JONES, 2009), 10 cm (PAULUS et al., 2014) e 14 cm (ENGEL et al., 2019), respectivamente.

Já o uso de propágulos vegetativos menores mostrou-se viável para a propagação de estacas de pfaffia (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen) (NICOLOSO et al., 2001), pitaya (*Hylocereus undatus* Haw. Britton & Rose) (BASTOS et al., 2006) e de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel) (OLIVEIRA et al., 2008), permitindo a confecção de um maior número de propágulos vegetativos por ramo (NICOLOSO et al., 2001). Assim, de maneira geral, a definição do comprimento ideal do propágulo vegetativo deve ser feita com base na facilidade de enraizamento da espécie, no padrão de muda desejada, e de acordo com a infra-estrutura física, técnica, pessoal e orçamentária (DIAS et al., 2012).

2.4.3 Fitohormônios e fitorreguladores

Fitohormônios, também conhecidos como hormônios vegetais, são um grupo de substâncias orgânicas de ocorrência natural nas plantas e que regulam os processos de crescimento e desenvolvimento e as respostas aos estresses ambientais das plantas (ZHANG et al., 2019). Entre os fitohormônios vegetais mais conhecidos e de interesse na propagação de plantas, destacam-se as auxinas, as giberelinas, as citocininas, o etileno e o ácido abscísico. Em certas condições, algumas dessas substâncias, principalmente auxinas, são aplicadas exogenamente nos propágulos vegetativos, sendo denominadas de fitorreguladores (XAVIER et al., 2009).

As auxinas são um grupo de derivados do triptofano (WOODWARD; BARTEL, 2005), formadas, principalmente, em folhas jovens e regiões de crescimento ativo (KRAJNC et al., 2013), sendo posteriormente transportadas para outros tecidos, por mecanismo polar especial, com a finalidade de coordenar o crescimento e facilitar as respostas às variações ambientais (POP et al., 2011; KRAJNC et al., 2013). Elas estão intimamente envolvidas no processo de enraizamento adventício (POP et al., 2011), sendo que altos níveis de auxina e baixos de citocinina induzem o processo rizogênico nos propágulos vegetativos (BOLLMARK et al., 1988; DE KLERK et al., 1999; KUROHA et al., 2002).

A concentração ótima de auxina para uma das três fases do enraizamento adventício pode ser supra-ótima ou sub-ótima para a próxima etapa (POP et al., 2011). Isso ocorre devido aos estágios fisiológicos do processo rizogênico estarem correlacionados com alterações nas concentrações de auxina (HELOIR et al., 1996), sendo que cada etapa apresenta diferentes requisitos deste fitohormônio (DE KLERK et al., 1999; POP et al., 2011). A fase de indução do sistema radicial apresenta exigência de maiores concentrações de auxina, enquanto a fase de iniciação é inibida pelo alto nível deste fitohormônio (COSTA et al., 2013).

Em algumas espécies, classificadas como de fácil enraizamento, a acumulação natural das auxinas é suficiente para promover o processo rizogênico (COSTA et al., 2013). No entanto, em outras espécies ou cultivares que apresentam maiores dificuldades de iniciar a formação do sistema radicial, é necessário o tratamento com auxinas. As auxinas entram através do corte realizado na confecção dos propágulos vegetativos (KENNEY et al., 1969), são rapidamente absorvidas pelas células por captura de pH (RUBERY; SHELDRAKE, 1973) e por transportadores de influxo (DELBARRE et al., 1996), atingindo um pico máximo (GATINEAU et al., 1997), que também coincide com o início do processo rizogênico. No entanto, deve-se tomar cuidado quanto às concentrações de auxina utilizadas nos tratamentos dos propágulos vegetativos, devido ao excesso também ser considerado prejudicial, de forma que ocorra fitotoxicidade nas células e, conseqüentemente, a morte das mesmas (JUNGLOS et al., 2013).

O ácido indolacético (AIA) foi a primeira auxina utilizada exogenamente para estimular o enraizamento de propágulos vegetativos (COOPER, 1935), seguido da descoberta do ácido indolbutírico (AIB). Sabe-se que a cadeia lateral na posição 3 no anel indol do AIB possui quatro carbonos, ao contrário da cadeia lateral de dois carbonos do AIA, resultando em uma molécula que provavelmente é incapaz de adotar uma conformação para ligação com o co-receptor TIR1-Aux / AIA (UZUNOVA et al., 2016), o que é confirmado com a evidência genética de que a atividade do AIB ocorre através de sua conversão para AIA (STRADER; BARTEL, 2011), sendo considerado fonte de liberação lenta de AIA (LUDWIG-MULLER et

al., 2005). Além disso, o AIB é considerado mais efetivo que as demais auxinas na indução do enraizamento adventício de diversas espécies, devido a apresentar maior estabilidade à fotodegradação (LUDWIG-MULLER et al., 2005).

Sendo assim, o AIB é considerado o fitorregulador mais utilizado comercialmente para o tratamento dos propágulos vegetativos (DIAS et al., 2012; TRUEMAN; ADKINS, 2013; FRICK; STRADER, 2018). Estudos com miniestacas de acácia (*Acacia mearnsii* De Wildeman) (ENGEL et al., 2017), estacas de paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex. Ducke) (DIAS et al., 2015), de louro (*Laurus nobilis* L.) (AMARAL et al., 2013) e de umbucajazeira (*Spondias* sp.) (VÉRAS et al., 2018) reportam que a aplicação exógena de AIB teve um efeito positivo no enraizamento adventício das mesmas.

As concentrações ótimas para o tratamento com AIB variam muito entre as espécies vegetais (XAVIER et al., 2009), sendo necessário estabelecer a faixa ideal de acordo com cada situação de manejo no viveiro e tipo de material genético (BRONDANI et al., 2014). Algumas espécies florestais não necessitam do tratamento com auxina para estimular a rizogênese nos propágulos vegetativos, como jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) (MOURA et al., 2019), teca (*Tectona grandis* Linn F.) (CARVALHO et al., 2019) e ipê-roxo (*Handroanthus heptaphyllus* Vell. Mattos) (RODRIGUES et al., 2017). Doses entre 1000 e 2000 mg L⁻¹ de AIB são sugeridas na miniestaquia de eucalipto (*Eucalyptus benthamii* Maiden et Cabbage) (BRONDANI et al., 2014), estaquia de corticeira do banhado (*Erythrina crista-galli* L.) (GRATIERI-SOSSELLA et al., 2008) e de extremosa (*Langerstroemia indica* L. Pers) (LIMA et al., 2016).

Para a erva-mate sabe-se que concentrações entre 5000 e 8000 mg L⁻¹ de AIB proporcionaram as maiores porcentagens de enraizamento de estacas em brotações do ano de árvores adultas e de mudas (GRAÇA et al., 1988), os quais são materiais com maior idade ontogênica e poderão apresentar menor capacidade rizogênica. Entretanto, na técnica de miniestaquia, a qual utiliza propágulos rejuvenescidos, recomenda-se o uso de AIB nas concentrações entre 0 e 3000 mg L⁻¹, variando em função do clone (WENDLING; SANTIN, 2015). Para quatro clones de erva-mate estudados por Pimentel et al. (2019) o tratamento com AIB não foi necessário para o enraizamento adventício. Esses resultados indicam que as diferenças entre genótipos de erva-mate quanto à competência ao enraizamento dependem, entre outros fatores, das concentrações de auxinas ou até mesmo da não necessidade de aplicação desta auxina, o que reduz os custos e facilita a produção de mudas por miniestaquia. Assim, estas diferenças entre os materiais genéticos requerem avaliações e ajustes da concentração para cada clone que será multiplicado.

2.4.4 Compostos fenólicos

As plantas, quando cultivadas em condições adequadas, produzem várias substâncias, denominadas de metabólitos secundários, os quais, em sua maioria, são de natureza fenólica (HARTMANN et al., 2011). Os compostos fenólicos são amplamente conhecidos pela grande importância para o sistema solo-planta, também relacionados ao estresse metabólico, parede celular, exsudato de raízes e sementes (CASTRO et al., 2004) e com o processo rizogênico dos propágulos vegetativos, sendo a relação com o enraizamento adventício ainda pouco esclarecida (XAVIER et al., 2009).

Os resultados até então obtidos indicam que alguns compostos fenólicos, como p-difenóis, odifenóis, catecol, ácido gálico, ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido caólico, epicatequina, flavonóides e cumarinas (BANDURSKI et al., 1995; KRAJNC et al., 2013), estimulam a formação de raízes adventícias (DE KLERK et al., 1999), por inibirem o sistema AIA-oxidase, reduzirem a oxidação e degradação de AIA e consequentemente aumentar os níveis de auxina ativa (DE KLERK et al., 2011; STEFFENS; RASMUSSEN, 2016). O efeito positivo desta classe de compostos fenólicos no enraizamento adventício foi evidenciado por Tarragó et al. (2005) em estacas de erva-mate, demonstrando um aumento na porcentagem de enraizamento e uma melhoria na distribuição das raízes quando tratadas com flavonóides, especialmente a quercetina. O enraizamento de estacas de oliveira (*Olea europaea* L.) também foi potencializado na presença de ácido clorogênico e rutina (DENAXA et al., 2019).

Ao contrário, compostos fenólicos, principalmente monofenóis, como ácido salicílico, ácido cinâmico, ácido p-cumárico, ácido p-hidroxibenzóico, podem inibir o processo de enraizamento, estimulando a ativação da síntese do complexo enzimático AIA oxidase/peroxidase, a qual promove a degradação do AIA endógeno (MAYNARD; BASSUK, 1988; TROBEC et al., 2005). Em estudos com estacas de espinheira-santa (*Maytenus muelleri* Schwacke), a presença de compostos fenólicos, possivelmente do grupo dos monofenóis, interferiram negativamente na indução do enraizamento adventício (LIMA et al., 2011). Resultados semelhantes também foram verificados em microestacas de *Eucalyptus urophylla*, nas quais os compostos fenólicos podem estar relacionados à inibição do enraizamento adventício (MENDONÇA et al., 2019).

O conteúdo de compostos fenólicos pode ser diretamente influenciado pelo nível de estiolamento que os propágulos vegetativos foram expostos no decorrer do cultivo (HARTMANN et al., 2011), sendo que em condições de 70% de sombreamento houve redução

do teor de compostos fenólicos nas folhas e no caule de estacas semilenhosas de araçazeiro (*Psidium cattleyanum* Sabine) (CASAGRANDE JUNIOR et al., 1999).

2.4.5 Carboidratos

A formação de órgãos, entre eles o sistema radicular, consome energia, sendo a disponibilidade de reservas um ponto de grande relevância nesse processo. Entre essas diversas reservas, os carboidratos têm um papel importante, fornecendo a energia necessária e esqueletos de carbono para suprir a diferenciação celular e, subsequente, a diferenciação, desenvolvimento e crescimento dos primórdios radiculares e raízes funcionais (DRUEGE et al., 2000; KANMEGNE et al., 2017). Entre os carboidratos, destaca-se a sacarose, considerada uma importante substância usada como fonte direta de carbono na divisão e na multiplicação celular, ou convertida em compostos de armazenamento, como o amido, o qual é considerado a maior fonte energética para o crescimento das raízes adventícias (KRAJNC et al., 2013). Estudos com estacas de petúnia (*Petunia hybrida*) indicaram que o amido pode ser sintetizado e armazenado em diferentes tipos de células, com a finalidade de atender a demanda metabólica que ocorre na fase de iniciação, estabelecimento e emergência das raízes adventícias (AHKAMI et al., 2009).

Geralmente, propágulos vegetativos com altos teores de carboidratos, entre eles sacarose e amido, apresentam melhores porcentagens de enraizamento adventício (FACHINELLO et al., 2005; XAVIER et al., 2009; HARTMANN et al., 2011). Esta relação foi constatada em estacas de esponjinha (*Calliandra brevipes* Benth.), as quais apresentaram melhor porcentagem de enraizamento, ocasionada pela maior quantidade de amido, quando comparada à esponjinha-sangue (*Calliandra tweedii* Benth.) (MAYER et al., 2008). Da mesma forma, maior conteúdo de amido foi associado com maiores respostas rizogênicas em estacas de mirtilheiro (*Vaccinium ashei* Reade) (OLIVEIRA et al., 2012).

O consumo dos carboidratos no decorrer do processo rizogênico ficou evidenciado em estudos com estacas de teca (*Tectona grandis* Linn. F.), ocorrendo redução do conteúdo de amido à medida que progrediu o enraizamento adventício (HUSEN; PAL, 2007). De maneira semelhante, o alto nível de amido em microestacas de magnolia cultivar “Burgundy” coincidiu com o início da formação dos primórdios radiculares (WOJTANIA et al., 2018). No entanto, estes recursos energéticos também são requeridos no desenvolvimento dos meristemas de brotos, o que poderá tornar a sua produção pela fotossíntese insuficiente para a realização de ambos os processos (DRUEGE, 2009), justificando a dificuldade de enraizamento de alguns

genótipos (HARTMANN et al., 2011). A baixa quantidade de amido observada em estacas de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart.) foi associada ao insucesso do enraizamento adventício desta espécie (PIMENTA et al., 2017).

2.5 QUALIDADE DE MUDAS

A qualidade das mudas é definida como o conjunto de atributos que permite comprovar a fonte de propágulos ou sementes, o estado físico, fisiológico e fitossanitário das plantas (BRASIL, 2003), estando diretamente relacionada com a sobrevivência e o posterior desenvolvimento do povoamento florestal (FONSECA et al., 2002). Isso justifica a avaliação da qualidade das mudas ainda na fase de viveiro por meio de observações das características morfológicas e fisiológicas (FONSECA et al., 2002), unindo as atividades técnicas desenvolvidas na etapa de produção de mudas com o desempenho após o plantio (CARNEIRO, 1995).

Os parâmetros morfológicos se baseiam nos aspectos fenotípicos (GOMES et al., 2002), como a altura da parte aérea, diâmetro de colo, relação altura da parte aérea e diâmetro de colo, relação massa seca e úmida da parte aérea e do sistema radicial e índice de qualidade de Dickson (SCHMIDT-VOGT, 1966; OLIVEIRA JUNIOR et al., 2011). Essas características são as mais utilizadas na determinação do padrão de qualidade das mudas florestais, principalmente as variáveis diâmetro de colo e altura da parte aérea, por serem de fácil medição e não destrutivas (GOMES et al., 2002). A mensuração destas duas características contribuiu com 83,19% da qualidade das mudas de eucalipto (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden) (GOMES et al., 2002). No entanto, Fonseca et al. (2002) não recomendam o uso de parâmetros morfológicos isoladamente para a classificação do padrão de qualidade das mudas florestais, uma vez que a planta pode apresentar maior altura, porém possuir baixo vigor e vice-versa.

Os parâmetros fisiológicos são utilizados para avaliar os aspectos internos das plantas (GOMES et al., 2002), como o potencial hídrico, estado nutricional e os parâmetros radiciais, como número, comprimento, massa, superfície, volume e diâmetro das raízes (CARNEIRO, 1995). Mudanças com qualidade fisiológica satisfatória apresentam-se livres de doenças e pragas, sem sintomas de desequilíbrio nutricional, sistema radicial ativo e bem agregado ao substrato, sem envelhecimento e geotropismo negativo e haste única na posição mais vertical possível (XAVIER et al., 2009).

Dentre os parâmetros morfológicos ou fisiológicos, o diâmetro do caule foi o mais importante aos 12 e 24 meses de cultivo de mudas clonais de *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus*

urophylla no campo (FIGUEIREDO et al., 2019). No entanto, segundo os mesmos autores, a altura da parte aérea, o número de pares de folhas, o número de deformações radiculares e o comprimento de torrão foram as variáveis avaliadas no viveiro que se correlacionaram positivamente com o crescimento de mudas desta espécie no campo, sendo bons indicativos de satisfatório crescimento das mudas em condições de cultivo.

A qualidade das mudas florestais varia entre espécies e, para uma mesma espécie, entre sítios (CARNEIRO, 1995). Para eucalipto (*Eucalyptus* spp.) se deseja que as plantas produzidas por miniestaquia apresentem altura de 20 a 40 cm, diâmetro de colo maior que 2 mm, idade de 70 a 150 dias, no mínimo três pares de folhas, e relação entre altura da parte aérea e diâmetro do colo variando de 5,8 a 8,1, para que sejam consideradas aptas a serem utilizadas em plantios comerciais (CARNEIRO, 1995; XAVIER et al., 2009). Já para espécies florestais nativas, como a erva-mate, não há padrões de qualidade morfofisiológica considerados ideais, sendo necessária a realização de estudos com a finalidade de obter estas variáveis para as espécies da flora brasileira (LELES et al., 2006).

De maneira geral, a qualidade das mudas florestais, avaliada por meio dos parâmetros morfológicos e fisiológicos, é diretamente influenciada pelo sistema de produção das plantas, destacando-se os genótipos utilizados, o tipo e a qualidade dos substratos e o manejo de luminosidade na fase de viveiro e de rustificação (CARNEIRO, 1995; SILVA et al., 2012; CALDEIRA et al., 2008).

2.5.1 Substrato

Um dos fatores que condiciona de forma limitante os padrões de qualidade das mudas no viveiro são o tipo e a qualidade do substrato (CALDEIRA et al., 2008; WENDLING; GATO, 2012). Substrato pode ser considerado qualquer material em que as raízes se proliferam, fornecendo suporte estrutural a parte aérea e suprindo de água, nutrientes e oxigênio as mudas (CARNEIRO, 1995; WENDLING; GATO, 2012). Na escolha do substrato que será utilizado na produção das mudas florestais, devem-se observar algumas características de ordem econômica, química e física do material. O substrato ideal apresenta equilíbrio destas três ordens, ou seja, permite satisfatório crescimento e desenvolvimento das mudas utilizando componentes que sejam acessíveis financeiramente (BUTZKE et al., 2018), com grande disponibilidade e facilidade de manuseio pelos viveiristas (FONSECA, 2001).

Difícilmente, um material isolado atenderá as exigências da espécie e apresentará todas as características desejadas em um bom substrato (SANTOS et al., 2000; WENDLING; GATO,

2012). Entre os componentes orgânicos que podem ser utilizados na composição dos substratos, pode-se citar terra de subsolo, esterco bovino, casca de eucalipto ou pinus, bagaço de cana, lixo orgânico urbano, lodo de esgoto, entre outros (GONÇALVES; POGGIANI, 1996; WENDLING; GATO, 2012). Terra de subsolo e esterco bovino são os mais utilizados pelos viveiros florestais, devido ao baixo custo e facilidade de obtenção (TRAZZI et al., 2013), além de contribuírem para a melhoria das qualidades físicas da mistura de substratos, sendo que em determinadas composições podem aumentar a capacidade de retenção de água e a porosidade da mistura e fornecer os nutrientes essenciais para o desenvolvimento das mudas. Por outro lado, a utilização de solo em grandes proporções em viveiros leva à insustentabilidade, uma vez que a sua extração provoca degradação ambiental em diferentes proporções (SCHAFER et al., 2015) e o uso de esterco bovino apresenta a desvantagem de ser variável conforme o material que lhe deu origem e as técnicas empregadas em sua confecção (WENDLING; GATO, 2012).

Os componentes inorgânicos das misturas de substratos podem ser casca de arroz carbonizada, vermiculita, perlita, areia, entre outros (GONÇALVES; POGGIANI, 1996; WENDLING; GATO, 2012), destacando-se a vermiculita, a qual é amplamente utilizada para a produção de mudas florestais, com o intuito de melhorar as características físicas da mistura de substratos, especialmente, aumentar a macroporosidade (DELARMELENA et al., 2014). A vermiculita é um produto inerte, constituído de lâminas ou camadas justapostas em tetraedros de sílica e octaedros de ferro (Fe) e magnésio (Mg), que apresenta uniformidade na composição química e granulométrica, grande aeração, alta capacidade de troca catiônica e retenção de água (GOMES; PAIVA, 2006; MARTINS et al., 2009; WENDLING; GATO, 2012).

Para garantir composições de substratos com qualidade adequada ao desenvolvimento das plantas, é essencial a caracterização das propriedades físicas e químicas desse conjunto de componentes. Entre as propriedades físicas podemos citar a densidade, a porosidade, a capacidade de retenção de água e o espaço de aeração, enquanto entre as propriedades químicas, os valores de pH e capacidade de troca catiônica são de extrema importância (KÄMPF, 2000; WENDLING; GATO, 2012). Verdonck et al. (1983) afirmam que as características físicas são as de maior relevância, devido as relações ar-água não poderem sofrer mudanças durante o cultivo, enquanto os parâmetros químicos podem ser manejados pelo viveirista através da adubação das plantas (KÄMPF, 2000).

A caracterização das propriedades físicas dos substratos também pode influenciar no manejo hídrico das mudas no decorrer do processo produtivo, sendo que a frequência de irrigação das plantas pode ser estimada diretamente pela capacidade de retenção de água da composição de substratos (LOPES et al., 2007). No geral, os substratos com parâmetro físico

de baixa capacidade de retenção de água requerem maior frequência de irrigação que os de maior capacidade de retenção de água.

Todavia, as espécies florestais respondem de forma diferenciada à composição do substrato e às proporções dos seus constituintes orgânicos ou inorgânicos (MELO et al., 2014). Para a produção de mudas de paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*), a composição de substratos contendo terra preta e esterco bovino proporcionou melhores resultados de crescimento (BARBOSA et al., 2019), enquanto as mudas de eucalipto (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden) apresentaram maior qualidade morfológica quando cultivadas em mistura de substrato contendo 80% de vermiculita (CALDEIRA et al., 2013).

Alguns estudos avaliaram a qualidade de mudas seminais de erva-mate em função das composições de substrato (LOURENÇO et al., 1999; WENDLING et al., 2007b; TRAUTENMÜLLER et al., 2016; ZAVISTANOVICZ et al., 2017) e permitiram concluir que misturas com diferentes componentes, tanto orgânicos quanto inorgânicos, podem ser utilizados para a produção de mudas desta espécie (WENDLING; SANTIN, 2015). Segundo Lourenço et al. (1999), o esterco bovino pode ser utilizado como condicionador, e um terço do volume total é suficiente para a composição de substratos para produção de mudas desta espécie. Da mesma forma, a composição de 40% de esterco bovino e 60% de serragem também possibilitou a produção de mudas seminais de erva-mate com satisfatória qualidade morfofisiológica, bem como apresentou boa relação custo-benefício e facilidade de preparo (WENDLING et al., 2007b).

As respostas das espécies quanto as composições de substratos também é dependente do recipiente utilizado na produção de mudas (GASPARIN et al., 2014), já que este determina o volume de substrato disponível para o crescimento das raízes e, conseqüentemente, da parte aérea (ZACCHEU et al., 2013). Tubetes de pequenas dimensões apresentam pequeno volume de substrato, exigindo maior disponibilidade de nutrientes em sua composição e/ou aplicação de doses elevadas de adubações, devido às perdas por lixiviação, resultante da exigência de regas freqüentes das plantas cultivadas nestas condições (NEVES et al., 1990). Além disso, a produção de mudas em tubetes requer especial atenção, quanto a agregação da composição de substrato nas raízes das plantas. Se o substrato não for bem agregado, ou seja, estiver muito solto e se esfarelar com facilidade, o torrão em volta da muda se quebrará, quando a embalagem for retirada para o transporte ou o seu plantio no campo. Isto deixará as raízes das plantas expostas ao ressecamento e dificultará a pega e a sobrevivência das mudas. Se, por outro lado, o substrato for muito coeso, o torrão ficará aderido no tubete, dificultando a sua retirada e

podendo levar à ruptura de raízes, bem como, resultar em problemas no desenvolvimento do sistema radicular das mudas (WENDLING; DELGADO, 2008).

Em recipientes de grandes dimensões, que apresentam grande volume de substrato, como os sacos de polietileno com 1500 e 3000 cm³ de substrato, recomenda-se a utilização de composições de substratos com maior porosidade, pois estes apresentam menor disponibilidade de oxigênio no terço inferior caso o substrato não seja poroso o suficiente, o que prejudica a respiração, o crescimento das raízes e propicia a ocorrência de doenças no sistema radicular (LIMA et al., 2006).

2.5.2 Sombreamento

A falta de informações técnicas sobre as exigências agroclimáticas e ecofisiológicas de espécies florestais limitam a produção de mudas de qualidade, o planejamento e a otimização de viveiros (KEFFER et al., 2019). Na fase inicial de desenvolvimento das mudas, o sombreamento, realizado através do uso de telas do tipo “sombrite” pode ser um dos fatores que influenciam diretamente na qualidade das plantas produzidas (RÊGO; POSSAMAI, 2006). Este sombreamento artificial abriga o sistema radicular delicado das mudas do aquecimento excessivo do solo ou substrato (MINAMI, 1995), bem como protege a parte aérea das plantas, diminuindo a incidência de radiação solar. O uso de telas de sombreamento pode reduzir a temperatura dentro do ambiente de cultivo em até cinco graus Celsius (BRISSETE et al., 1991) e conseqüentemente diminuir a temperatura do ar e a quantidade de regas, já que a transpiração da planta e a evaporação da água na superfície do substrato é reduzida (MINAMI, 1995).

As espécies florestais apresentam diferenças nas necessidades luminosas em condições de viveiro (RÊGO; POSSAMAI, 2006), uma vez que os níveis de sombreamento causam, em geral, mudanças morfológicas e fisiológicas na planta, sendo este grau de adaptação ditado por características particulares de cada espécie em interação com seu meio (SCALON et al., 2003). Essa resposta diferenciada entre espécies foi observada em mudas de copaíba (*Copaifera langsolosffii* Desf.) (DUTRA et al., 2012) e ipê-amarelo amazônico (*Handroanthus serratifolius* Vahl S. O. Grose) (KEFFER et al., 2019) que apresentaram maior desenvolvimento e crescimento em condições de 50% de sombreamento (DUTRA et al., 2012) e 35 a 50% de sombreamento (KEFFER et al., 2019), respectivamente, enquanto mudas de cedro (*Cedrela fissilis* L.) (GOMES; FREIRE, 2019) apresentaram maior crescimento em

condições de 70% de sombreamento, evidenciado pelas maiores altura da parte aérea, diâmetros do caule e massa seca das plantas (GOMES; FREIRE, 2019).

Outras espécies florestais apresentam satisfatório crescimento em ambientes com diferentes disponibilidades luminosas, o que pode ser atribuído à capacidade de ajustar rapidamente seu comportamento fisiológico para maximizar a aquisição de recursos nesse ambiente (DIAS-FILHO, 1997). A castanha-do-maranhão (*Bombacopsis glabra* Pasq. A. Robyns) é uma dessas espécies, apresentando satisfatório desenvolvimento tanto em condições de sombreamento de 30 e 50% quanto em pleno sol (SCALON et al., 2003).

Essas diferenças nas necessidades luminosas que ocorrem entre as espécies florestais podem ser associadas às classificações ecológicas realizadas por Budowski (1965), na qual as espécies são divididas em pioneiras, secundárias iniciais, secundárias tardias ou longevas e clímax, sendo que as espécies pioneiras e secundárias iniciais são intolerantes à sombra, enquanto as secundárias tardias e clímax são tolerantes, principalmente na fase juvenil. Com base nesta classificação, a erva-mate é classificada como espécie clímax (SOUZA; LOURENZI, 2012). Essa classificação é corroborada pelos resultados de Mazuchowski et al. (2007), os quais verificaram que o sombreamento é de grande importância para a produção de mudas seminais de erva-mate, as quais quando cultivadas a pleno sol não apresentam desenvolvimento satisfatório e algumas plantas não sobrevivem (MAZUCHOWSKI et al., 2007). Maior crescimento e desenvolvimento das mudas desta espécie ocorrem em condições de 70% de sombreamento (SILVA et al., 2007). Resultado semelhante também foi observado por Poletto et al. (2010), verificando maior média tanto de diâmetro de colo quanto da biomassa radicular das mudas de erva-mate cultivadas a 84% de sombreamento. Todavia, mudas oriundas da propagação vegetativa podem responder diferentemente as condições ambientais, como o sombreamento, quando comparadas às plantas de origem seminal. Este resultado poderá ocorrer devido ao sistema radicular das mudas propagadas vegetativamente ser, na maioria das vezes, mais superficial do que aquele obtido a partir de sementes (WENDLING, 2004).

3 ARTIGO I

ANATOMICAL CHARACTERIZATION OF THE ADVENTITIOUS ROOTS OF MATE (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) MINI-CUTTINGS¹

Abstract: Leaves of mate is one of the main non-timber forest products marketed in South America, which makes establishment of new plantations of great interest. However, vegetative propagation of mate plantlets presents difficulties, which may be associated with the complexity of adventitious root formation. The aims of this study were to anatomically characterize the adventitious roots of mate-clone mini-cuttings and investigate the relationship of phenols and starch with adventitious rooting competence in mini-cuttings treated or not with indole-butyric acid (IBA). The mini-cuttings of four clones were collected at 0, 30, and 60 days of cultivation, fixed in a solution containing 1% glutaraldehyde and 4% formaldehyde, pre-infiltrated and infiltrated in (2-hydroxyethyl) methacrylate, and sectioned in a microtome. Ferric chloride and toluidine blue were used to detect phenolic compounds and lugol to identify starch. Adventitious roots formed in mini-cuttings treated with IBA presented disorganized xylem and phloem and poles irregularly but exhibited sclerenchyma vessel elements and tracheid cells indicating functionality. Differences in the rhizogenic ability of mate clones mini-cuttings were not due to the presence of anatomical barriers or the accumulation of phenolic compounds but be associated with the presence and distribution of starch grains in vegetative propagules.

Keywords: vegetative propagation; indole-butyric acid; anatomical barrier; phenolics; starch.

INTRODUCTION

Mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) is a tree that belongs to the Aquifoliaceae family which occurs naturally in Southern Brazil, Argentina, and Paraguay [1]. From 1982 to 2005, there was a constant increase in the amount of mate leaves produced in Brazil, leading to a significant decline in its selling price. This scenario has caused several mate producers to substitute their plantations for agricultural products with shorter cycles and annual rent [2]. This led to a reduction of approximately 9000 ha of area harvested with mate in Brazil and, consequently, a decrease in the supply of this raw material to industries between 2005 and 2013 [3]. However, in the last few years, new products manufactured from mate have been introduced in the market [4], which increased the appreciation of this raw material, consequently increasing the selling price [5] and the interest of producers to plant new areas with this crop.

¹Accepted for publication in the Brazilian Archives of Biology and Technology on 02/13/2020.

The establishment of new plantations requires plantlets in adequate quantities and of high genetic and morphological qualities. For this, techniques of vegetative propagation of mate has been studied since the 1930s [6] and low rates of adventitious rooting of the propagules has been a concern up to the present day. Adventitious rooting, an essential step in the vegetative propagation of cuttings of perennial plants [7], involves a strong genetic component [8], as observed in clones 10SM07, 06SM17, 06SM15 and 06SM12 of mate, whose rooting rates ranged from 2.5 to 63.4% [9]. In other forest species, we already know that this variation in the competence for adventitious rooting between clones may be associated with the complexity of the rhizogenic process, both anatomically and physiologically [10].

Anatomically, it is known that the developmental sequence of the adventitious roots is similar to that of the lateral ones. However, the lateral roots are generally derived from the pericyclic layers [11], whereas the adventitious roots are formed from several cell types [12] such as phloem [13], vascular cambium [10], pericycle [14] or callus [15]. In cuttings of adult mate plants, the cambium was considered the key element in root initiation, however, they also initiated from vascular mass formed in the calluses [16]. This makes the anatomy of the adventitious rooting process variable and still little understood [12], despite its importance when seeking to maximize rhizogenic rates.

Among the anatomical characteristics that influence the success of adventitious rooting, anatomical barriers have received much interest since the 1960s [17, 18]. The anatomical barrier is originated by the continuous sclerification of the phloem and is considered by some authors one of the main obstacles to the formation of adventitious roots in vegetative propagules [19, 20]. However, it is important to consider that this arrangement and the presence of this tissue are not characteristics common to all species. The presence of a continuous band of sclerenchyma cells without visible disruption was observed in holly, *Ilex aquifolium* L. also Aquifoliaceae [21], and in bark residues from mate tree harvests [22]. However, there are no reports in the literature on vegetative propagules of mate regarding either the presence or absence of this anatomical structure.

The formation of adventitious roots is also dependent on physiological factors, such as plant hormones (especially auxins), phenolic compounds and carbohydrates. Auxin is usually synthesized in the stem tips and young leaves and then transported to action sites [23]. In some species, the endogenous levels of auxins are not sufficient to promote rooting, necessitating supplementation of the hormonal content through the application of phytohormones [24]. In mate, studies have emphasized the need or not for the application of indole-butyric acid (IBA) in the rooting of vegetative propagules [25, 9]; however, information regarding the anatomical characterization of adventitious roots after treatment with IBA are scarce.

Similar to auxins, phenolic compounds influence rhizogenesis, but the results depend on the number of OH groups and by their position in the aromatic ring [26]. Monophenols stimulate while polyphenols

inhibit the oxidation of indole-acetic acid (IAA), respectively minimizing and maximizing the rooting of vegetative propagules [27]. Carbohydrates, especially starch, are also considered important sources for adventitious rooting, both structurally and in terms of energy [7, 28]. Vegetative propagules with high carbohydrate contents generally present better rhizogenic responses [15].

Considering the importance of vegetative propagation for the production of high quality mate plantlets in adequate quantities and taking into account that the competence of mini-cuttings for adventitious rooting depends on the genetic component and may be associated with anatomical and physiological characteristics, this study aims to anatomically characterize the adventitious roots, the presence of phenolic compounds and starch, and their relationship with adventitious rooting competence of mini-cuttings of mate clones, treated with or without indole-butyric acid (IBA).

MATERIAL AND METHODS

Plant material

Mini-stumps of mate clones 06SM17, 06SM15 and 06SM12, derived from *in vitro* germination of zygotic embryos, and clone 10SM07, derived from cuttings of epicormic shoots of an approximately 20-year-old plant [9], were established in a mini-clonal hedge in the greenhouse at the Center for Plant Improvement and Vegetative Propagation, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), in the city of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. Exsiccates of branches of mini-stumps were deposited in the Herbarium of the Department of Forest Sciences at UFSM, under number 7521.

The shoots were collected in July 2014 and mini-cuttings were produced with one bud and approximately 2.0 cm in length, and one leaf reduced to 50% of its original area. The mini-cuttings were treated or not with a hydroalcoholic solution (alcohol:water, 1: 1 v/v) of indole-butyric acid (IBA) at a concentration of 2000 mg L⁻¹ and cultivated in polystyrene trays with 128 wells, containing pine bark-based commercial substrate, vermiculite and coarse sand (1:1:1 v/v/v) and kept in a wet chamber with relative air humidity of approximately 85% provided by automated nebulization 8 times a day for 1 minute [9].

Anatomical analysis

At the beginning of the experiment (0 days) and after 30 and 60 days of cultivation in the wet chamber, three mini-cuttings of each treatment (four clones and two IBA treatments) were collected for anatomical analysis, totaling 72 mini-cuttings reviewed during the trial period. The mini-cuttings were fixed in a solution containing 1% glutaraldehyde and 4% formaldehyde in 0.1 M sodium phosphate buffer, pH 7.2 [29, 30], wash in the same buffer, wash in distilled water, and dehydrated using an ascending ethyl alcohol series (10%, 30%, 50%, and 70%) for 10 min at each concentration, followed by 90% ethyl alcohol for 15 min and 100% ethyl alcohol for another 15 min [31].

The material was pre-infiltrated in Leica® (2-hydroxyethyl) methacrylate (HEMA) and a 99.6% ethanol solution (1:1 v/v) for 12 h, followed by infiltration in HEMA for approximately 4 h and embedding in a Teflon holder until polymerization was complete [32]. The samples were sectioned at a thickness of 3 and 5 µm at the region of the stem and adventitious roots of the mini-cuttings, using a RM2245 Leica rotary microtome. The histological slides were stained with Toluidine Blue in a 0.05% sodium benzoate buffer, pH 4.4 [33], Astra Blue and Basic Fuchsin [34, 35]. Ferric chloride [36] and Toluidine Blue [37] were used to identify phenolic compounds in fresh material after hand sectioning, and the lugol solution was used to detect starch [36]. Callose was detected with aniline blue [38] and viewed with epifluorescence optics using a Zeiss™ Axio Imager A2 microscope. In addition, the callus region of the mini-cuttings was macerated [39 modified from 40] to isolate small groups and/or individual tracheal and fibrous elements.

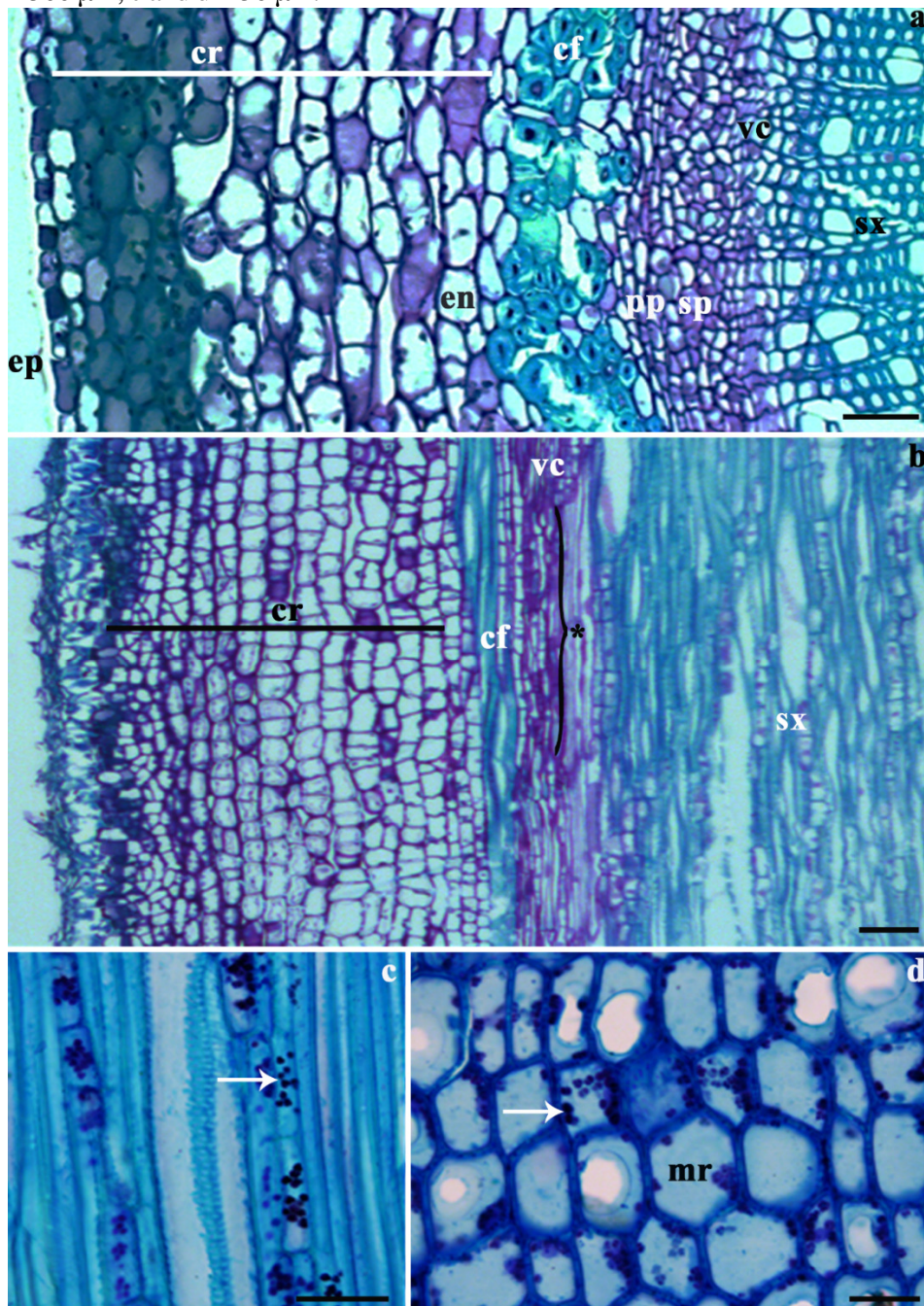
Photographic documentation and analysis in bright field and polarized light were performed using a Leica® DM 2000 microscope with DFC295 image capture system and LAZ 4.0 software. Analysis under Differential Interference Contrast (DIC) and fluorescence were performed using a Zeiss AxioImager A2 microscope equipped with a filter set to 02 (excitation G 365, beam splitter FT 395, emission LP 420), a Zeiss MCr digital capture system, and ZEN (Zeiss™) software. Adobe®Photoshop® was used to process the images.

RESULTS

Anatomy after 0 days of cultivation

The anatomical structures of the mate mini-cuttings from clones 06SM17, 06SM15, 06SM12 and 10SM07 were similar in transverse sections at the beginning of the experiment (before cultivation in wet chamber). Regardless of the clone, the mini-cuttings presented a single layered epidermis, followed by a predominantly parenchymatous cortical region (Figures 3a, 3b). In the cortical region, the outer portion was formed by chlorenchyma, whose cells were arranged compactly and presented a large amount of phenolic compounds, followed by parenchyma, whose cells presented a reduced amount of chloroplasts and little or no presence of phenolic compounds. The internal edge of the cortical region was defined by the endoderm, whose cells were arranged compactly (Figure 3a) due to non-differentiation of Caspary striae, which is common for stem endoderm. Internally to the endoderm, in the perivascular fibers, there was a continuous layer of fibers and stone cells interspersed, which presented variable thickness between one and six layers of these elements of sclerenchyma (Figures 3a, 3b). Beyond the perivascular fibers, there were regions of primary phloem, secondary phloem, vascular cambium, secondary xylem (Figure 3a), primary xylem, and medulla. The vascular cambium contained cells that individually present average 228 µm in length, besides other cytological characteristics, as a developed vacuole and a central nucleus (Fig. 3b). The parenchymatous or already sclerified medullar region presented cells with grains of starch (Figures 3c, 3d).

Figure 3. Bright field microscopy of mini-cuttings of the mate clone 10SM07 treated with 2000 mg L⁻¹ of IBA at 0 days of cultivation. (a) Transverse section, with details of the epidermis (ep), endoderm (en), and cortical region (cr) arranged compactly, continuous layer of fibers (cf), primary phloem (pp), secondary phloem (sp), vascular cambium (vc), and secondary xylem (sx). (b) Longitudinal section, with details of secondary xylem (sx), continuous layer of fibers and stone cells interspersed (cf), cortical region (cr), and the length of the vascular cambium cells (asterisk). (c) Longitudinal section, with starch grains (arrow). (d) Transverse section, detailing the medullary region (mr) with starch grains (arrow). Scale: a = 100 μ m; b = 500 μ m; c and d = 50 μ m.

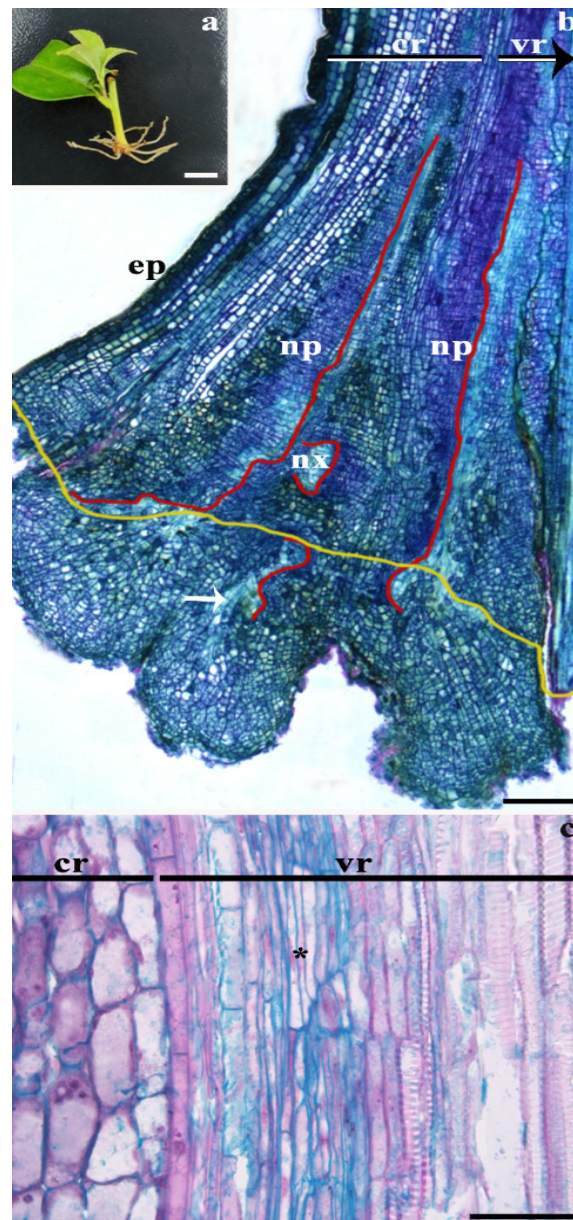


Anatomy after 30 days of cultivation

There were anatomical responses to the cultivation in the four clones studied at 30 days in the wet chamber, which were manifested at up to 4-5 mm in height in the secondary vascular tissues originating

at the base of the mini-cutting. This response was, therefore, progressive and acropetal, resulting in an increase in the diameter of the mini-cuttings in the cortical region and consequently in their conical shape (Figures 4a, 4b). Neoformed xylem and phloem, making up the tissues with calluses, correspond to vascular connections of the adventitious roots and are observed at the basal portion of the mate mini-cuttings of the four clones (Figure 4b).

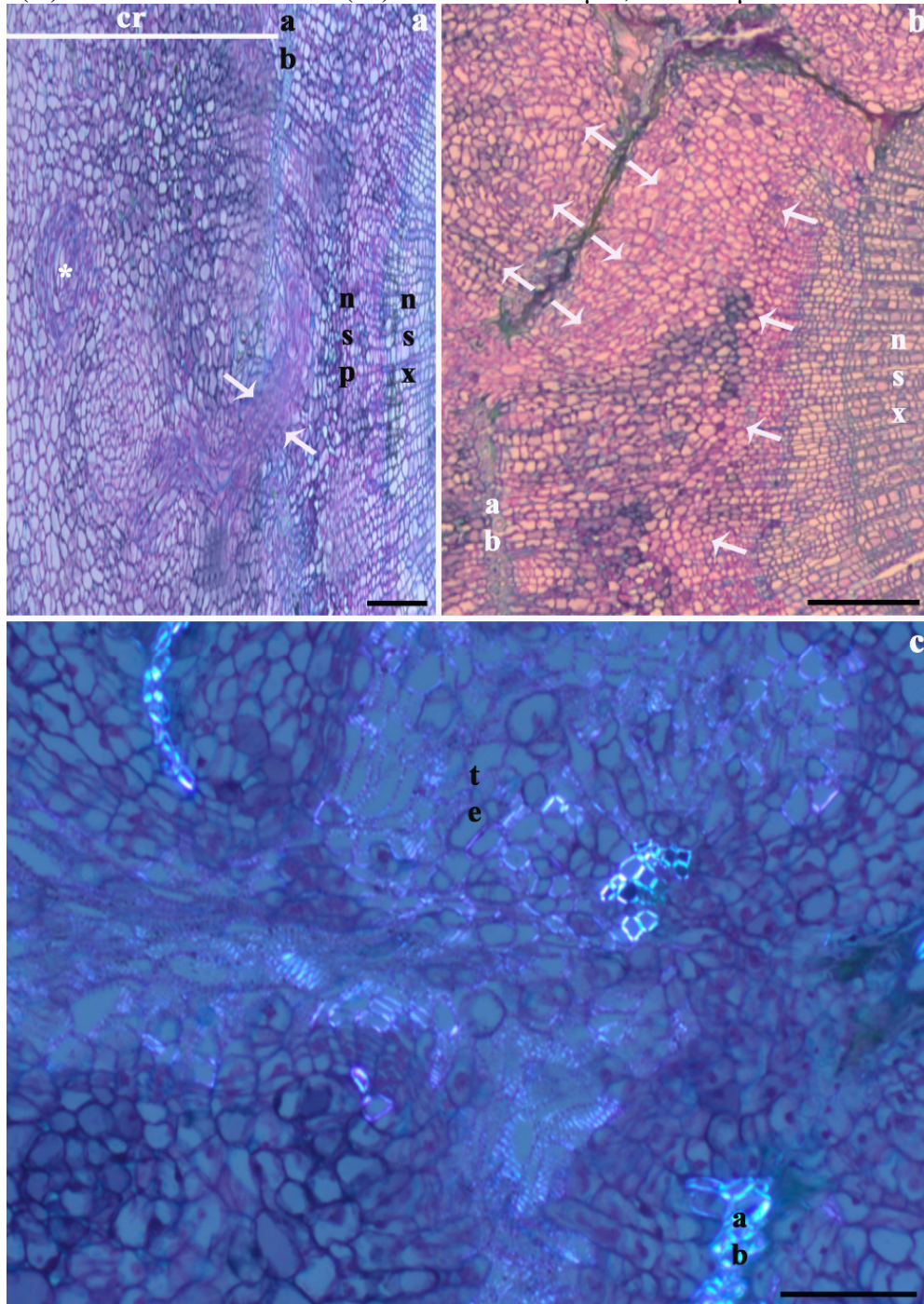
Figure 4. Rooted mini-cutting of mate clone 06SM15 not treated with IBA at 30 days of cultivation in the wet chamber. (a) Macroscopic aspects of adventitious rooting. (b) Longitudinal section of rooted mini-cutting, detailing the epidermis (ep), cortical region (cr), vascular region (vr), and new proliferated tissues (red lines), such as neoformed xylem (nx) and phloem (np) with vascular connection with the adventitious roots (white arrow) and tissues with calluses at the base of the vegetative propagule (yellow line). (c) Longitudinal section of rooted mini-cutting, detailing neoformed vascular cambium cells (asterisk). Scale: a = 5 mm; b = 500 μ m; c = 50 μ m.



In addition to the cellular proliferation, there were also alterations in the vascular cambium activity and cell structure, which after a sequence of transversal divisions presented reduction in the length of the cambial cells, ranging from 34 to 128 μm (Figure 4c). These changes in the vascular cambium resulted in a shortening of the initial neoformed xylem and phloem cells. Proliferation of parenchyma cells from the primary phloem were also observed. Parenchyma cells of the cortical region also reacted to the cultivation, by proliferation of new parenchyma tissues and conductors (Figure 5a).

The increased diameter of the mini-cuttings, resulting from the proliferation of tissues with calluses, generated the discontinuity of fiber layers, also referred to as anatomical barriers, filling the respective spaces with neoformed parenchyma tissues (Figures 5a, 5b, 5c), regardless of the clone and treatment with IBA, at 30 and 60 days of cultivation. In addition, vascular tissues were found to differentiate from the neoformed tissues of cells of the inner portion of the cortical region (Figure 5b). The origin of such vascular elements was neoformed parenchyma cells. In some samples of the 06SM17 clone, a small amount of neoformed tissue was observed outside of the anatomical barrier.

Figure 5. Transverse sections of mini-cuttings of mate clone 10SM07 not treated with IBA, in bright field (a, b) and polarized light (c) at 30 days of cultivation. (a) Cortical region (cr), neoformed secondary phloem (nsp), neoformed secondary xylem (nsx), and vascular grouping of curved cells (asterisk), arrows indicate the discontinuity of the anatomical barrier (ab). (b) Detail of the discontinuity of the anatomical barrier (ab) and the neoformed secondary xylem (nsx), arrows indicate regions of proliferation of new tissues. (c) Detail of the tracheoidal elements (te) and anatomical barrier (ab). Scale: a = 200 μm , b = 100 μm and c = 200 μm .

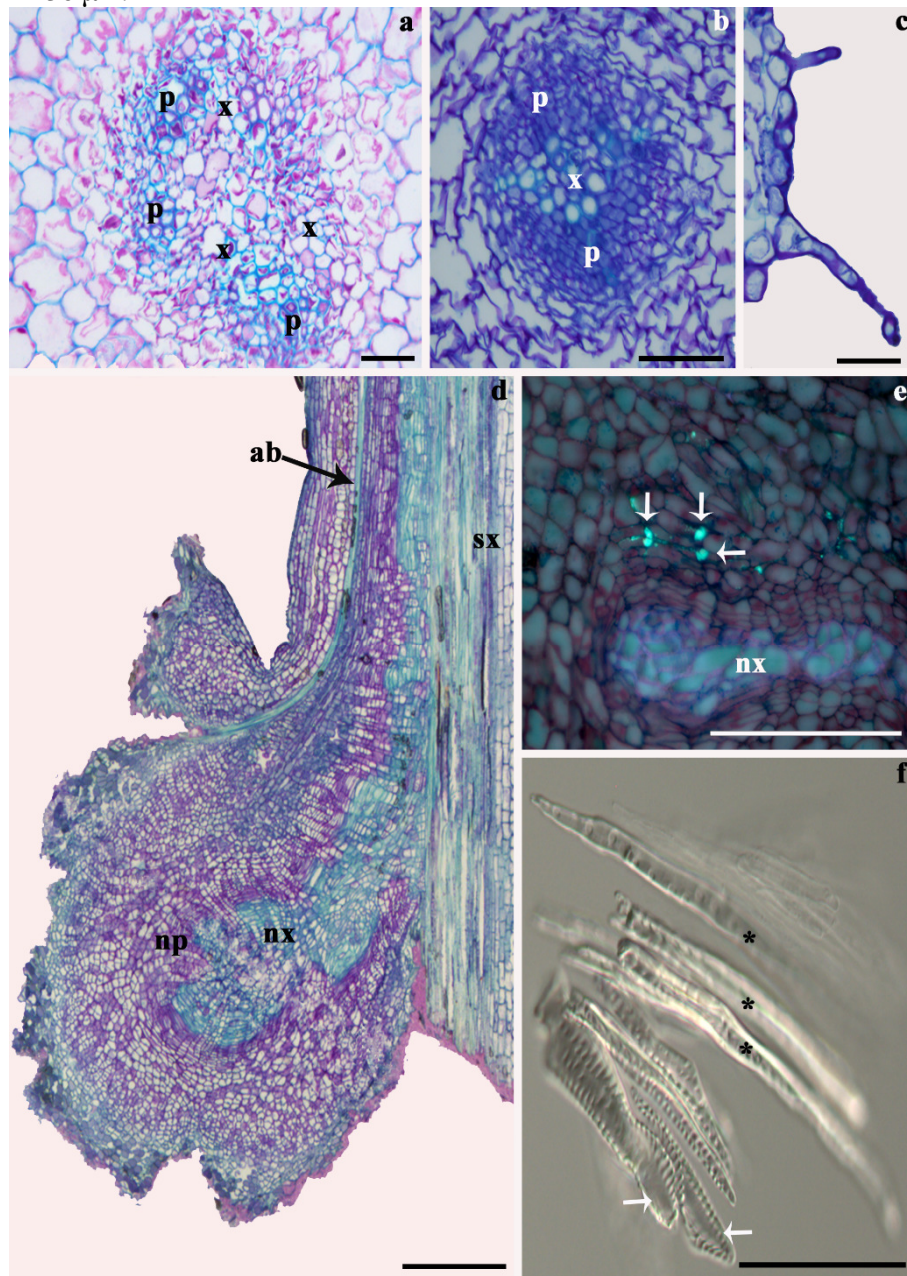


Anatomy after 60 days of cultivation

Regardless of treatment with auxin and of the clone studied, adventitious roots formed from tissues with calluses. However, it was verified that the mini-cuttings of mate treated with 2000 mg L^{-1} of IBA

presented roots with alterations in the structure of the central cylinder, mainly in relation to the disorganized xylem and phloem, which develops next to the pericycle and has its poles distributed irregularly (Figure 6a).

Figure 6. Transverse (a, b, c, e) and longitudinal (d) sections of adventitious roots formed in mini-cuttings of the mate clone 06SM15 in bright field (a, b, c, and d), fluorescence (e) and DIC (f) at 60 days of cultivation. (a) Root formed in mini-cutting treated with 2000 mg L⁻¹ of IBA, which presented xylem (x) and phloem (p) disorganized in the central cylinder. (b) Diarch adventitious root formed in the mini-cutting not treated with IBA, with organized pattern of both xylem (x) and phloem (p). (c) Detail of the root hair zone formed in mini-cutting not treated with IBA. (d) General aspect of vascular connection that vascularizes the adventitious roots. (e) Detail of the tissues with callose. Fluorescence indicates accumulation of callose in sieve plates (arrows). (f) Vessel elements present in tissues with calluses, which appear as plates of simple perforation (arrows) and fiber-tracheids (asterisk). Scale: a, b, c and e = 100 μ m; d = 500 μ m; f = 50 μ m.



In the material not treated with IBA, the central cylinder presented vascular organization similar to that expected for primary roots in angiosperms, with primary phloem strands alternating with the primary xylem strands (Figure 6b), highlighting the presence of absorptive trichomes in the root hair zone (Figure 6c). Regardless of treatment with IBA, the adventitious roots had robust connections with the main vascular tissue of mini-cuttings (Figures 4b, 6d), because they have a profuse arrangement of sclerified tissues, including vessel elements, sclerenchyma elements, and tracheoidal elements (Figure 6d), which are differentiated within calluses.

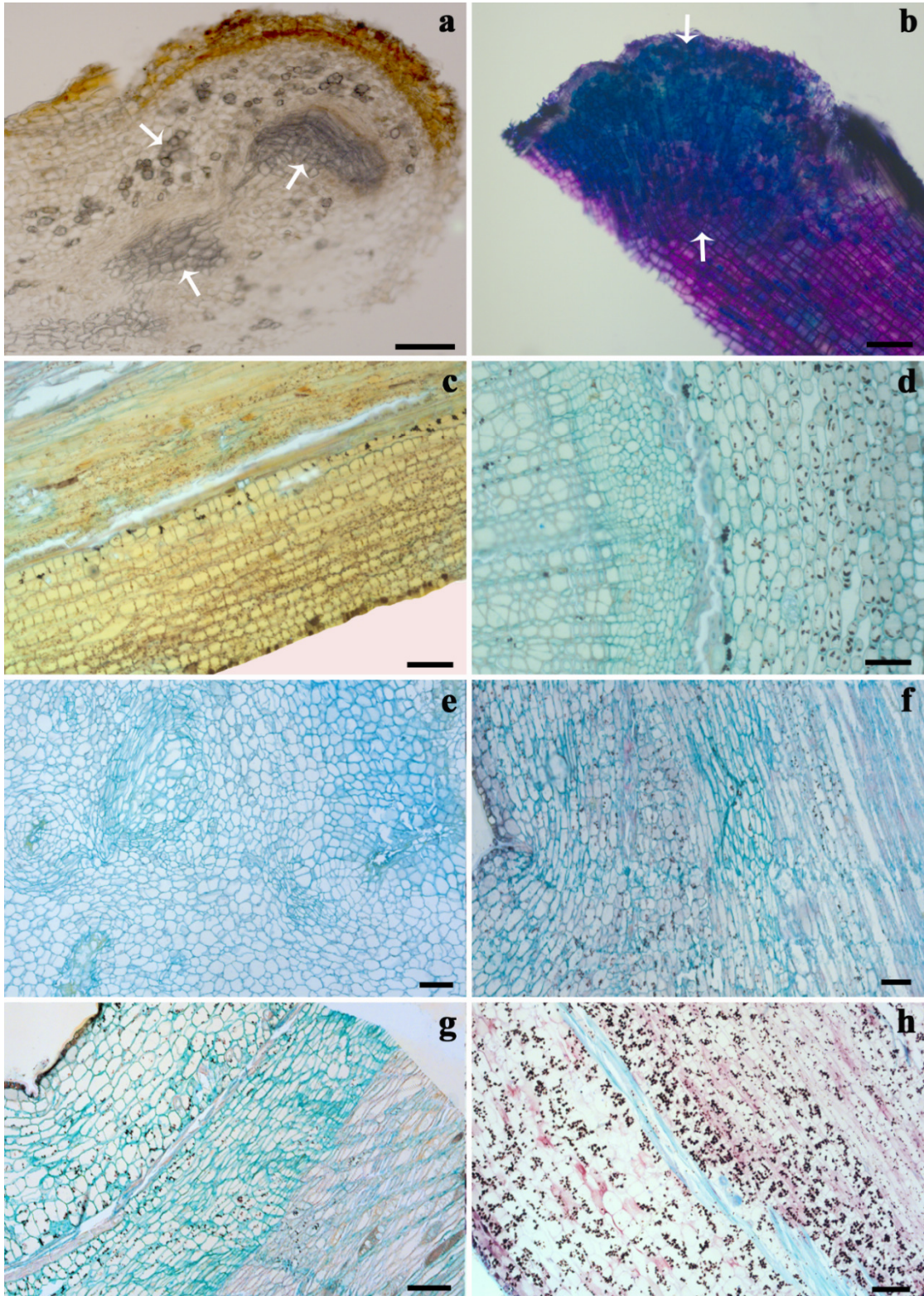
Tissues with calluses observed in mini-cuttings of mate are made up basically of vascular tissues with presence of xylematic tracheoidal elements, fiber-tracheids, vessel elements with plates of simple or scalariform perforation, and sieve-tube elements with sieve plates containing callose (Figures 6e, 6f). The neoformed vascular tissues at the periphery of the vegetative propagules presented a general spherical arrangement due to the large degree of curvature of the cells or the conducting elements (Figure 6f). Accompanying the tracheoidal elements, there are elements similar to fiber-tracheids, owing to the clear presence of bordered pits, parietal thickening and lignification, and the absence of perforation plates, besides their relatively reduced length (Figure 6f).

Phenols and starch

The test with ferric chloride solution revealed the presence of phenolic compounds in the epidermis of the mini-cuttings of the four clones of mate at the beginning of the experiment. At 60 days of cultivation in a wet chamber, the presence of these compounds was also observed in the cortex and the cells with calluses, regardless of the clone studied and treatment with IBA. It should be noted that ferric chloride, although used as a marker for non-structural phenolic compounds, did not indicate such compounds (Figure 7a), while toluidine blue also indicated compounds accumulated in the cytoplasm (not structural) (Figure 7b), when comparing to the same regions at the beginning and at 30 and 60 days of cultivation in the wet chamber.

The lugol reagent showed the presence of starch in the cortical and medullar region, in the primary and secondary xylem, including rays and endoderm of mate mini-cuttings, regardless of the clone and treatment with IBA, at the beginning of the experiment (Figures 7c, 7d). However, although quantitative analysis of starch was not performed, the microscopy analysis showed smaller amounts or absence of starch grains in the mini-cuttings of clone 10SM07 (Figures 7c, 7e, 7g) when compared to the mini-cuttings of clone 06SM15 (Figures 7d, 7f, 7h), mainly at 60 days of cultivation in the wet chamber.

Figure 7. Identification and localization of phenolic compounds and starch. (a) Ferric Chloride and (b) Toluidine Blue in longitudinal sections, hand-cut from fresh material of mate mini-cuttings of clone 10SM07 not treated with IBA, at 60 days of cultivation in a wet chamber. Detection of the starch grains using lugol solution in transverse sections of mini-cuttings of clone 10SM07 (c, e and g) and 06SM15 (d, f and h) not treated with IBA at 0 (c and d), 30 (e and f) and 60 days (g and h) of cultivation in a wet chamber. Scale: a, b, c, d and f = 50 μm ; e = 20 μm ; g and h = 100 μm .



DISCUSSION

Anatomical analysis

The anatomical analysis of mini-cuttings stems of four clones of mate showed similarities, regardless of treatment with IBA, both at the beginning and at 30 and 60 days of cultivation. This shows that the structural aspects linked to differentiation of cells and tissues and development patterns were similar among the clones studied. The anatomical characteristics observed in this study were reported in cuttings from adult plants of mate [16], as well as in other taxa of the Aquifoliaceae, such as holly [21]. Disorganization of the central cylinder was observed in the adventitious roots of mini-cuttings treated with auxins, which could be related to the capacity of this phytohormone to promote cell proliferation [15]. Similar changes were observed in the structure of the central cylinder of micro-cuttings of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil., when they were treated with 10 mg L⁻¹ of IBA [41].

In the present study, anatomical analysis of the mini-cuttings of the four clones of mate showed the presence of a discontinuous sclerenchymal barrier, due to the proliferation of tissues with calluses and the filling of these spaces with parenchymal tissue, which was not an impediment to the rhizogenic process of this species. The difficulty of vegetative propagules to form adventitious roots may be related to the anatomical structure of the primary phloem, which presents a continuous ring made up of lignified elements that mechanically block the protrusion of adventitious roots through the sclerenchyma [17]. This hypothesis was questioned and rejected by Sachs et al. [18], who observed that in cuttings of olive (*Olea europaea* L.), pear (*Pyrus* spp.) and cherry (*Prunus* spp.) there was no relation between the continuity of this ring of sclerenchyma and rooting competence, since these differences may be related to the ability of the cells that initiate the root system to expand and proliferate and, subsequently, to organize the adventitious root primordia [18]. In vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) cuttings, rupture of the sclerenchyma was also reported and was not considered a mechanical barrier to the emergence of adventitious roots [42]. In addition, the sclerenchymal tissue formed in the mini-cuttings of mate originates from the pericycle and presented a circumferential aspect, which, according to Sachs et al. [18], can only be considered an anatomical barrier if it formed a transverse plate, which has not been shown to occur during healing process.

In species or clones with a discontinuous sclerified layer, adventitious rooting may occur by direct organogenesis of the cell types established in the stem tissues, as well as by indirect organogenesis, where root formation is preceded by the proliferation of tissue with calluses following mechanical damage [15]. In the mini-cuttings of the four clones of mate, treated or not with IBA, the root system was developed in the periphery of the tissues with calluses.

Similar results were also reported in cuttings of six genotypes of *Acacia baileyana* F. Muell. treated with 0, 1000 and 5000 mg L⁻¹ of IBA, where the development of callus preceded and led to the initiation of roots in the vegetative propagules [43].

The anatomy of the rhizogenic process in mate was studied by Iritani et al. [16], who reported the occurrence of both direct and indirect organogenesis. These authors used cuttings of 40-year-old adult trees as vegetative propagules, while the present study analyzed mini-cuttings of possibly rejuvenated clones, which may explain the different responses. It is known that modifications in the source of adventitious roots may occur in the presence of auxins [41], since callus induction is dependent on the levels of this phytohormone. Vegetative propagules with a higher degree of maturation have a lower endogenous content of auxins [44], which probably resulted in decreased proliferation of the tissues with calluses in the cuttings of adult trees of mate, leading to direct rooting, which is not dependent on callus formation.

In this study, it was possible to observe the structural characteristics linked to the conducting elements in callus tissue and adventitious roots of mini-cuttings of different mate clones. Among the conducting elements observed stands out the vessel elements and sieve-tube elements, responsible for transporting water and elaborated sap, so that it probably occurred transpiration process, nutrient cycling and distribution of photoassimilates in these vegetative propagules during cultivation in the wet rooting chamber. These physiological processes occur when there is a satisfactory photosynthetic area in the vegetative propagule, among other factors [15], in this case provided by the leaf presence reduced by 50% of its original area in the mini-cuttings.

As for the anatomical characteristics of the rhizogenic process, there was an expressive vascular connection considered significant between the roots and the secondary vascular tissues, and the presence of absorptive trichomes in the adventitious roots of mini-cuttings of mate treated or not with IBA. Thus, even if the adventitious roots present changes in the central cylinder when originating from mini-cuttings treated with auxins, they present features that indicate root system functionality equal to that of propagules not treated with this auxin. Similar results were observed in roots formed in cuttings of adult trees of mate, which were also considered functional when treated with 3000 and 5000 mg L⁻¹ of IBA or IAA [16].

The functionality of adventitious roots formed in mate mini-cuttings from clones 06SM17, 06SM15, 06SM12 and 10SM07 was confirmed in studies by Pimentel et al. [45], which presented satisfactory survival and morphophysiological quality of plantlets, regardless of treatment with 0 or 2000 mg L⁻¹ of IBA during adventitious rooting. However, it should be pointed out that even though the root system formed in mini-cuttings treated with IBA presents

functionality and allows the production of plantlets with a quality similar to that of mini-cuttings not treated with auxin, use of this phytohormone is not recommended, since it does not maximize adventitious rooting [9] increasing the labor and costs involved in the process of plantlet production.

Phenols and starch

The presence of phenolic compounds may be related to increased adventitious rooting, as observed in cuttings of cherry tree (*Prunus* sp.) [46] or minimized rhizogenic potential reported in olive cuttings (*Olea europaea* L.) [28]. It has been claimed that when there is maximization of the rhizogenic capacity, it is the polyphenols that protect the IAA from oxidation [47] whereas when there is a reduction in the rooting rate, it is assumed that this is due to monophenols, whose compounds cause the degradation of IAA. Phenolic compounds were present in the epidermis, cortex and tissues with calluses in the four clones of mate studied, showing that the presence or absence of this compound does not explain the low competence for rooting in clone 10SM07 when compared to the others, as noted by Pimentel et al. [9]. Through microscopy analysis, apparently only the amounts of total phenolic compounds are similar, i.e. microscopy does not provide a quantitative inference, nor does it allow discrimination between phenolic categories, mainly monophenols and polyphenols. Therefore, in future studies, it is necessary to elucidate the chemical composition of these phenolic compounds through specific tests, which will allow confirmation as to whether their composition influences the variation in rhizogenic ability of mate clones.

In this study, the mini-cuttings of the clone 10SM07, which presented a lower percentage of rooting [9] apparently presented a lower quantity and distribution of starch grains, when compared to the other clones. The formation of adventitious roots can be influenced by carbohydrates; however, there is no consensus regarding the role played during the rhizogenic process, whose presence is indirectly shown by the presence of starch [28]. A number of authors have reported the importance of carbohydrates in adventitious rooting [7, 28, 15], while others have reported no relation between the presence of carbohydrates and the rhizogenic capacity observed in certain species or cultivars, such as vassourão-branco [42] and cancorosa [14].

Thus, the results of this study show that the differences in the rhizogenic ability from mini-cuttings of the four clones of mate are not due to the presence of anatomical barrier (sclerified layer) and accumulation of phenolic compounds. However, the lower accumulation of starch in the vegetative propagules of clone 10SM07 may explain the low adventitious rooting rate in its mini-cuttings. Further studies to analyze amylogenesis and sugars derived from amyolysis, such as glucose, sucrose and fructose, which are also considered stimulators of adventitious

roots, are necessary to elucidate the metabolic responses that occur in mini-cuttings of mate during the rhizogenic process.

CONCLUSION

The adventitious roots formed in the mini-cuttings of four mate clones treated with IBA present disorganized xylem poles but maintain functionality. The original anatomical barrier was not an impediment to the rooting process of the mini-cuttings. Differences in the rhizogenic competence of mate clones were not due to the accumulation of phenolic compounds, but they were associated with the presence and distribution of starch grains in vegetative propagules of this specie.

PATENTS

Acknowledgments: The authors are grateful to the Brazilian Council for the Improvement of Higher Education (CAPES) for scholarships.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Heck CI, Mejia EG. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*), a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. J Food Sci. 2007 Nov; 72:138-151.
2. Almeida NA, Santos AJ, Silva JCGL, Bittencourt AM. Análise do mercado dos principais produtos não madeiráveis do estado do Paraná (Analysis of the market of the main non timber forest products of Parana State). Floresta. 2009 Oct;39(4):753-763.
3. Food and agriculture organization of the United Nations. Faostat 2018 [Internet]; [updated 2016 Dez; cited 2019 Mar]. Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
4. Dallabrida VR, Dumke CI, Molz S, Furini V, Giacomelli MBO. Com erva-mate não se faz só chimarrão! Situação atual e perspectivas de inovação no setor ervateiro do planalto norte catarinense. (With yerb mate not just to make chimarrão! Current situation and innovation perspectives on mate sector of north plateau catarinense). Rev Des Reg em foco. 2016 Jul;6(2):247-273.
5. Zanin V, Meyer LG. Evolução da margem de comercialização da erva mate no Rio Grande do Sul. (Evolution of commercialization of the *Ilex paraguariensis* in Rio Grande do Sul). Rev iPecege. 2018 Mar;4(1):7-18.
6. Prat Kricun SD. Propagación vegetativa de plantas adultas de Yerba mate. In: Winge H, editor. Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul. Porto Alegre: Editora UFRGS; 1995. p. 137-150.
7. Corrêa LR, Paim DC, Schwambach J, Fett-Neto AG. Carbohydrates as regulatory factors on the rooting of *Eucalyptus saligna* Smith and *Eucalyptus globulus* Labill. Plant Growth Regul. 2005 Jan;45:63-73.
8. Mokotedi MEO, Watt MP, Pammenter NW, Blakeway FC. *In vitro* rooting and subsequent survival of two clones of a cold-tolerant *Eucalyptus grandis* x *E. nitens* hybrid. HortScience. 2000 Oct;35(6):1163-1165.
9. Pimentel N, Lencina KH, Kielse P, Rodrigues MB, Somavilla TM, Bisognin DA. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (Productivity of mini-stumps and rooting of mini-cuttings of erva-mate clones). Ciência Florestal. 2019 Jun;29(2):559-570.

10. Goulart PB, Xavier A, Iarema L, Otoni WC. Morfoanatomia da rizogênese adventícia em miniestacas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* (Morpho-anatomic of adventitious rhizogenesis in mini-cuttings of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*). *Ciência Florestal*. 2014 Jul;24(3):521-532.
11. Li SW, Xue L, Xu S, Feng H, An L. Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. *Bot Rev*. 2009 Jun;75:230-247.
12. Bellini C, Pacurar DI, Perrone I. Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences. *Annu Rev Plant Biol*. 2014 Feb;65:639-666.
13. Mayer JLS, Cardoso NA, Cuquel F, Bona C. Formação de raízes em estacas de duas espécies de *Calliandra* (Leguminosae - Mimosoideae) (Root formation in cuttings of two species of *Calliandra* (Leguminosae - Mimosoideae)). *Rodriguésia*. 2008;59(3):487-495.
14. Lima DM, Biasi LA, Zanette F, Zuffellato-Ribas KC, Bona C, Mayer JLS. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indolbutírico relacionada aos aspectos anatômicos (Rooting capacity of *Maytenus muelleri* Schwacke cuttings with indolebutyric acid application related to anatomical aspects). *Rev Bras Pl Med*. 2011;13(4):422-438.
15. Hartmann HT, Kester DE, Davies RT, Geneve RL. *Plant propagation: principles and practices*. 8 ed. New Jersey: Prentice Hall; 2011. 915 p.
16. Iritani C, Soares RV, Gomes AV. Aspectos morfológicos da aplicação de reguladores do crescimento nas estacas de *Ilex paraguariensis* St. Hilaire (Morphological aspects of the action of auxins on leafy cuttings of *Ilex paraguariensis* St. Hilaire). *Acta Biol Parana*. 1986 Dec;15(1,2,3,4):21-46.
17. Beakbane AB. Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. *Nature*. 1961 Dec;192(4806):954-955.
18. Sachs RM, Loreti F, De Bie J. Plant rooting studies indicate sclerenchyma tissue is not a restricting factor. *California Agriculture*. 1964 Sep;18(9):4-5.
19. Mayer JLS, Biasi LA, Bona C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos (Rooting ability of four *Vitis* L. (Vitaceae) cultivar cuttings related to anatomy). *Acta Bot Bras*. 2006;20(3):563-568.
20. Bryant PH, Trueman SJ. Stem anatomy and adventitious root formation in cuttings of *Angophora*, *Corymbia* and *Eucalyptus*. *Forests*. 2015;6:1227-1238.
21. Edwards RA, Thomas MB. Observations on physical barriers to root formation in cuttings. *Plant propagator*. 1980;26(2):6-8.
22. Pagliosa CM, Simas KN, Amboni RDMC, Murakami ANN, Petkowicz CLO, Medeiros JD, et al. Characterization of the bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Ind Crops Prod*. 2010 Nov;32:428-433.
23. Ljung K, Bhalerao RP, Sandberg G. Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *Plant J*. 2001 Nov;28(4):465-474.
24. Pop TI, Pamfil D, Bellini C. Auxin control in the formation of adventitious roots. *Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca*. 2011;39(1):307-316.
25. Sá FP, Portes DC, Wendling I, Zuffellato-Ribas KC. Miniestaquia de erva-mate em quatro épocas do ano (Minicutting technique of yerba mate in four seasons of the year). *Ciência Florestal*. 2018 Oct;28(4):1431-1442.
26. Bandurski RS, Cohen JD, Slovin JP, Reinecke DM. Auxin biosynthesis and metabolism. In: Davies PJ, editor. *Planthormones*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1995. p. 39-65.
27. Lee TT, Starratt AN, Jevnikar JJ. Regulation of enzymic oxidation of indole-3-acetic acid by phenols: structure-activity relationships. *Phytochemistry*. 1982;21(3):517-523.

28. Aslmoshtagui E, Shahsavari AR. Endogenous soluble sugars, starch contents and phenolic compounds in easy and difficult to root Olive cuttings. *J Biol Environ Sci.* 2010; 4(11):83-86.
29. McDowell EM, Trump BF. Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. *Arch Pathol Lab Med.* 1976;100(8):405-414.
30. Gabriel BL. Biological electron microscopy. New York: Van Nostrand Reinhold Company;1982.
31. O'Brien TP, McCully ME. The study of plant structure principles and selected methods. Melbourne: Termarcaphi Pty Ltd.;1981. 357 p.
32. Gerrits PO, Smid L. A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *J Microsc.* 1983 Oct;132:81-85.
33. Sidman RL, Mottla PA, Feder N. Improved polyester wax embedding for histology. *Stain Technol.* 1961;36(5):279-284.
34. Roeser KR. Die nadel der schwarzkiefer-massen productt und kunstwerk der natur. *Mikrokosmos.* 1972;6(1):33-36.
35. Kraus JE, Sousa HC, Rezende MH, Castro NM, Vecchi C, Luque R. Astra Blue and Basic Fuchsin double staining of plant materials. *Biotech Histochem.* 1998 May;73(5): 235-243.
36. Johansen DA. Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill Book Company; 1940. 523 p.
37. O'Brien TP, Feder N, McCully ME. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *Protoplasma.* 1964;59(2):368-373.
38. Martin FV. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technol.* 1959;34:125-128.
39. Kraus JE, Arduin M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédia: EDUR; 1997. 198 p.
40. Franklin GL. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature.* 1945;155(3924):51.
41. Moreira MF, Appezzato-da-Glória B, Zaidan LB. Anatomical aspects of IBA-treated microcuttings of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. *Braz Arch Biol Technol.* 2000 Feb; 43(2):221-227.
42. Ferriani AP, Mayer JLS, Zuffellato-Ribas KC, Bona C, Koehler HC, Deschamps C, *et al.* Estaquia e anatomia de vassourão-branco (Cutting and anatomy of vassourão-branco). *Sci Agrar.* 2008;9(2):159-166.
43. Schwarz JL, Glocke PL, Sedgley M. Adventitious root formation in *Acacia baileyana* F. Muell. *J Horticult Sci Biotechnol.* 1999 Sep;74(5):561-565.
44. Osterc G, Stampar F. Maturation changes auxin profile during the process of adventitious rooting in *Prunus*. *Eur J Horticult Sci.* 2015 Oct;80(5):225-230.
45. Pimentel N, Lencina KH, Pedroso MF, Somavilla TM, Bisognin DA. Morphophysiological quality of yerba mate plantlets produced by mini-cuttings. *Semin Cienc Agrar.* 2017 Nov;38(6):3515-3528.
46. Trobec M, Stampar F, Veberic R, Osterc G. Fluctuations of different endogenous phenolic compounds and cinnamic acid in the first days of the rooting process of cherry rootstock 'GiSela 5' leafy cuttings. *J Plant Physiol.* 2005 May;162:589-597.
47. De Klerk GJ, Van Der Krieken W, Jong JC. The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In Vitro Cell Dev Biol Plant.* 1999 May;35(3):189-199.

4 ARTIGO II

EFFECT OF MINI-CUTTING SIZE ON ADVENTITIOUS ROOTING AND MORPHOPHYSIOLOGICAL QUALITY OF *ILEX PARAGUARIENSIS* PLANTLETS²

Abstract: As the energizing and therapeutic effects of infusions of mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil) leaves are increasingly recognized, it is rising global consumption and increasing the demand for plantlets with high genetic and morphological qualities. Mini-cuttings are an alternative for clonal plantlets; however, more details are needed on factors that affect the success of this technique. Here, toward maximizing production, we evaluated adventitious rooting competence of mini-cuttings of different sizes and the morphophysiological quality of the resultant plantlets. Small (one bud; length up to 2.5 cm), medium (multiple buds; length 2.6–5.0 cm), and large (multiple buds; length 5.1–10.0 cm) mini-cuttings were planted in a mixture of commercial substrate, vermiculite, and coarse sand (1:1:1 v:v:v), grown in a humidity chamber, then evaluated after 45, 60, 75, and 90 days for survival, percentage of callus and shoot formation, number and length of shoots, percentage of rooted cuttings, and number and length of roots. Any rooted mini-cuttings were then cultivated in commercial substrate and subsurface soil (2:1 v:v) and evaluated after 30, 60, 90 and 120 days of cultivation for morphophysiology of the plantlets, percentage of survival, number of leaves, shoot height, stem diameter, and ratio of shoot height to stem diameter. After 120 days, the plantlets were evaluated for ratio of shoot and root dry mass, total length, surface area, total volume, and mean diameter of roots and Dickson quality index. Adventitious rooting of the mini-cuttings and the morphophysiological quality of the plantlets were not influenced by the size of the vegetative propagule. Therefore, single-bud mini-cuttings have similar adventitious rooting competence, and result in plantlets with adequate morphophysiological quality, based upon leaf development, shoot height, stem diameter and length, and surface area, volume and diameter of roots. Single-bud mini-cuttings up to 2.5 cm long can thus be used to maximize production of mate plantlets by mini-cuttings.

Keywords: Aquifoliaceae. Vegetative propagation. Mini-cutting technique. Plantlet production. Clonal forestry.

²Accepted for publication in the Journal of Forestry Research on 11/14/2019.

INTRODUCTION

Among the native tree species explored in South America, mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil; Aquifoliaceae) is one of greatest in socioeconomic, environmental, and cultural importance. The leaves are used for beverages, popularly known as “chimarrão” and “tereré”, as a source of caffeine to replace tea and coffee or as a therapeutic agent (Bracesco et al. 2011). The therapeutic effect of the leaves is due to the presence of polyphenols (Gugliucci et al. 2009), especially flavonoids, tannins, chlorogenic acid (Bastos et al. 2007; Menini et al. 2007), vitamins, and saponins (Bastos et al. 2007; Menini et al. 2007), that help improve memory (Nabi et al. 2013), promote cardioprotection (Cahuê et al. 2019), reduce weight (Antunes et al. 2017) and LDL cholesterol levels and act as an antioxidant and anti-inflammatory agent (Bracesco et al. 2011).

Evidence of the innumerable benefits of mate leaf infusions has increased the demand for raw material and interest in establishing or renewing plantations, maximizing the efficiency of land use and, consequently, increasing rural income (Antoniazzi et al. 2018). Plantlets with well-developed aerial parts and root systems are required for homogenous plantations with high leaf productivity (Pimentel et al. 2017).

An alternative for the production of plantlets of this species is the mini-cutting technique, which uses vegetative propagules produced from either asexually propagated plantlets or seminal seedlings that are cultivated in a humidity chamber for adventitious root formation (Sá et al. 2018). Although the technique has been tested for producing mate plantlets (Wendling et al. 2007; Brondani et al. 2007, 2008; Nagaoka et al. 2013; Kratz et al. 2015; Sá et al. 2018; Pimentel et al. 2019), the most important factors that affect adventitious rooting of the mini-cuttings are not well known, and the technique still needs to be optimized for efficient production.

In general, several factors, such as rejuvenation of the stock plants, the time of the year the collection is performed, application of phytohormones, nutrition (Xavier et al. 2013), and the size of the vegetative propagules collected in the mini-clonal hedge (Engel et al. 2019) are known to influence adventitious rooting competence. The ideal size varies according to the plant species and vegetative propagation technique, inducing great variation in the rhizogenic process and in the development of vegetative propagated plantlets (Vigl and Rewald 2014). The present study was thus aimed at evaluating three sizes of mini-cuttings for adventitious rooting competence and the morphophysiological quality of the resultant plantlets to maximize production of mate plantlets from mini-cuttings.

MATERIAL AND METHODS

The experiments were conducted from July 2016 to March 2017 in the greenhouse at the Center for Plant Breeding and Vegetative Propagation (29°43'20" S, 53°43'11" W), Department of Plant Science of the Federal University of Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. The plant material consisted of 6-month-old mini-stumps from 14 clones derived from *in vitro* germination of zygotic embryos (clones 06SM17, 06SM15, and 06SM12) (Pimentel et al. 2019), from cuttings of epicormic shoots of adult trees (clones 10SM07, 13SMU05, 13SMU01, and 13SMI62) and from cuttings of seminal seedlings of mate (clones 14SMC02, 14SMC03, 15SMI04, 15SMI02, 15MA05, 15MA07, and 15MA03) (APÊNDICE C1).

The mini-stumps were established in a mini-clonal hedge with a closed soilless system composed of a 6-mm-thick fibrocement tile suspended on iron trestles. The tile surface was coated with a transparent plastic film 100 µm thick, followed by a layer of approximately 3 cm of medium gravel. An anti-aphid screen was placed on the gravel before a layer of approximately 6 cm of coarse sand. The mini-clonal hedge was fertigated daily for 15 min at a flow of 8.67 L min⁻¹, with a nutrient solution (in mg L⁻¹: 117.0 N in nitrate form; 15.75 N in ammonium form; 14.63 of P; 131.62 of K; 84.0 of Ca; 25.21 of Mg; 73.28 of S; 0.01 of B; 0.02 of Cu; 69.73 of Fe; 0.03 of Mn; 0.008 of Zn; 0.0016 of Mo). The pH of the nutrient solution was maintained between 5.5 and 5.8 and electrical conductivity kept at 1.5 dS m⁻¹.

Sprouts from the mini-stumps of mate were collected in the winter (July 2016), according to the best rhizogenic responses verified by Pimentel et al. (2019). These sprouts were sectioned into mini-cuttings of different sizes: small (one bud; cutting length up to 2.5 cm), medium (multiple buds; length 2.6–5.0 cm) and large (multiple buds; length 5.1–10.0 cm). The small mini-cuttings were cut from portions of the sprouts without an apical bud; the medium and large cuttings were obtained from longer portions with the apical bud. After leaf area on the mini-cuttings was reduced by 50%, the minicuttings were immediately cultivated in polystyrene trays containing a mixture of pine bark-based commercial substrate, vermiculite, and coarse sand (1:1:1 v:v:v) without auxin treatment, as described by Pimentel et al. (2019). The chemical and physical characteristics of substrate composition were pH in H₂O = 5.40; electrical conductivity = 0.46 mS cm⁻¹; dry density = 878.84 kg m⁻³; total porosity = 62.02%; aeration space = 28.00%; remaining water = 26.37% and available water = 7.65%.

The trays of mini-cuttings were maintained in a humidity chamber in a greenhouse at the Center for Plant Breeding and Vegetative Propagation. The humidity chamber was overlaid with a transparent plastic film and protected with 50% nylon shading, with relative air humidity

of approximately 85%, provided by automated nebulization 8 times a day for 1 min. After 45, 60, 75, and 90 days, the mini-cuttings were evaluated for percentage of survival and callus and shoot formation, number and length of shoots, percentage rooting, and number and length of roots. The mini-cuttings were considered rooted when they had at least one adventitious root that was ≥ 0.1 cm long. The experimental design was completely random, with 10 repetitions of 7 to 15 mini-cuttings each, based on the productivity of sprouts on the mini-stumps.

After 90 days in the humidity chamber, the rooted mini-cuttings of each of treatment were grown in 500-cm³ polyethylene bags (10 cm wide \times 13 cm long) (Pimentel et al. 2017) containing a mixture of a commercial pine-bark-based substrate and subsurface soil (2:1 v:v) to evaluate the morphophysiological quality of the plantlets. The chemical and physical characteristics of the substrate were pH H₂O = 4.97; electrical conductivity = 0.89 mS cm⁻¹; dry density = 590.23 kg m⁻³; total porosity = 73.51%; aeration space = 20.79%; remaining water = 33.73% and available water = 20.27%. The plantlets were arranged on benches with 70% of total incident radiation (approximately 7805 lux) in a greenhouse because they were protected with 30% nylon shading throughout the experiment. Plants were irrigated daily with a hand irrigator (3.6 L m⁻²). The experiment was conducted in a completely random design, with five repetitions of 4 to 20 plantlets each, according to the number of mini-cuttings rooted in the previous experiment.

The mate plantlets were evaluated after 30, 60, 90, and 120 days for survival percentage, number of leaves, shoot height (cm), stem diameter (mm), and the ratio of shoot height to stem diameter. Shoot height was measured from the substrate to the apex of the last-formed leaf, and stem diameter was measured at the substrate level with a digital caliper.

After 120 days, four random plantlets for each treatment were collected to determine dry mass of the shoot and roots and analyze the morphophysiology of the root system. The plantlets were washed in tap water and cut at the substrate line to separate shoots and roots, which were then placed in separate paper bags dried in an oven at 105 °C until constant mass. Roots were then scanned in an Epson 11000XL scanner and analyzed using WinRhizo Pro software (Regent Instruments, Canada) to determine total length, surface area, and volume and average diameter of the roots. In addition, we estimated the ratio of shoot dry mass to root dry mass and calculated the Dickson quality index (DQI) using the following equation (Dickson et al. 1960):

$$DQI = \frac{TDM (g)}{\frac{SH (cm)}{SD (mm)} + RSR}, \quad \text{Eq. (1)}$$

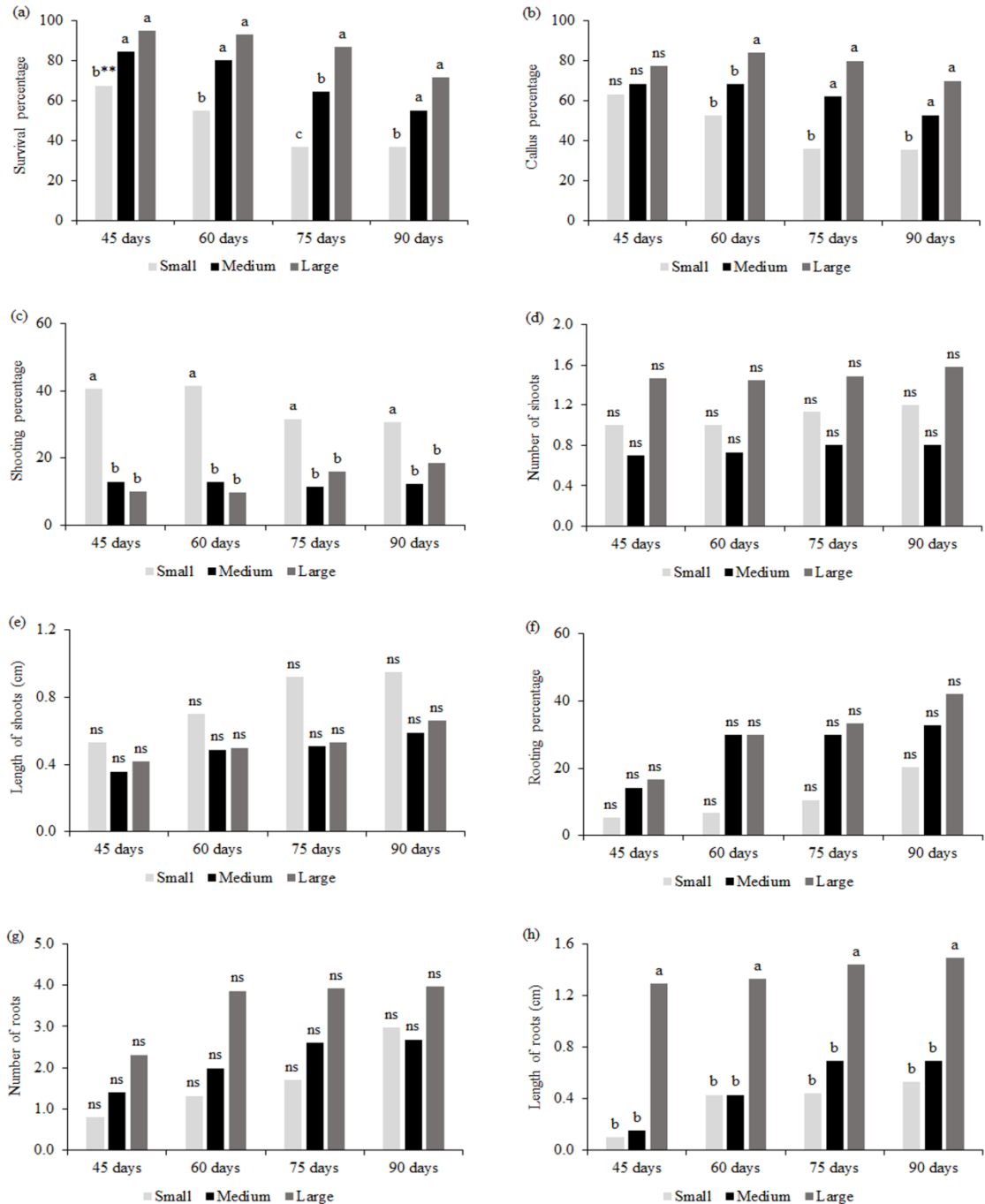
TDM is the total dry mass of the plantlets (g), SH is the shoot height (cm), SD is the stem diameter (mm), and RSR is the ratio of shoot dry mass to root dry mass.

The assumption of data normality was verified with the Shapiro–Wilk test and variance homogeneity with the Bartlett test using ActionStat software (EquipeEstatcamp 2014). Percentage data that did not meet the assumptions were transformed using $\arcsine\sqrt{x/100}$, and count and length data were transformed using $\sqrt{x+0.5}$ before being subjected to an analysis of variance using Sisvar statistical software (Ferreira 2011). The means of the treatments with significant differences were compared using Scott–Knott’s test at 5% significance level.

RESULTS AND DISCUSSION

In this study, the size of the mate mini-cuttings had a significant effect on the percentage of survival and callus formation after 60 days ($p = 0.0025$ and 0.0125 , respectively), 75 ($p = 0.0000$ and 0.0002 , respectively) and 90 days ($p = 0.0048$ and 0.0067 , respectively) in the humidity chamber (Fig. 8a, b). The high survival of the medium-sized and the large mini-cuttings (Fig. 8a) suggests that the air humidity provided by nebulization was adequate for the survival of even the largest vegetative propagules, which obviously require more water (Lima et al. 2006). For the vegetative propagation of the tree clones *Populus* ‘Max 4’ and *Salix* ‘Inger’, the longest cuttings had the highest survival during rhizogenesis (Vigl and Rewald 2014), as also found in the present study with mate mini-cuttings. For the percentage of callus formation (Fig. 8b), the superiority of medium and large mini-cuttings may have been due to the higher number of buds and leaves on the vegetative propagules than on the small mini-cuttings. The leaves synthesize soluble sugars, which provide energy for callogenesis (Shao et al. 2018). Greater callogenesis was also found for vegetative propagules of *Varronia curassavica* Jacq. that had more leaves (Bischoff et al. 2017).

Figure 8. Percentage of survival and callus and shoot formation, number and length of shoots, percentage of rooted mini-cuttings, and number and length of roots on mate mini-cuttings of different sizes after 45, 60, 75, and 90 days of cultivation. Sizes: small mini-cuttings (one bud, mini-cutting up to 2.5 cm long), medium (multiple buds, 2.6–5.0 cm long) and large (multiple buds, 5.1 to 10.0 cm long). **Lower case letters indicate means differed significantly among cutting size for a particular time period according to Scott–Knott’s test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant according to the *F*-values in ANOVA.



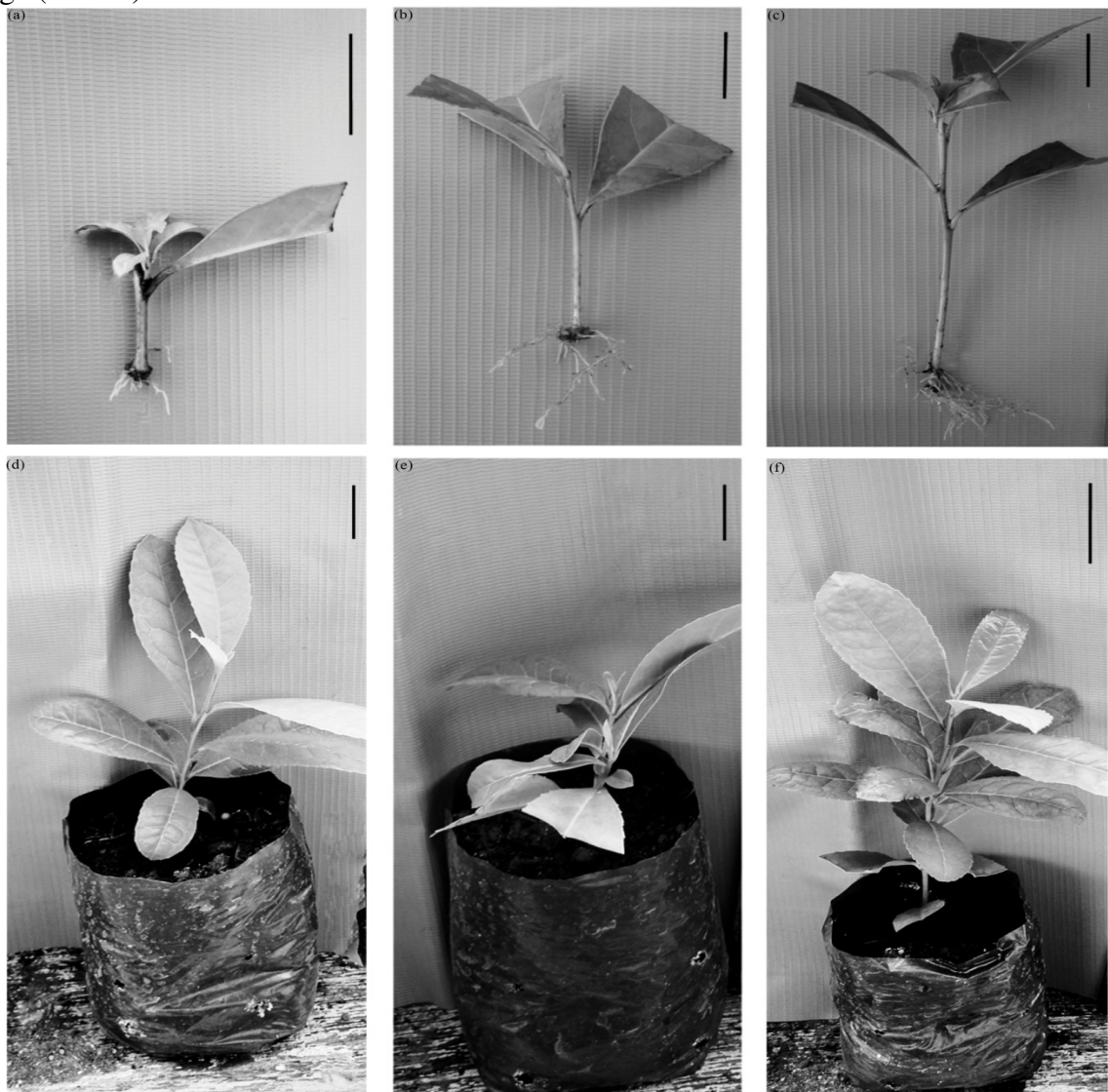
The size of the mate mini-cuttings also had a statistically significant effect on the percentage of shoot formation after 45, 60, 75, and 90 days of cultivation ($p = 0.0035, 0.0001, 0.0144, 0.0415$,

respectively) (Fig. 8c), but did not influence the number and length of shoots ($p = 0.1015$ and 0.4292 [45 days], 0.3326 and 0.4178 [60 days], 0.1391 and 0.0994 [75 days], 0.4885 and 0.3111 [90 days]) (Fig. 8d, e). The shoot formation was greatest on the small mini-cuttings (Fig. 8c), which lacked the apical bud and were thus not subject to apical dominance, perhaps increasing the concentration of cytokinins in the lateral buds (Taiz and Zeiger 2013) and thus promoting the growth of lateral shoots.

The ideal size for vegetative mini-cuttings with regard to adventitious rooting varies with the forest species. Short cuttings had higher competence for adventitious rooting of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Oliveira et al. 2008), but larger vegetative propagules were best for *Picea abies* (L.) Karst. (Ouyang et al. 2015) and *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos (Rodrigues et al. 2017). For mate, cuttings from adult plants that are longer than 10 cm are more proficient for adventitious rooting (Duarte et al. 2019), but the ideal size of mini-cuttings for mate has not been known; vegetative propagules between 2 and 7 cm have been used to study adventitious rooting (Wendling et al. 2007; Brondani et al. 2007, 2008; Nagaoka et al. 2013; Kratz et al. 2015; Sá et al. 2018; Pimentel et al. 2019).

In the present study, the different sizes of mate mini-cuttings did not differ significantly in relation to the rooting percentage and number of roots after 45, 60, 75, and 90 days in the humidity chamber ($p = 0.4649$ and 0.4202 , 0.1212 and 0.1624 , 0.0686 and 0.1884 , 0.2432 and 0.3035 , respectively; Figs. 8f, 8g; 9a–c). This result was probably due to the larger mini-cuttings having more buds than on the small (one bud). The bud can act as a heavy sink and consumer of reserves (Lima et al. 2006), resulting in vegetative propagules of different sizes but with similar amounts of photoassimilates. The photoassimilates are synergistic substances for adventitious rooting and may allow similar reserves to achieve similar rhizogenic rates on the three sizes of mate mini-cuttings. A similar lack of influence of vegetative propagule size on rhizogenesis was found for *Allanblackia floribunda* Oliv. (Atangana and Khasa 2008) and *Santalum austrocaledonicum* Vieill. (Tate and Page 2018).

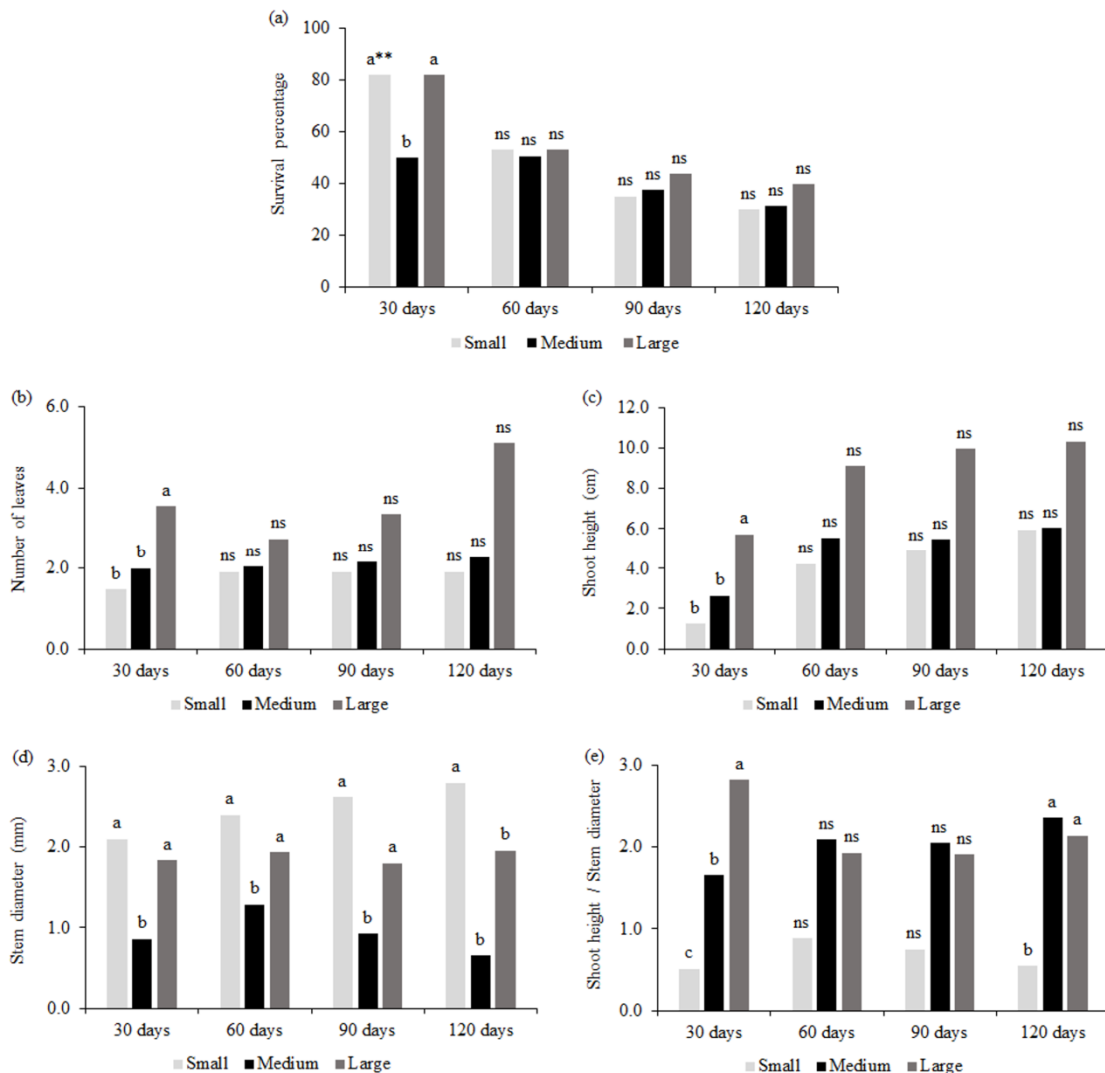
Figure 9. Rooted mini-cuttings of mate (a–c) after 90 days in a humidity chamber and plantlets (d–f) after 120 days in the greenhouse. Mini-cuttings of small (a and d), medium (b and e), and large (c and f) sizes are shown. Bar = 2 cm.



Adventitious roots were longest on large mini-cuttings after 90 days of cultivation in the humidity chamber (Fig. 8h, 9c). Duarte et al. (2019) also verified that 10 cm cuttings of adult mate plants had longer roots after 120 days; however, they only used nonrejuvenated propagules. Their result suggests superior survival of plantlets from larger vegetative propagules, which was not observed in the present study (Fig. 10). The survival percentage after 60, 90, or 120 days in the greenhouse was not influenced ($p = 0.4221, 0.6634, 0.6085$, respectively) by the size of the original mini-cutting (Fig. 10a). According to Fachinello et al. (2005), the number of roots formed on vegetative propagules (Fig. 8g) has greater influence than the length of the roots (Fig. 8h) on survival of the new plantlets. Thus, the similar survival

rate of mate plantlets (Fig. 10a) may be associated with the similar number of roots formed during the rhizogenic process in the mini-cuttings of different sizes (Fig. 8g).

Figure 10. Percentage survival, number of leaves, shoot height, stem diameter, and shoot height to stem diameter ratio of mate plantlets from mini-cuttings of different sizes after 30, 60, 90, and 120 days in a greenhouse. *Small mini-cuttings (one bud; up to 2.5 cm long), medium (multiple buds; 2.6–5.0 cm), and large (multiple buds; 5.1–10.0 cm). **Lower case letters indicate that means differed significantly among mini-cutting size for a particular time of evaluation in Scott–Knott’s test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant according to the *F*-values in ANOVA.



Plantlets from large mini-cuttings had more leaves (Fig. 10b) and longer shoots (Fig. 10c) compared with the other mini-cutting sizes after 30 days in the greenhouse. However, by 120 days, the mate plantlets did not differ significantly ($p = 0.1567$ and 0.0981 , respectively) for these traits, with averages of 3.01 leaves and 7.44 cm of shoot length, independent of the size of the mini-cuttings (Fig. 9d–f; 10b, 10c). In general, the longer the vegetative propagule,

the greater the carbohydrate reserves (Fachinello et al. 2005), allowing more vigorous initial growth of plantlets from this size of propagule. However, these differences were not found by the end of the evaluation period.

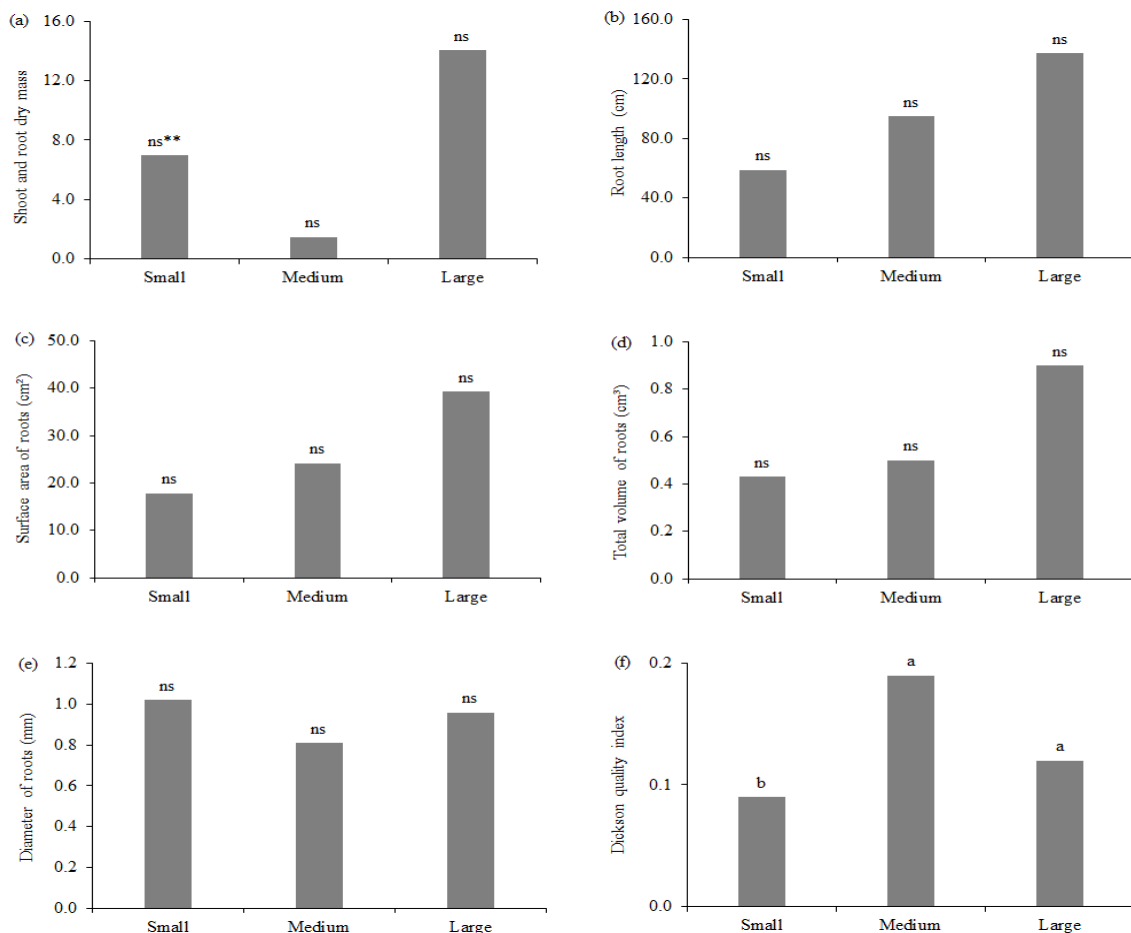
The different sizes of mini-cutting plantlets yielded significantly different stem diameters after 30, 60, 90, and 120 days in a greenhouse ($p = 0.0001, 0.0050, 0.0085, 0.0046$, respectively). The medium mini-cuttings yielded a smaller stem diameter for plantlets than did the smaller and larger mini-cuttings at 30, 60 and 90 days of cultivation (Fig. 10d). However, by the end of the experiment (120 days), the small mini-cuttings had produced plantlets with the greatest stem diameter (average 2.80 mm; Fig. 10d). This result again is likely due to the lack of apical bud on the small mini-cuttings, increasing the availability of nutrients and cytokinins to the lateral buds, and thus stimulating the growth in diameter (Ono et al. 2004). The removal of the apical bud also allowed a greater diameter increase in plants of *Carica papaya* L. (Ono et al. 2004). Stem diameter is considered the best morphological predictor of future plantlet development, having the highest correlation with survival rate and plant growth in the field (Haase 2008). The ideal range for stem diameter, however, varies by tree species, and no information is yet available for optimal values for mate plantlets. For the genus *Eucalyptus*, a minimum diameter of 2.0 mm is recommended for plantlets before transplanting in the field (Xavier et al. 2013). Thus, considering the ideal range used for *Eucalyptus* tree species, only mate plantlets produced from small mini-cuttings would be considered suitable for planting (Fig. 10d).

The use of medium-sized and large mini-cuttings led to a higher shoot height to stem diameter ratio in mate plantlets after 120 days in the greenhouse (Fig. 10e). However, regardless of the size of the initial mini-cuttings, all plantlets had a shoot height to stem diameter ratio less than 10, which according to Birchler et al. (1998), indicates balanced shoot development and stem diameter of plants produced from mini-cuttings.

The final plantlets generated by the different sizes of mini-cutting after 120 days in the greenhouse did not differ in the ratio of shoot to root dry mass ($p = 0.0640$) (Supplementary material; a), total length, surface area, total volume, and average diameter of the roots ($p = 0.2741; 0.2666; 0.2398; 0.1154$, respectively; Supplementary material; b–e). Thus, the results show a trend for root growth similar to that observed in for adventitious root formation. Therefore, this trend can also be explained by a reduction in photoassimilates in the longer mini-cuttings due to their multiple buds, which probably equaled the reserve content of small mini-cuttings and, consequently, enabled satisfactory development of the root system. This result may indicate that these plantlets will grow well in the field, since a positive relationship

between the quality of the root system and growth after planting was reported in 78% of the studies analyzed by Grossnickle and MacDonald (2018).

Figure 11. Supplementary material. Relationship between shoot and root dry mass, total length, surface area, total volume, average diameter of the roots, and Dickson quality index of mate plantlets produced by mini-cuttings of different sizes after 120 days of cultivation. *Small mini-cuttings (one bud; up to 2.5 cm long), medium (multiple buds; 2.6 to 5.0 cm long) and large (multiple buds; 5.1 to 10.0 cm long). **Lower case letters indicate means differed among cutting size in Scott–Knott’s test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant according to *F*-values in ANOVA.



The Dickson quality index (DQI) is considered to be a good indicator of plantlet quality, since it uses both the robustness (ratio of shoot height to stem diameter) and the plant biomass balance (ratio of shoot to root dry mass) (Fonseca et al. 2002). Mate plantlets from medium and large mini-cuttings had the highest DQI values (0.19 and 0.12 respectively), differing statistically from those from small vegetative propagules (0.09) after 120 days (Supplementary material; f). For *Pseudotsuga menziesii* (Mirbel) Franco and *Picea abies* (L.) Karst., DQI equal to or greater than 0.20 was recommended for the quality of plantlets to be considered satisfactory (Hunt 1990). However, in the present study, the DQI values for plantlets from all sizes of mini-cuttings were

lower than 0.2, which led us to consider that for mate, this value is inappropriate. DQI values were also lower than 0.2 for seedlings of native species such as *Copaifera langsdorffii* Desf. (Reis et al. 2016) and *Chamaecrista desvauxii* var. *latistipula* (Delarmelina et al. 2015). These results corroborate the findings of Leles et al. (2006), who stated that species of the Brazilian flora need to be studied to more precisely determine index optimal for Brazilian species.

The results of the present study indicate that neither the rhizogenesis in the mini-cuttings nor the morphophysiological quality of the mate plantlets were influenced by the size of the initial vegetative propagule. Thus, the use of small mini-cuttings (with one bud and length up to 2.5 cm) is suggested for producing mate plantlets with satisfactory adventitious rooting and shooting rates in the humidity chamber and, consequently, to obtain plantlets with adequate morphophysiological quality, as evidenced by leaf number, shoot height, stem diameter and total length, surface area, total volume, and average root diameter. In addition, the use of mini-cuttings with one bud maximizes production, since numerous one-bud cuttings can be cut from one sprout. Thus, from each mini-stump in the mini-clonal hedge, more plantlets can be produced, reducing the area required for a mini-clonal hedge. Also, by using a small vegetative propagule with one bud, the time interval between collections can be increased, so that the collection can be planned according to the availability of space in the humidity chamber, maximizing the use of one of the most costly plantlet production environments. This ability to manage the interval between collections also allows the process to be adjusted when demand is greater for mate plantlets of adequate morphophysiological quality.

CONCLUSIONS

The size of mate mini-cuttings does not affect adventitious rooting or the morphophysiological quality of the plantlets. The use of single-bud mini-cuttings up to 2.5 cm long maximizes production of mate plantlets by mini-cuttings and minimizes costs.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) of Brazil for scholarships.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Antoniazzi MS, Rocha LD, Souza EL, Guerra D, Silva DM, Redin M (2018) Análise da cultura da erva-mate como alternativa social, econômica e ambiental para comunidades rurais. *Ver Extem Foco* 15:108–119.
- Antunes A, Cardoso DS, Paula CS (2017) Efeito da *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (erva mate) no controle da obesidade. *Visão Acadêmica* 18(1):14–26.
- Atangana AR, Khasa DP (2008) Preliminary survey of clonal variation in rooting of *Allanblackia floribunda* leafy stem cuttings. *Can J For Res* 38:10–15.
- Bastos DHM, Oliveira DM, Matsumoto RLT, Carvalho PO, Ribeiro ML (2007) Yerba mate: pharmacological properties, research and biotechnology. *Med Aromat Plant Sci Biotechnol* 1:37–46.
- Birchler T, Royo A, Pardos M (1998) La planta ideal: revision del concepto, parâmetros definitorios e implementacion practica. *Investigacion Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 7(1/2):109–121.
- Bischoff AM, Vendramim DW, Gomes EM, Ribas KCZ, Engel ML, Maggioni RA (2017) Enraizamento de estacas de erva-baleeira em função de diferentes concentrações de ácido indolbutírico e número de folhas. *Ciências Agroveterinárias* 16(1):41–47.
- Bracesco N, Sanchez AG, Contreras V, Menini T, Gugliucci A (2011) Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. *J Ethnopharmacol* 136(3):378–384.
- Brondani GE, Wendling I, Santin D, Benedetti EL, Roveda LF, Orrutêa A (2007) Ambiente de enraizamento e substratos na miniestaquia de erva mate. *Sci Agrar* 8(3):257–267.
- Brondani GE, Araujo MA, Wendling I, Kratz D (2008) Enraizamento de miniestacas de erva-mate sob diferentes ambientes. *Pesqui Florest Bras* 57:29–38.
- Cahuê F, Nascimento JHM, Barcellos L, Salerno VP (2019) *Ilex paraguariensis*, exercise and cardioprotection: A retrospective analysis. *J Funct Foods* 53:105–108.
- Delarmelina WM, Caldeira MVW, Faria JCT, Lacerda LC (2015). Uso de resíduo orgânico em substrato para produção de *Chamaecrista desvauxii* (Collad.) Killip var. *latistipula* (Benth.). *Cerne* 21(3):429–437.
- Dickson A, Leaf AL, Hosner JF (1960) Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forest Chronicle* 36:10–13.
- Duarte MM, Mireski MC, Oliszeski A, Wendling I, Stuepp CA (2019) Rooting of yerba mate cuttings with different lengths. *Rev Elet Cient da UERGS* 5(1):5–11.

- Engel ML, Ikeda A, Flôres Jr PC, Alcantara GB, Higa AR (2019) Influence of stem cutting position, leaves condition and size of minicuttings in rooting of black wattle. *Agricult Forest* 65:191–199.
- Equipe Estatcamp. 2014. Software Action. Estatcamp- Consultoria em estatística e qualidade, São Carlos-SP, Brasil. <http://www.portalaction.com.br/>
- FachinelloJC, Hoffmann A, Nachtigal JC. 2005. Propagação de plantas frutíferas. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p 221.
- Ferreira DF (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* 35(6):1039–1042.
- Fonseca EP, ValériSV, Miglioranza E, Fonseca NAN, Couto L (2002) Padrão de qualidade de mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. *Árvore* 26(4):515–523.
- Grossnickle SC, MacDonald JE (2018) Why seedlings grow: influence of plant attributes. *New For* 49:1–34.
- Gugliucci A, Bastos DH, Schulze J, Souza MF (2009) Caffeic and chlorogenic acids in *Ilex paraguariensis* extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins. *Fitoterapia* 80(6):339–344.
- Haase DL (2008) Understanding Forest Seedling Quality: Measurements and Interpretation. *Tree Planters' Notes* 52(2):24–30.
- Hunt GA (1990) Effect of styroblock design and Cooper treatment on morphology of conifer seedlings. Fort Collins: United States Department of Agriculture, Forest Service.
- Kratz D, Pires PP, Stuepp CA, Wendling I (2015) Produção de mudas de erva-mate por miniestaquia em substratos renováveis. *Floresta* 45(3):609–616.
- LelesPSS, Lisboa AC, Neto SNO, Grugiki MA, Ferreira MA (2006) Qualidade de mudas de quatro espécies florestais produzidas em diferentes tubetes. *Floresta e Ambiente* 13(1):69–78.
- Lima RLS, Siqueira DL, Weber OB, Cazetta JO (2006) Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. *Rev Bras Frutic* 28(1):83–86.
- Menini T, Heck C, Schulze J, Mejia E, Gugliucci A (2007) Protective action of *Ilex paraguariensis* extract against free radical inactivation of paraoxonase-1 in high-density lipoprotein. *Planta Med* 73:1141–1147.
- Nabi NU, Neeraj K, Ravi K, Preeti K (2013) Natural remedies for improving learning and memory-review. *Int J Pharm* 3(2):161–165.
- Nagaoka RE, Peres FSB, Carmo ALM, Garcia FAO (2013) Efeito do AIB no desenvolvimento de mudas clonais em genótipos de erva-mate. *Enciclopédia Biosfera* 9(17):1182–1191.

- Oliveira Y, Silva ALL, Pinto F, Quoirin M, Biasi LA (2008) Comprimento das estacas no enraizamento de melaleuca. *Sci Agrar* 9(3):415–418.
- Ono EO, Grana Júnior JF, Rodrigues JD (2004) Reguladores vegetais na quebra da dominância apical de mamoeiro (*Carica papaya* L.). *Rev Bras Frutic* 26(2):348–350.
- Ouyang F, Wang J, Li Y (2015) Effects of cutting size and exogenous hormone treatment on rooting of shoot cuttings in Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. *New For* 46:91–105.
- Pimentel N, Lencina KH, Pedroso MF, Somavilla TM, Bisognin DA (2017) Morphophysiological quality of yerba mate plantlets produced by mini-cuttings. *Semin Cienc Agrar* 38(6):3515–3528.
- Pimentel N, Lencina KH, Kielse P, Rodrigues MB, Somavilla TM, Bisognin DA (2019) Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). *Ciência Florestal* 29(2):559–570.
- Reis SM, Marimon-Junior BH, Morandi OS, Oliveira-Santos C, Oliveira B, Marimon BS (2016) Desenvolvimento inicial e qualidade de mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. sob diferentes níveis de sombreamento. *Ciência Florestal* 26(1):11–20.
- Rodrigues MB, Pimentel N, Lencina KH, Kielse P, Bisognin DA (2017) Enraizamento de miniestacas de ipê-roxo (*Handroanthus heptaphyllus* Vell. Mattos). *Ver Bras Pl Med* 19(1):129–137.
- Sá FP, Portes DC, Wendling I, Zuffellato-Ribas KC (2018) Miniestaquia de erva-mate em quatro épocas do ano. *Ciência Florestal* 28(4):1431–1442.
- Shao F, Wang S, Huang W, Liu Z (2018) Effects of IBA on the rooting of branch cuttings of Chinese jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) and changes to nutrients and endogenous hormones. *J For Res* 29(6):1557–1567.
- Taiz L, Zeiger E (2013) *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Sunderland, p 782.
- Tate HT, Page T (2018) Cutting propagation of *Santalum austrocaledonicum*: the effect of genotype, cutting source, cutting size, propagation medium, IBA and irradiance. *New For* 49:551–570.
- Vigl F, Rewald B (2014) Size matters? The diverging influence of cutting length on growth and allometry of two Salicaceae clones. *Biomass Bioenergy* 60:130–136.
- Wendling I, Dutra LF, Grossi F (2007) Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. *Pesq Agropec Bras* 42(2):289–292.
- Xavier A, Wendling I, Silva RL (2013) *Silvicultura clonal: princípios e técnicas*. Editora UFV, Viçosa, p 272.

5. ARTIGO III

HOW DO CLONAL PLANTLETS OF MATE RESPOND TO DIFFERENT SUBSTRATE COMPOSITIONS AND SHADING LEVELS?³

Abstract: Mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) is an arboreal species of great economic and socio-environmental importance in South American countries. This specie presents several difficulties during seminal propagation, and studies related to plantlet production by vegetative propagation are fundamental for obtaining homogenous mate plantations with high leaf productivity. Therefore, the present study aimed to evaluate the effects of substrate, genetic materials and shading levels on the morphophysiological quality of mate plantlets produced by mini-cuttings. Rooted mini-cuttings of four mate clones were cultivated on commercial substrate, subsurface soil and vermiculite (2:1:1 v/v/v), commercial substrate and subsurface soil (2:1 v/v) or subsurface soil, cattle manure and carbonized rice husks (2:1:1 v/v/v). After 120 days, the plantlets were randomly distributed on benches to evaluate the effects of 50 and 80% shading screens. Regardless of the clone, the commercial substrate and subsurface soil composition allowed plantlet production with satisfactory development of both aerial part and root system at 120 days of cultivation. Clone 06SM17 produced plantlets with high averages of stem diameter, shoot height, number of leaves, total length, surface area, total volume of roots, and number of root tips. Both shade levels resulted in similar stem diameters, shoot heights, numbers of leaves, and *a*, *b*, and total chlorophyll indices. Clonal mate plantlets with satisfactory morphophysiological quality are produced in commercial substrate and subsurface soil (2:1 v/v) under 50 and 80% shading.

Keywords: Forest species. *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. Plantlet production. Vegetative propagation.

INTRODUCTION

Currently, new plantations of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) have been established with seminal seedlings (PIMENTEL et al., 2019), but the production of new seedlings is hampered by a low percentage of seed germination, because embryos are usually immature and undergoing tegumentary and physiological dormancy (FOWLER et al., 2007). In addition, planting seminal

³ Accepted for publication in the Bioscience Journal on 04/05/2020.

seedlings may result in non-uniform plants and low yields of commercial mate, because of, among other factors, quality differences and high genetic variability among seedlings used for the establishment of plantations. As an alternative, vegetative propagation by mini-cuttings, which is a variation of the cutting technique, results in the production of uniform plantlets of satisfactory quality with operational, technical, economic, and environmental advantages.

The production of plantlets can be directly affected by the production system, including clones, substrate composition and nursery management. Plantlets from different clones may differ in their vegetative growth, as observed in several forest species, such as *Toona ciliata* (BATISTA et al., 2015) and hybrids of *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* and *E. camaldulensis* × *E. spp.* (REIS et al., 2006), because they present distinct adaptation strategies (BATISTA et al., 2015) and differentiated nutrient use efficiencies (REIS et al., 2006) of the soil or substrate.

In the selection of the substrate composition to be used in the production of forest plantlets, it is extremely important to analyze of their physical and chemical characteristics, which promote water retention and nutrient availability, respectively, to meet the specific needs of each species (CUNHA et al., 2006). Several studies have evaluated the effect of substrates on the quality of seminal mate seedlings (WENDLING et al., 2006; WENDLING et al., 2007a; ZAVISTANOVICZ et al., 2017), and verified better growth and development of the plants in substrate compositions containing cattle manure (WENDLING et al., 2006; WENDLING et al., 2007a) or subsurface soil and cattle manure (ZAVISTANOVICZ et al., 2017).

Regarding plantlet management in nurseries, care should be taken regarding exposure to sunlight, because generally, when radiation is reduced, photosynthesis, stomatal conductance, and rubisco activity also decrease rapidly (HERAUT-BRON et al., 1999), affecting physiological processes and, consequently, plant development. However, the capacity to capture and use sunlight varies between species (SANTOS-MOURA et al., 2018), which has led researchers to study the effect of shading levels on adult mate plants grown in monoculture and sub-forests (RAKOCEVIC; MARTIM, 2011; CARON et al., 2014), as well seminal mate seedlings in nursery conditions (POLETTO et al., 2010; FERMINO JUNIOR; FOCKINK, 2017).

In this context, it is known that both substrate composition (WENDLING et al., 2006; WENDLING et al., 2007a; ZAVISTANOVICZ et al., 2017) and light levels interfere directly in the development of seminal mate plants (POLETTO et al., 2010; RAKOCEVIC; MARTIM, 2011; CARON et al., 2014), but there is limited information in the literature on the influence of these factors on the quality of mate plantlets produced by mini-cutting. Various studies on vegetative propagated mate plants have emphasized the adventitious rooting of mini-cuttings (BRONDANI et al., 2007; BRONDANI et al., 2008; WENDLING et al., 2007b; KRATZ et al.,

2015; SÁ et al., 2018) and growth and productivity of plants under field conditions (SANTIN et al., 2015), but not elucidated the factors that interfere in the mate plantlets production in nursery conditions.

Considering that for the establishment of homogenous forest plantations with high leaf productivity, the use of clonal plantlets with adequate quality is fundamental and this parameter can be influenced by several factors of the productive process, this study aimed to evaluate the effects of substrate composition, genetic materials and shading level on the morphophysiological quality of plantlets of mate that were produced by mini-cuttings.

MATERIAL AND METHODS

The experiments were conducted using mate plant clones 06SM17, 06SM15, and 06SM12 derived from the *in vitro* germination of zygotic embryos, and the clone 10SM07 was derived from cuttings of epicormic shoots from a ~20-year-old plant (PIMENTEL et al., 2017). Sprouts from mate mini-stumps that had been maintained in a mini-clonal hedge in a closed soilless system were collected in July 2014 and sectioned into mini-cuttings with one bud ~2.0-cm-long and one leaf reduced to 50% of its original area. The mini-cuttings were cultivated in polystyrene trays containing pine-bark-based commercial substrate, vermiculite and coarse sand (1:1:1 v/v/v) (PIMENTEL et al., 2017).

Trays containing the mini-cuttings of the four mate clones were maintained in a wet chamber in a greenhouse with a relative air humidity of ~85% for 60 days. The rooted mini-cuttings were planted in 1500-cm³ polyethylene bags (22 × 15 cm) (PIMENTEL et al., 2017) with three substrate compositions. The substrates were pine-bark-based commercial substrate, subsurface soil and medium-particle-size vermiculite (2:1:1 v/v/v), pine-bark-based commercial substrate and subsurface soil (2:1 v/v) and subsurface soil, cattle manure and carbonized rice husks (2:1:1 v/v/v). The subsurface soil was classified as an Argosol, and its subsurface layer was approximately 15 cm below the soil surface. The cattle manure was subjected to a stabilization process before use. Physical characterization of the different substrate compositions (Table 3) was performed by the Laboratory of Horticulture Substrate Analysis of the Federal University of Rio Grande do Sul, according to Normative Instruction N° 17 of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (BRASIL, 2007). Chemical analyses of the different substrate compositions (Table 3) were conducted by the Soil Laboratory of the Federal University of Santa Maria according to the method proposed by Tedesco et al. (1995).

Table 3. Physical and chemical characteristics of substrate compositions used in the production of mate plantlets clonal (*Ilex paraguariensis*).

Characteristic	CS+SS+V* (2:1:1 v/v/v)	CS+SS (2:1 v/v)	SS+CM+CRH (2:1:1 v/v/v)
pH H ₂ O**	5.28	4.97	6.74
Aeration space (%)	14.89	20.79	20.45
Dry density (kg m ⁻³)	530.12	590.23	723.90
Total porosity (%)	73.63	73.51	67.60
Available water (%)	18.98	20.27	24.00
Remaining water (%)	38.47	33.73	23.15
Electrical conductivity (mS cm ⁻¹)	0.66	0.89	0.46
Clay (%)	15.00	18.00	19.00
Organic matter (%)	11.90	12.90	15.70
Cation exchange capacity	14.90	24.50	27.40
Phosphorus (mg L ⁻¹)	57.00	75.40	200.10
Potassium (mg L ⁻¹)	224.00	244.00	400.00
Zinc (mg L ⁻¹)	2.90	2.20	8.80

*CS= commercial substrate, SS= subsurface soil, V= vermiculite, CM= cattle manure, CRH= carbonized rice husks. **Determined in water, dilution 1:5 (v/v).

During the experimental period, plantlets of four clones grown in the different substrate compositions were placed on benches in a screen house with 30% nylon shading and irrigated daily with a hand irrigator (3.6 L/m²). The experiment had a completely randomized 4 × 3 factorial design (clones × substrate compositions), with five replicates of four plantlets each, totaling 240 plantlets. After 30, 60, 90, and 120 days of cultivation, the plantlets' survival percentages, stem diameters, shoot heights, shoot height and stem diameter ratios and numbers of leaves were determined. Shoot height was measured from the substrate to the apex of the last-formed leaf, and stem diameter was measured at substrate level with a digital calliper.

After 120 days of cultivation, three plantlets were randomly selected from each treatment to determine their shoot and root dry masses. The plantlets were washed in tap water, sectioned at substrate level and the shoots and roots placed in a circulating air oven at 105 °C until a constant mass was obtained. The dried roots were scanned in an Epson 11000XL scanner, and root quantification was performed using WinRhizo Pro[®] software, which measured the total length, surface area, total volume and number of root tips. Then, the relationship between shoot and root

dry masses was investigated, in order to obtain the Dickson quality index (DQI; Dickson et al., 1960) according to the following equation (Eq. 1):

$$(1) \quad \text{DQI} = \frac{\text{TDM (g)}}{\frac{\text{SH (cm)}}{\text{SD (mm)}} + \text{RSR}}$$

TDM-total dry mass of plantlets (g); SH- shoot height (cm); SD- stem diameter (mm); RSR-shoot and root dry masses ratio.

To evaluate the effect of shading levels, the surviving plantlets from the previous experiment were randomly distributed on benches in the shade house without acclimation, to evaluate the effect of 50 or 80% shading screens. According to the Köppen classification, the local climate is Cfa with a monthly mean rainfall of 100 to 170 mm (ALVAREZ et al., 2013). The experiment was conducted with a completely randomized design, with two treatments containing 10 replicates of 10 plantlets each, totaling 200 plantlets. After 30, 60, 90, and 120 days of cultivation at different shading levels, the plantlets' survival percentages, stem diameters, shoot heights, shoot height and stem diameter ratios, numbers of leaves, the plantlets' *a*, *b* and total chlorophyll indices were determined. Chlorophyll determination was performed using a chlorophyllmeter (ClorofiLOG®, Falker Agricultural Automation, Brazil) on sunny days between 8:00 a.m. and 10:00 a.m. analyzing the second, fully expanded leaf from the apex to the base of each plantlet. The data are expressed as the Falker Chlorophyll Index (FCI), the value of which is proportional to the absorbance of chlorophyll.

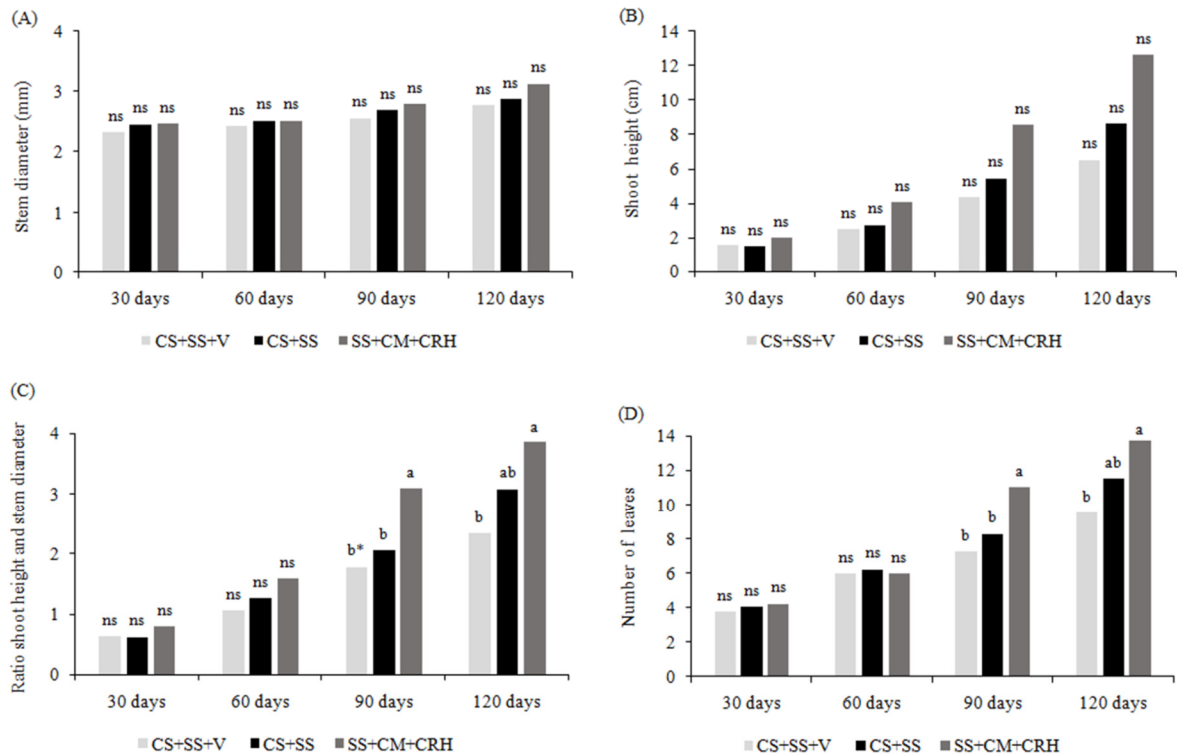
To meet the assumptions of normality, percentage data from both experiments were transformed to arcsine $\sqrt{x/100}$ and count and length data to $\sqrt{x+0.5}$ before being subjected to an analysis of variance. Significant differences between treatment means were compared by Tukey test at the 5% significance level.

RESULTS AND DISCUSSION

There was no significant interaction ($p > 0.05$) between the substrate compositions and mate clones for all traits at 30, 60, 90 and 120 days of cultivation (Figure 12; Figure 14). Up to 60 days of cultivation, all of the substrate compositions resulted in similar plantlet morphological quality (Figure 12A; Figure 12B; Figure 12C; Figure 12D). However, at 90 days of cultivation, the subsurface soil, cattle manure and carbonized rice husks compositions facilitated the production of plantlets of all the clones studied with greater morphological quality, as they presented a higher ratio between shoot height and stem diameter (Figure 12C) and number of leaves (Figure 12D), without statistical differences between commercial substrate and subsurface soil composition at 120 days of cultivation (Figure 12C; Figure 12D). In production of mate seminal seedlings, high morphological-trait values were observed when grown on

substrates containing organic components, such as cattle manure and subsurface soil at 180 days after transplanting (ZAVISTANOVICZ et al., 2017).

Figure 12. Stem diameter (A), shoot height (B), ratio between shoot height and stem diameter (C) and number of leaves (D) in mate (*Ilex paraguariensis*) plantlets produced by mini-cuttings, cultivated in different substrate compositions and evaluated at 30, 60, 90 and 120 days. CS= commercial substrate, SS= subsurface soil, V= vermiculite, CM= cattle manure, CRH= carbonized rice husks. *Treatments followed by the different letters are significantly different according to a Tukey test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant.



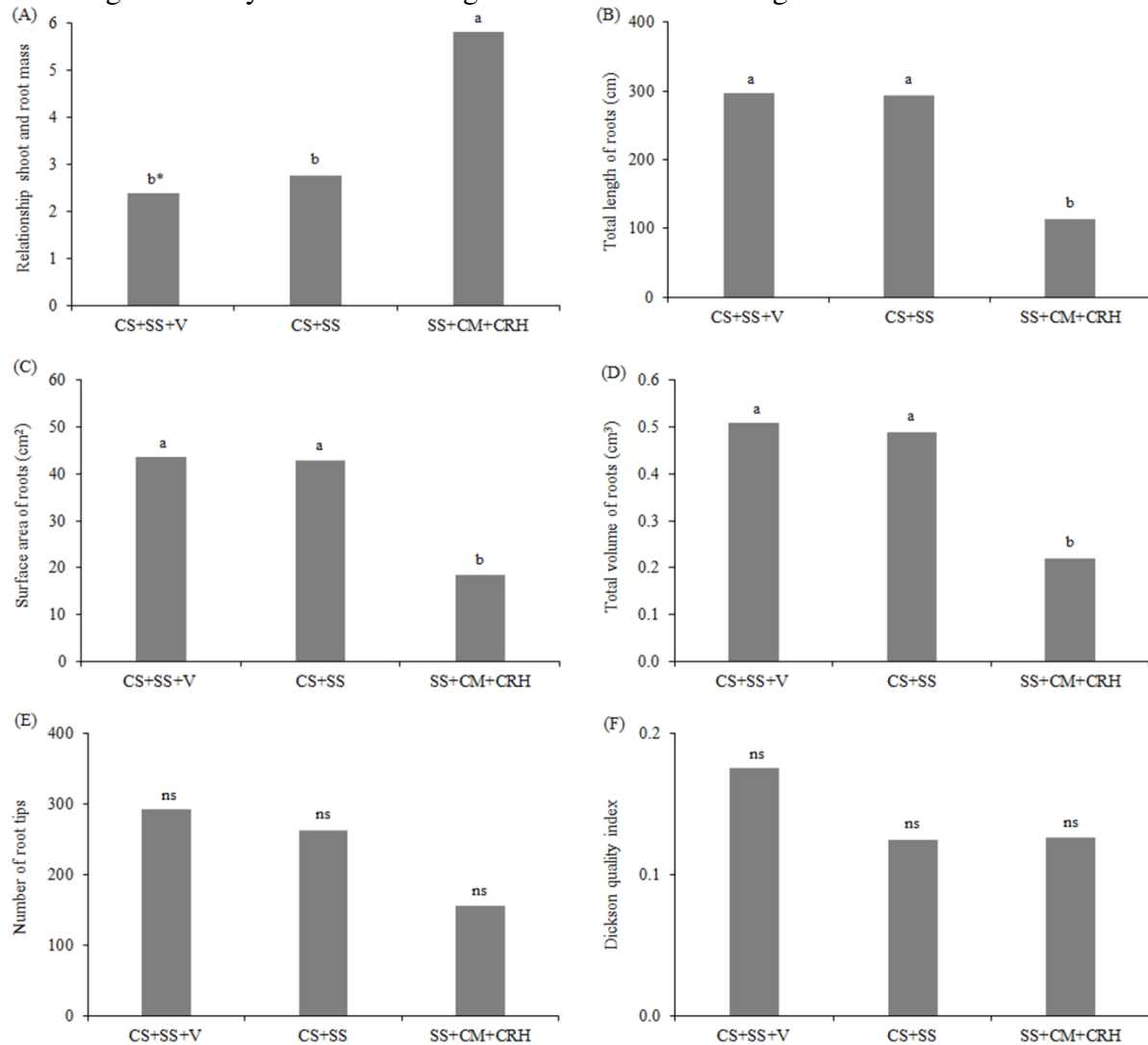
Larger development of the aerial part of clonal plantlets cultivated in subsurface soil, cattle manure, and carbonized rice husks and commercial substrate and subsurface soil composition (Figure 12C; Figure 12D) can be related to the physical characteristics of these substrate compositions, such as aeration space and dry density, which had higher values than the commercial substrate, subsurface soil and vermiculite combination (Table 3). High dry density can directly interfere with the fixation of plantlets, while high aeration space values facilitate oxygen diffusion, promoting the development of aerial parts of the plantlets. Thus, lower dry density may have resulted in weak fixation of plantlets in the substrate and high water retention capacity at lower tension (MAEDA et al., 2007) and, therefore, a lower percentage of water availability (Table 3), requiring a high frequency of plant irrigation when cultivated using a combination of commercial substrate, subsurface soil, and vermiculite combination. Caldeira et al. (2013) also observed that the addition of vermiculite reduced the water availability in the

composition of the substrates. As in the present study, irrigation frequency was the same for all treatments, in commercial substrate, subsurface soil and vermiculite combination less development of mature plantlets could have occurred, caused by water stress.

Regardless of clone, plantlets grown in subsurface soil, cattle manure, and carbonized rice husks presented the highest average value for the relationship between shoot and root dry mass (Figure 13A). However, plantlets grown in this substrate composition had lower total length (Figure 13B), surface area (Figure 13C), total root volume (Figure 13D) values than plantlets cultivated in commercial substrate, subsurface soil and vermiculite and those grown in commercial substrate and subsurface soil. It is possible that the lowest root growth in the composition containing cattle manure occurred due a combination presenting higher values of the chemical characteristics, as percentage of clay, organic matter and cation exchange capacity (Table 3). The high cation exchange capacity is indicative of fertility, as many substrates present cations that are nutrients, which was confirmed by a greater availability of phosphorus and potassium in the composition of this substrate (Table 3). Root proliferation is a strategy to acquire nutrients in infertile soils (LACLAU et al., 2004); this was probably was not necessary in subsurface soil, cattle manure, and carbonized rice husks, as this composition presented high nutrient availability.

In addition, the subsurface soil, cattle manure and carbonized rice husks composition also presented high remaining water value (Table 3), that is, that content that is not available for plant absorption (SCHAFER et al., 2015), which may have occurred due to the components of that composition having high water retention capacity, directly affecting the development of the plantlets root system (Figure 13B, 13C, 13D).

Figure 13. Relationship between shoot and root dry mass (A), total length (B), surface area (C), total volume (D), number of root tips (E) and the Dickson quality index (F) of mate (*Ilex paraguariensis*) plantlets cultivated for 120 days in different substrate compositions. CS= commercial substrate, SS= subsurface soil, V= vermiculite, CM= cattle manure, CRH= carbonized rice husks. * Treatments followed by the different letters are significantly different according to a Tukey test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant.



The subsurface soil, cattle manure and carbonized rice husks composition also had the highest concentration of zinc (8.80 mg L^{-1} ; Table 3), which may have resulted in less root development in the plantlets grown in this composition, at 120 days of cultivation (Figure 13B; Figure 13C; Figure 13D). Zinc concentrations $> 1.0 \text{ mg L}^{-1}$ were toxic for *Allium cepa* L. growth, affecting mitosis and reducing root development by 50% (PALACIO et al., 2005). The phytotoxic effects of this micronutrient were also observed in the development of forest species seedlings *Corymbia citriodora*, *Eucalyptus saligna*, and *E. dunnii*, reducing root development by 32%, 30%, and 93%, respectively, when cultivated in 980 mg kg^{-1} of soil (SILVA et al., 2015). However, the threshold of toxicity varies widely among species, and limited

information was found in the literature regarding the zinc concentration that limits the root growth of mate plantlets.

Regarding DQI, the plantlets cultivated in the three substrate compositions studied had values that ranged from 0.12 to 0.17 at 120 days of cultivation (Figure 13F). The DQI must have a minimum value of 0.20 (HUNT, 1990), so that none of the treatments analyzed is within the ideal. However, this ideal DQI value was based on the quality of *Pseudotsuga menziesii* (Mirbel Franco) and *Picea abies* (L. Karst.) seedlings and may not be the most suitable for the species analyzed in the present study. Pimentel et al. (2017) observed DQI values of 0.07 to 0.10 in mate plantlets obtained by mini-cutting and cultivated in different containers at 120 days of cultivation, which proves that the ideal range of DQI for mate is inferior to that recommended by Hunt (1990).

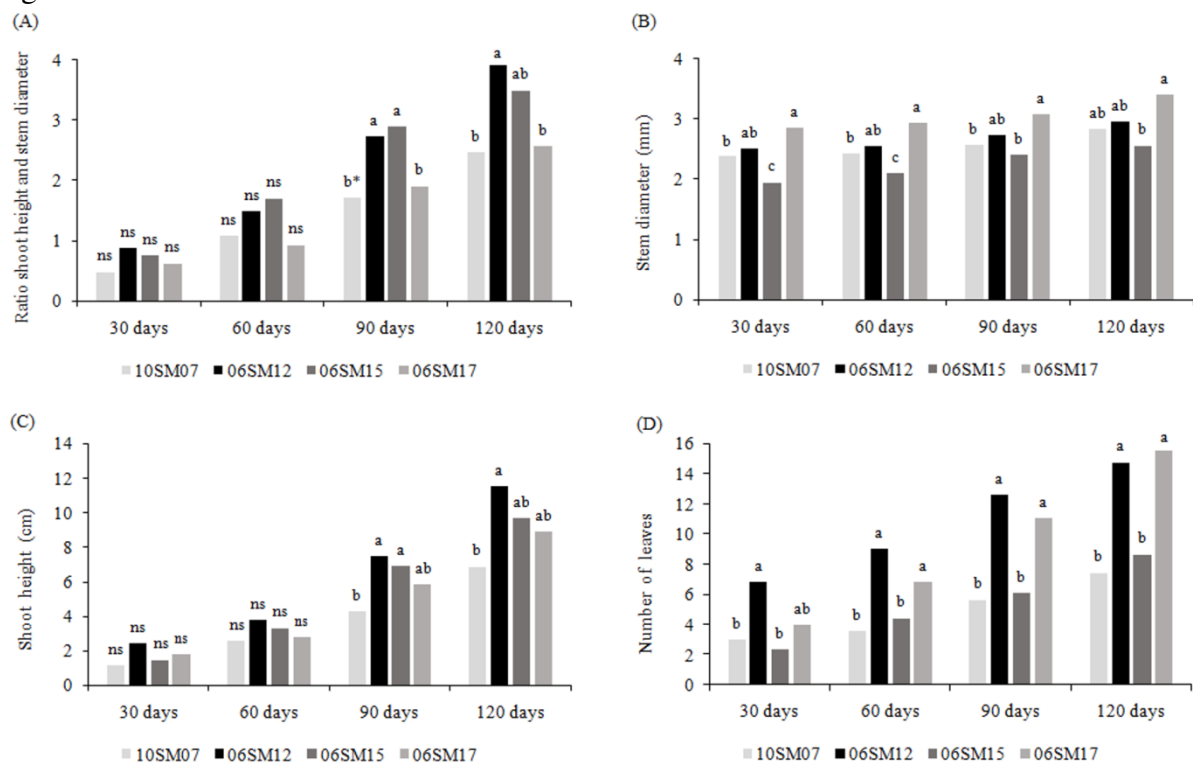
In choosing the ideal substrate compositions for the production of plantlets we must analyze the morphophysiological quality of the plantlets, and costs of each component and impact of its extraction, to reduce them, since plantlets of forest species present low added value (PIMENTEL et al., 2016). In general, in the present study, the commercial substrate and subsurface soil composition resulted in the production of plantlets with higher development in both the aerial parts and root systems (Figure 12; Figure 13), with low production costs (PINHO et al., 2018), and was recommended for the production of plantlets of clonal mate originated from mini-cutting. However, it should be noted that the component subsurface soil should be used with caution, as its extraction without adequate management criteria can damage the environment.

Regardless of substrate composition, there was no significant difference ($p > 0.05$) among the mate clones in their survival percentages, with a mean of 91.2% of live plantlets after 120 days of cultivation. Plantlet survival above 90% can be considered high, because in an experiment conducted with seminal mate seedlings, Wendling et al. (2007a) reported 60% survival, indicating that in the present study, the management practices were adequate and the environmental conditions favorable for plantlet growth and development.

Mate plantlets from mini-cuttings presented ratio between shoot height and stem diameter ranged from 2.46 to 3.91 at 120 days (Figure 14A), indicating that the plantlets of the four clones were at growth equilibrium, because the values were less than 10 (BIRCHLER et al., 1998). However, the plantlets of clones 06SM12 and 06SM17 showed greater aerial part development, since they presented the highest average stem diameters (Figure 14B), shoot height (Figure 14C), and number of leaves (Figure 14D). In addition, plantlets of clone 06SM17 did not differ significantly from the other genetic materials in the relationships between shoot and root dry mass (Figure 15A) and Dickson quality index (Figure 15F), but presented greater root-growth traits, with the highest total length (Figure 15B), surface area (Figure 15C), total volume (Figure 15D), and number of root tips (Figure 15E) at 120 days of cultivation. Studies have

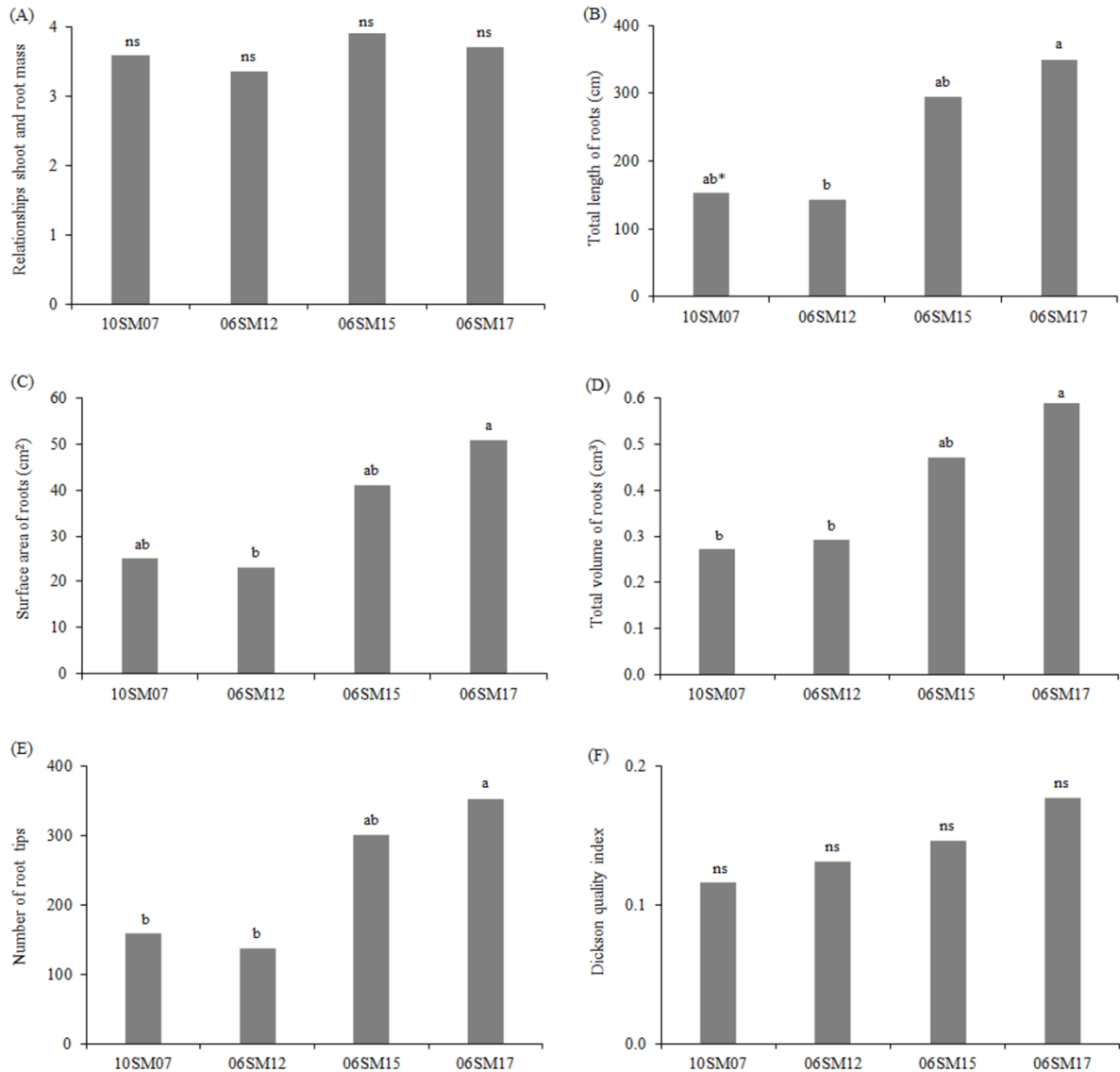
also found differences in growth of the aerial part and root system of plants of forest species derived from differentiated genetic materials (REIS et al., 2006; BATISTA et al., 2015), which were attributed to differences in nutritional efficiency of clones. Thus, future studies aiming to characterize the four mate clones regarding the efficiency of macronutrient absorption, translocation, and utilization are fundamental for the selection of clones obtained by mini-cutting.

Figure 14. Ratio between shoot height and stem diameter (A), stem diameter (B), shoot height (C) and number of leaves (D) in plantlets of four clones of mate (*Ilex paraguariensis*) produced by mini-cuttings and evaluated at 30, 60, 90 and 120 days. *Treatments followed by the different letters are significantly different according to a Tukey test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant.



In the implantation of mate commercial plantations, it is fundamental to use plantlets from clones, such as 06SM17, which features a larger root system, but also higher growth of the aerial part (Figures 14 and 15), as the leaves of this species are its commercial product. Although the trend of superiority of mate genetic material under nursery conditions to remain in field conditions is poorly understood, it is known that the plantlet clone 06SM17 can reach greater depths in the soil to obtain water and nutrients, which may result in a higher survival and development rate of the plants of this genetic material in commercial plantations, making them more suitable for environmental stress conditions.

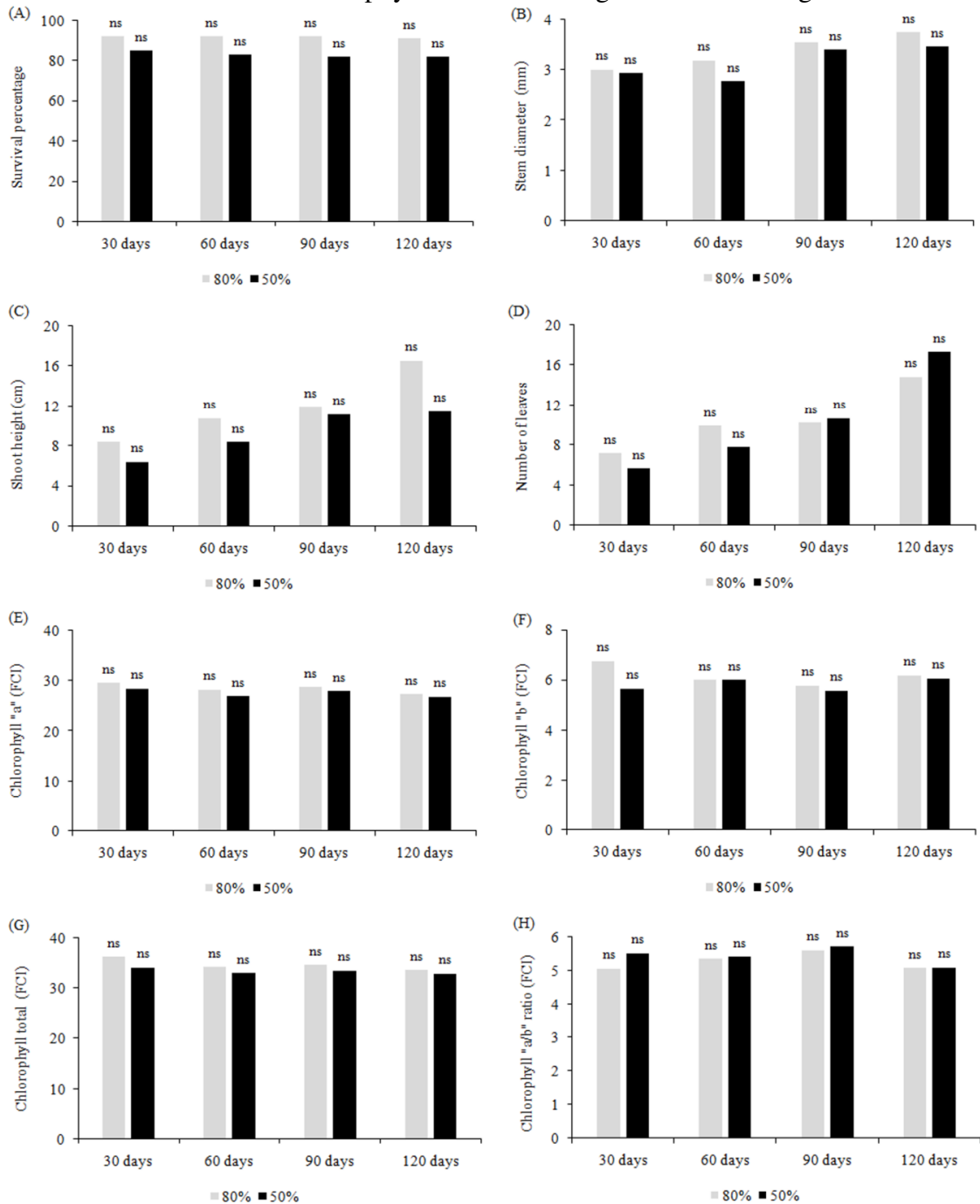
Figure 15. Relationships between shoot and root dry mass (A), total length (B), surface area (C), total volume (D), number of root tips (E) and the Dickson quality index (F) in plantlets of four clones of mate (*Ilex paraguariensis*) at 120 days of cultivation. * Treatments followed by the different letters are significantly different according to a Tukey test at the 5% significance level. ^{ns} Not significant.



Mate is a shade-grown species that grows naturally under the forest canopy, and can survive and develop under high levels of shading (POLETTI et al., 2010). In the present study, high levels of shading (50% and 80%) did not affect the survival percentage (Figure 16A), stem diameter (Figure 16B), shoot height (Figure 16C), number of leaves (Figure 16D), chlorophyll index *a* (Figure 16E), chlorophyll index *b* (Figure 16F), chlorophyll index total (Figure 16G) and relationship between chlorophyll index *a* and *b* (Figure 16H) in mate plantlets, regardless of substrate compositions and clone, throughout the experimental period. Similar results were observed in *Myrtus communis* L. (MENDES et al., 2001) and *Torreya grandis* seedlings

(TANG et al., 2015), which showed no significant differences in the chlorophyll index when cultivated at high levels of shading.

Figure 16. Survival percentage (A), stem diameter (B), shoot height (C), number of leaves (D), chlorophyll index *a* (E), chlorophyll index *b* (F), chlorophyll index total (G) and relationship between chlorophyll index *a* and *b* (H) of mate (*Ilex paraguariensis*) plantlets produced by mini-cuttings, cultivated at different levels of shade and evaluated at 30, 60, 90 and 120 days of cultivation. FCI = Falker Chlorophyll Index. ^{ns} Not significant according to the F test.



Physiological and anatomical modifications can occur when species are exposed to different levels of shading, expressing their phenotypic plasticity. However, studies have shown that shade-tolerant species with less plasticity do not exhibit or exhibit reduced adaptive modifications (PAQUETTE et al. 2007, VALLADARES; NIINEMETS, 2008), as observed in mate plantlets produced by mini-cuttings (Figure 16). Similarly, Fermino Junior; Fockink (2017) observed reduced adaptive modifications, maintaining anatomical similarity (stomatal density, polar and equatorial diameter, pore length) in seminal seedlings of mate grown in different shade levels. This reduced phenotypic plasticity comprises a general set of intrinsic characteristics of shade-tolerant species associated with conservative resource use and a high tolerance to low-light stress (GRIME; MACKEY, 2002).

The present study demonstrated that mate plantlets produced by mini-cuttings presented efficient absorption of chlorophyll in 50% and 80% of shading, which possibly results adequate photosynthetic rate of the plants. This is evidenced by the satisfactory development of the aerial part in both levels of shading studied (Figure 16), which were higher than those observed in mate plantlets also produced by mini-cutting in four different times during the year (PIMENTEL et al., 2017). Similar results have been obtained with seminal mate seedlings, which exhibited greater shoot development when grown under high levels of shading (POLETTTO et al., 2010).

In general, the results of this study suggested that commercial substrate and subsurface soil composition should be used for the production of mate plantlets by mini-cuttings. Plantlets of the 06SM17 clone stood out from the other genetic materials regarding the growth of both the aerial part and root system. Clonal plantlets of this species presented suitable development in high levels of shading (50% and 80%) in nursery conditions, demonstrating that these plants will possibly present greater survival and initial development when planted in environments under cover, and can be used in plantations with other more light-demanding species. Thus, the present study elucidated some of the factors that influence the productive process of mate plantlets by mini-cuttings, resulting in plants with satisfactory morphophysiological quality, possibly in less replanting, and reduced labor costs in the establishment of forest plantations.

CONCLUSIONS

Substrate composition affected the morphophysiological quality of mate plantlets produced by mini-cuttings, and commercial substrate and subsurface soil (2:1 v/v) was the most appropriate composition.

Mate clones differed in the morphophysiological quality of plantlets produced by mini-cuttings, with 06SM17 showing enhanced development of the aerial part and root system. Thus, plantlets of clone 06SM17 can be used for the implementation of clonal tests, in order to identify whether the morphophysiological superiority will remain under commercial planting conditions.

Mate plantlets obtained from mini-cuttings could be produced in both 50% and 80% shade.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the Brazilian Council for the Improvement of Higher Education and the National Council for Scientific and Technological Development for scholarships.

COMO AS MUDAS CLONAIAS DE ERVA-MATE RESPONDEM A DIFERENTES COMPOSIÇÕES DE SUBSTRATOS E NÍVEIS DE SOMBREAMENTO?

Resumo: A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) é espécie arbórea de grande importância econômica e socioambiental para os países da América do Sul. A mesma apresenta dificuldades na propagação por sementes, sendo os estudos relacionados à produção de mudas dessa espécie por propagação vegetativa fundamentais para a obtenção de ervais homogêneos e com alta produtividade foliar. Diante desse contexto, o presente estudo objetivou avaliar o efeito das composições de substratos, dos materiais genéticos e dos níveis de sombreamento na qualidade morfofisiológica das mudas de erva-mate produzidas por miniestaquia. Miniestacas enraizadas de quatro clones foram cultivadas em substrato comercial, terra de subsolo e vermiculita (2:1:1 v/v/v), substrato comercial e terra de subsolo (2:1 v/v) ou terra de subsolo, esterco bovino e casca de arroz carbonizada (2:1:1 v/v/v). Após 120 dias, as mudas foram aleatoriamente distribuídas em bancadas para avaliar o efeito do sombreamento de 50 e 80%. Independentemente do clone, a composição substrato comercial e terra de subsolo permitiu a produção de mudas com desenvolvimento satisfatório tanto da parte aérea, quanto do sistema radicial aos 120 dias de cultivo. O clone 06SM17 possibilitou a produção de mudas com altas médias de diâmetros de colo, altura da parte aérea, número de folhas, comprimento total, área superficial, volume total de raízes e número de extremidades das raízes. Os níveis de sombreamento não afetaram o diâmetro de colo, a altura da parte aérea, o número de folhas e os índices de clorofila *a*, *b* e total. Mudas clonais de erva-mate com satisfatória qualidade morfofisiológica podem ser produzidas em substrato comercial e terra de subsolo (2:1 v/v) em ambiente com 50% ou 80% sombreamento.

Palavras-chave: Espécie florestal. *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. Produção de mudas. Propagação vegetativa.

REFERENCES

- ALVAREZ, C. A.; STAPE, J. L.; SETELHAS, P. C.; GONÇALVES, J.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>.
- BATISTA, R. O.; FURTINI NETO, A. E.; DECCETTI, S. F. C. Eficiência nutricional em clones de cedro-australiano. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 43, n. 107, p. 647-655, 2015.
- BIRCHLER, T.; ROSE, R.W.; ROYO, A.; PARDOS, M. La planta ideal: revision del concepto, parámetros defintorios e implementacion practica. **Investigacion Agraria, Sistemas y Recursos Forestales**, Madrid, v. 7, n. 1-2, p. 109-121, 1998. <https://recyt.fecyt.es/index.php/IA/article/view/2806/2169>. 29 Dez. 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 17**. Brasília: MAPA, 2007. 8 p.
- BRONDANI, G. E.; ARAUJO, M. A.; WENDLING, I.; SANTIN, I.; BENEDETTI, D.; ROVEDA, E. L.; ORRUTÉA, A. G. Ambiente de enraizamento e substratos na miniestaquia de erva mate. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 3, p. 257-267, 2007. <https://doi.org/10.5380/rsa.v8i3.9540>.
- BRONDANI, G. E.; ARAUJO, M. A.; WENDLING, I.; KRATZ, D. Enraizamento de miniestacas de erva-mate sob diferentes ambientes. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 57, p. 29-38, 2008. <https://doi.org/10.4336/2012.pfb.57.29>.
- CALDEIRA, M. V.; DELARMELINA, W. M.; PERONI, L.; GONÇALVES, E. O.; SILVA, A. G. Lodo de esgoto e vermiculita na produção de mudas de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 2, p. 155-163, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632013000200002>.
- CARON, B. O.; SCHMIDT, D.; MANFRON, P. A.; BEHLING, E. E.; BUSANELLO, C. Eficiência do uso da radiação solar por plantas *Ilex paraguariensis* A. ST. HIL. cultivadas sob sombreamento e a pleno sol. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 2, p. 257-265, 2014. <http://dx.doi.org/10.5902/1980509814563>.
- CUNHA, A. M.; CUNHA, G. M.; SARMENTO, R. A.; CUNHA, G. M.; AMARAL, J. F. T. Efeito de diferentes substratos sobre o desenvolvimento de mudas de *Acacia* sp. **Revista**

- Árvore*, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 207-214, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622006000200007>.
- DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forest Chronicle*, Mattawa, v. 36, p. 10-13, 1960. <https://doi.org/10.5558/tfc36010-1>.
- FERMINO JUNIOR, P. C. P.; FOCKINK, G. D. Anatomia foliar de plantas jovens de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill.) sob diferentes níveis de sombreamento. *Scientia Agraria Paranaensis*, Marechal Cândido Rondon, v. 16, n. 3, p. 335-341, 2017. <http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v16n3p335-341>.
- FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Variação do desenvolvimento embrionário das sementes de erva-mate. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, n. 54, p. 105-108, 2007. <https://doi.org/10.4336/2012.pfb.54.105>.
- GRIME, J. P.; MACKEY, J. M. L. The role of plasticity in resource capture by plants. *Evolutionary Ecology*, Netherlands, v. 16, p. 299-307, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1019640813676>.
- HERAUT-BRON, V.; ROBIN C.; VARLET-GRANCHER, C.; AFIF, D.; GUCKERT, A. Light quality (red:far-red ratio): does it affect photosynthetic activity, net CO₂ assimilation, and morphology of young white clover leaves? *Canadian Journal of Botany*, v. 77, p. 1425-1431, 1999. <https://doi.org/10.1139/b99-099>.
- HUNT, G. A. Effect of styroblock design and cooper treatment on morphology of conifer seedlings. In: ROSE, R.; CAMPBELL, S. J.; LANDIS, T. D. Target seedling symposium, meeting of the western forest nursery associations, general technical report RM-200. 1990, Roseburg: **Proceedings...** Collins: United States Department of Agriculture, Forest Service, 1990. p. 218-222.
- KRATZ, D.; PIRES, P. P.; STUEPP, C. A.; WENDLING, I. Produção de mudas de erva-mate por miniestaquia em substratos renováveis. *Revista Floresta*, Curitiba, v. 45, n. 3, p. 609-616, 2015. <https://doi.org/10.5380/rf.v45i3.36531>.
- LACLAU, J. P.; TOUTAIN, F.; M'BOU, A. T.; ARNAUD, M.; JOFFRE, R.; RANGER, J. The function of the superficial root mat in the biogeochemical cycles of nutrients in Congolese Eucalyptus plantations. *Annals of Botany*, Oxford, v. 93, p. 249-261, 2004. <https://doi.org/10.1093/aob/mch035>.
- MAEDA, S.; DEDECEK, R. A.; AGOSTINI, R. B.; ANDRADE, G. C.; SILVA, H. D. da. Caracterização de substratos para a produção de mudas de espécies florestais elaborados a partir de resíduos orgânicos. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, n. 54, p. 97-104, 2007.

- MENDES, M. M.; GAZARINI, L. C.; RORIGUES, M. L. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments - effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 45, p. 165-178, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(01\)00073-9](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(01)00073-9).
- OLIVEIRA, M. C. et al. Enraizamento de estacas para produção de mudas de espécies nativas de mata de galeria. Brasília, 2001. 4 p. (Recomendação Técnica 41).
- PALACIO, S. M.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; GALANTE, R. M.; ZENATTI, D. C.; SEOLATTO, A. A.; LORENZ, E. K.; ZACARKIM, C. E.; ROSSI, N.; RIZZUTTO, M. A.; TABACNIKS, M. H. Correlation between heavy metal ions (copper, zinc, lead) concentrations and root length of *Allium cepa* L. in polluted river water. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, p. 191-196, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132005000400024>.
- PAQUETTE, A.; BOUCHARD, A.; COGLIASTRO, A. Morphological plasticity in seedlings of three deciduous species under shelterwood under-planting management does not correspond to shade tolerance ranks. **Forest Ecology and Management**, Netherlands, v. 241, n. 1, p. 278-287, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/J.FORECO.2007.01.004>.
- PIMENTEL, L. D.; BRUCKNER, C. H.; MANFIO, C. E.; MOTOIKE, S. Y.; MARTINEZ, H. E. P. Substrate, lime, phosphorus and topdress fertilization in macaw palm seedling production. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 40, n. 2, p. 235-244, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-67622016000200006>.
- PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; PEDROSO, M. F.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Morphophysiological quality of yerba mate plantlets produced by mini-cuttings. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 6, p. 3515-3528, 2017. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n6p3515>.
- PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; KIELSE, P.; RODRIGUES, M. B.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 559-570, 2019. <https://doi.org/10.5902/1980509827009>.
- PINHO, E. K. C.; LOPES, A. N. K.; COSTA, A. C.; SILVA, A. B. V.; VILAR, F. C. M.; REIS, R. G. E. Substratos e tamanhos de recipiente na produção de mudas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.). **Ciência Agrícola**, Rio Largo, v. 16, n. 1, p. 11-19, 2018. <http://dx.doi.org/10.28998/rca.v16i1.4303>.
- POLETTO, I.; MUNIZ, M. F. B.; CECONI, D. E.; MEZZOMO, R.; RODRIGUES, J. Influência da inoculação de *Fusarium* spp. e níveis de sombreamento no crescimento e

- desenvolvimento da erva-mate. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 20, n. 3, p. 513-521, 2010. <http://dx.doi.org/10.5902/198050982065>.
- RAKOCEVIC, M.; MARTIM, S. F. Time series in analysis of yerba-mate biennial growth modified by environment. **International Journal of Biometeorology**, Ohio, v. 55, p. 161-171, 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s00484-010-0322-4>.
- REIS, G. G. dos; REIS, M. G. F.; FONTAN, I. C. I.; MONTE, M. A.; GOMES, A. N.; OLIVEIRA, C. H. R. de. Crescimento de raízes e da parte aérea de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla* e de *Eucalyptus camaldulensis* X *Eucalyptus spp.* submetidos a dois regimes de irrigação no campo. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 6, p. 921-931, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622006000600007>.
- SÁ, F. P. de.; PORTES, D. C.; WENDLING, I.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Miniestaquia de erva-mate em quatro épocas do ano. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 1431-1442, 2018. <http://dx.doi.org/10.5902/1980509835051>.
- SANTIN, D.; WENDLING, I.; BENEDETTI, E. L.; MORANDI, D.; DOMINGOS, D. M. Sobrevivência, crescimento e produtividade de plantas de erva-mate produzidas por miniestacas juvenis e por sementes. **Revista Ciência Florestal**, v. 25, n. 3, p. 571-579, 2015. <http://dx.doi.org/10.5902/1980509819608>.
- SANTOS-MOURA, S. S.; ALVES, E. U.; URSULINO, M. M.; BRUNO, R. L. A.; ANJOS NETO, A. P. dos. Effect of shading on *Dimorphandra gardneriana* Tul. seedling production. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 34, n. 5, p. 1147-1157, 2018. <https://doi.org/10.14393/BJ-v34n5a2018-39412>.
- SCHAFER, G.; SOUZA, P. V. D. de.; FIOR, C. S. Um panorama das propriedades físicas e químicas de substratos utilizados em horticultura no sul do Brasil. **Ornamental Horticulture**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 299-306, 2015. <https://doi.org/10.14295/oh.v21i3.735>.
- SILVA, F. R.; WEIRICH, S. W.; DA ROS, C. O.; SCHEID, D. L.; GROLI, A. L.; VIEL, P. Acumulação e translocação de zinco em mudas de espécies do gênero *Eucalyptus* e *Corymbia*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 11, p. 1114-1120, 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n11p1114-1120>.
- TANG, H.; HU, Y.Y.; YU, W.W.; SONG, L.L.; WU, J. S. Growth, photosynthetic and physiological responses of *Torreya grandis* seedlings to varied light environments. **Trees**, Berlin, n. 29, p. 1011-1022, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s00468-015-1180-9>.
- TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 215 p.

- VALLADARES, F.; NIINEMETS, U. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, New York, v. 39, p. 237-257, 2008. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173506>.
- WENDLING, I.; GUASTALA, D.; DOMINGOS, D. M. Substratos para produção de mudas de erva-mate em sacos plásticos. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 52, p. 21-36, 2006.
- WENDLING, I.; GUASTALA, D.; DEDECEK, R. Características físicas e químicas de substratos para produção de mudas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 209-220, 2007a. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622007000200003>.
- 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, 2007b. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2007000200019>.
- ZAVISTANOVICZ, T. C.; ARAUJO, M. M.; AIMI, S. C.; FLORES, R.; BERGHETTI A. L. P.; DEPONTI, G. Morphophysiological responses of *Ilex paraguariensis* seedlings to different substrates and fertilizations. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 21, n. 2, p. 111-115, 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v21n2p111-115>.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas últimas décadas, com a crescente descoberta de novos subprodutos, principalmente fármacos e alimentos, oriundos das folhas de erva-mate, houve um fortalecimento do interesse dos produtores rurais pelo sistema produtivo, no qual a espécie está incluída. No entanto, a coleta de sementes sem origem genética identificada, a escassez de informações referente aos mecanismos de dormência das sementes, o método de estratificação tradicionalmente utilizado para a superação da dormência que poderá acarretar no desenvolvimento de patógenos nos propágulos, tem resultado na produção de mudas de qualidade genética e morfofisiológica inadequada para a implantação de ervais de alto padrão produtivo e de qualidade foliar expressiva.

A propagação vegetativa pode minimizar os problemas silviculturais que ocorrem com a produção de mudas seminais de erva-mate, porém estudos recentes têm demonstrado baixa capacidade rizogênica de determinados materiais genéticos desta espécie, o que tem limitado o seu uso para a produção de mudas em escala comercial. Os resultados deste estudo mostram que a capacidade rizogênica de miniestacas de diferentes materiais genéticos de erva-mate não é influenciada pela presença de barreiras anatômicas ou pelo acúmulo de compostos fenólicos, mas pode estar associada à presença e distribuição de grãos de amido nos propágulos vegetativos. Estudos adicionais para analisar a amilogênese e os açúcares derivados da amilólise são necessários para elucidar as respostas metabólicas que ocorrem em miniestacas desta espécie no decorrer do processo rizogênico.

Além disso, há concepções de que mudas oriundas da propagação vegetativa podem apresentar sistema radicial não funcional ou com funcionalidade reduzida, acarretando em futuros tombamentos das plantas nos ervais. Os experimentos conduzidos neste trabalho demonstraram que as raízes formadas em miniestacas de erva-mate exibem elementos de vasos e células traqueídes, o que indica a funcionalidade deste sistema radicial adventício, bem como a similariedade anatômica das raízes formadas em propágulos vegetativos tratados ou não com auxina. Esses resultados foram confirmados pelo satisfatório desenvolvimento, crescimento e produtividade foliar, que as mudas oriundas da miniestaquia estão apresentando em testes clonais instalados no ano de 2015 em três diferentes áreas produtivas no município de Ilópolis, Rio Grande do Sul. O trabalho em andamento irá visar a seleção efetiva dos melhores clones de erva-mate para uso comercial. Para complementação, sugere-se estudos futuros abordando

a análise molecular, buscando caracterizar o genoma e realizar o “fingerprinting” dos clones de erva-mate que foram estudados no decorrer deste trabalho e que compõem os testes clonais.

Quanto aos fatores que influenciam no enraizamento adventício e na qualidade das mudas de erva-mate produzidas por miniestaquia, foi elucidado que miniestacas de gema única com até 2,5 cm de comprimento apresentam satisfatório enraizamento adventício e podem ser usadas para maximizar a produção de mudas dessa espécie. A qualidade das mudas foi dependente da composição de substratos e níveis de sombreamento, sendo observadas plantas clonais de erva-mate com adequada qualidade morfofisiológica, quando foram utilizados substrato comercial e terra de subsolo (2:1 v/v) e condições de 50 e 80% de sombreamento. Sugere-se a realização de novos estudos com substratos alternativos e sustentáveis, provenientes do resíduo do próprio processo produtivo de erva-mate comercial e outros resíduos agroindustriais, manejos de adubação de base e de cobertura, bem como de malhas de sombreamento com diferentes colorações para a rustificação, buscando a redução do tempo necessário e dos custos do processo de produção de mudas de erva-mate por miniestaquia.

Os resultados deste estudo também demonstraram que o índice de qualidade de Dickson (IQD), o qual pondera os resultados de várias características empregadas na avaliação da qualidade das mudas, mesmo em plantas de erva-mate oriundas da miniestaquia que apresentaram sobrevivência e desenvolvimento satisfatório em testes clonais, foi inferior a 0,20, tal como recomendado por Hunt (1990). À vista disso, afirma-se que o padrão anteriormente estabelecido para mudas de espécies coníferas, não é adequado para a avaliação de qualidade de mudas desta espécie. Assim, recomenda-se estudos futuros buscando definir a faixa ideal do IQD para avaliação de mudas de erva-mate por miniestaquia, a qual poderá servir de embasamento para outros trabalhos com espécies nativas do Brasil, as quais diferem morfológicamente de espécies arbóreas exóticas, para as quais esse índice foi desenvolvido.

REFERÊNCIAS

- AHKAMI, A. H. et al. Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings: involvement of wound response and primary metabolism. **New Phytologist**, v.181, p. 613-625, 2009.
- ALMEIDA, J. P.; ZANATTA, B.; WINGE, H. Avaliação do efeito do endocarpo na germinação da semente de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil., Aquifoliaceae). In: Annals II Congresso Sul-Americano da Erva-Mate e III Reunião Técnica da Erva-Mate, **Anais...**Porto Alegre: RS, 2000.
- AMARAL, W. et al. Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de louro (*Laurus nobilis* L.). **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 11, n. 2, p. 59-63, 2013.
- ANTUNES, A.; CARDOSO, D. S.; PAULA, C. S. Efeito da *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (erva mate) no controle da obesidade. **Visão Acadêmica**, v. 18, n. 1, p. 14-26, 2017.
- ASSIS, T. F. et al. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwood with emphasis on *Eucalyptus*. **Proceedings of plantation forest biotechnology for the 21st century**. New Delhi: Research Signpost, p. 303-333, 2004.
- BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul**: guia de identificação e interesse ecológico. 1. ed. Instituto Souza Cruz. 2002, 326 p.
- BADILLA, Y.; XAVIER, A.; GAMBOA, M. O. Storage time effect on mini-cuttings rooting in *Tectona grandis* Linn F. Clones. **Revista Árvore**. v. 41, n. 3, 2017.
- BANDEIRA, F. S. et al. Aclimatização *ex vitro* de plantas propagadas pela enxertia *in vitro* de clones de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis*. **Revista Árvore**, v. 31, n. 5, p. 773-781, 2007.
- BANDURSKI, R. S. et al. **Auxin biosynthesis and metabolism**. In: Davies PJ (Eds), ed. *Plant Hormones*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. p. 39-65.
- BARBOSA, T. P. et al. Crescimento e qualidade de mudas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* em diferentes substratos. **Revista Ciência Agrária**, v. 62, 2019.
- BASTOS, D. C. et al. Propagação da pitaya ‘vermelha’ por estaquia. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 6, p. 1106-1109, 2006.
- BASTOS, D. H. M. et al. Yerba mate: pharmacological properties, research and biotechnology. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 37-46, 2007.
- BAUER, L. M. et al. Plant genotype, juvenility and mechanisms of inhibition of rooting *Persoonia virgata* R. Br. cuttings. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 39, p. 1029-1034, 1999.

- BEAKBANE, A. B. Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. **Nature**, v. 192, n. 1, p. 954-955, 1961.
- BELLINI, C. et al. Adventitious Roots and Lateral Roots: Similarities and Differences. **Annual Reviews Plant Biology**, v. 65, p. 639-666, 2014.
- BERTÉ, K. A. S. Desenvolvimento de gelatina funcional de erva-mate. **Revista Ciência Rural**, v. 41, n. 2, p. 354-360, 2011.
- BITENCOURT, J. et al. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 3, p. 277-281, 2009.
- BOLLMARK, M. et al. Variation in endogenous cytokinin content during adventitious root formation in pea cuttings. **Journal of Plant Physiology**, v. 132, p. 262-265, 1988.
- BONFANTI JUNIOR, E. A.; LENGOWSKI, E. C. LUDKA JUNIOR, A. Mapeamento do processo produtivo de erva-mate. **Revista Internacional de Ciências**, v. 08, n. 01, p. 82-98, 2018.
- BRACESCO, N. et al. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 378-384, 2011.
- BRASIL. Lei n. 10.711, de 5 de agosto de 2003. Dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudanças - SNSM, e dá outras providências. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**, Poder executivo, Brasília, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Serviço Nacional de Proteção de Cultivares. **CultivarWeb**. Disponível em: <<http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/>>. Acesso em: 27 fev. 2020.
- BRISSETE, J. C. et al. Container Seedlings. In: DURYE, M.L.; DOUGHERTY, P.M. (Eds). **Forest regeneration manual**, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 117-41, 1991.
- BRITO, F. C. et al. **Estágios de maturação dos frutos de erva-mate, *Ilex paraguariensis***. Comunicado Técnico 433, 2019. 10 p.
- BRYANT, P. H.; TRUEMAN, S. J. Stem Anatomy and Adventitious Root Formation in cuttings of *Angophora*, *Corymbia* and *Eucalyptus*. **Forests**, v. 6, p. 1227-1238, 2015.
- BRONDANI, G. E. et al. Enraizamento de miniestacas de erva-mate sob diferentes ambientes. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 57, p. 29-38, 2008.
- BRONDANI, G. E. et al. Composições de substratos e ambientes de enraizamento na estaquia de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. **Floresta**, v. 39, n. 1, p. 41-49, 2009.
- BRONDANI, G. E. **Aspectos morfofisiológicos na clonagem de *Eucalyptus benthamii***. 2012. 186 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

BRONDANI, G. E. et al. Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii*: efeito do genótipo, aib, zinco, boro e coletas de brotações. **Cerne**, v. 20, n. 1, p. 147-156, 2014.

BUDOWSKI, G. Distribution on tropical american rain forest species in the light of sucessional processes. **Turrialba**, v. 15, n. 1, p. 40-42, 1965.

BUTZKE, A. G. et al. Produção de mudas de paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke) em diferentes tipos de substratos, recipientes e níveis de sombreamento em Rio Branco, Acre. **Enciclopédia Biosfera**, v. 15, n. 27, p. 254-263, 2018.

CALDEIRA, M. V. W. et al. Uso do resíduo de algodão no substrato para produção de mudas florestais. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 6, n. 2, p. 191-202, 2008.

CALDEIRA, M. V. et al. Lodo de esgoto e vermiculita na produção de mudas de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 2, p. 155-163, 2013.

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 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas e da Saúde) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2003.

CARDOZO JUNIOR, E. L.; MORAND, C. Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 440-454, 2016.

CARNEIRO, J. G. A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais.** Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995. 451 p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras.** 1. Ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.

CARVALHO, M. A. D. et al. Quality of clonal seedlings of *Tectona grandis* Linn F. rooted in different concentrations of indolebutyric acid. **Floresta**, v. 49, n. 3, p. 469-476, 2019.

CASAGRANDE JUNIOR J. G. et al. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 2219-2223, 1999.

CASTRO, H. G. et al. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabólitos Secundários.** 2. ed. Viçosa: Visconde do Rio Branco, 2004. 113 p.

CAHUÊ, F. et al. *Ilex paraguariensis*, exercise and cardioprotection: A retrospective analysis. **Journal of Functional Foods**, v. 53, p. 106-108, 2019.

CHECHI, L. A.; SCHULTZ, G.; FERRPNATTO, E. M. O.; MONTAGNER, J. M. Ativos territoriais e desenvolvimento: estudo da articulação pela indicação geográfica da erva-mate no polo ervateiro Alto Taquari - RS. **Estratégia e Desenvolvimento**, v. 1, n. 1, p. 16-34, 2017.

COELHO, G. et al. Populational diversity on leaf morphology of maté (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 1, p. 47-51, 2002.

COOPER, W. C. Hormones in relation to root formation on stem cuttings. **Plant Physiology**, v. 10, p. 789-794, 1935.

CORREA, G. **Controle-genético do enraizamento de estacas de erva-mate [*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire]**. 1995. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1995.

COSTA, C. T. et al. When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. 133, p. 1-19, 2013.

CUQUEL, F. L.; CARVALHO, M. L. M.; CHAMMA, H. M. C. P. Avaliação de métodos de estratificação para a quebra de dormência de sementes de erva-mate. **Scientia Agricola**, v. 51, n. 3, p. 415-421, 1994. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161994000300006&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 9 Jan. 2020.

DALLABRIDA, V. R. et al. Com erva-mate não se faz só chimarrão! Situação atual e perspectivas de inovação no setor ervateiro do planalto norte catarinense. **Desenvolvimento Regional em debate**, v. 6, n. 2, p. 247-273, 2016.

DARUS, H. A. et al. Vegetative propagation of *Acacia mangium* by stem cuttings, the effect of seedling age and phyllode number on rooting. **Journal of Tropical Science**, v. 2, n. 4, p. 224-279, 1990.

DELARMELINA, W. M. et al. Diferentes Substratos para a Produção de Mudanças de *Sesbania virgata*. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 2, p. 224-233, 2014.

DELBARRE, A. et al. Comparison of mechanisms controlling uptake and accumulation of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, naphthalene-1-acetic acid, and indole-3-acetic acid in suspensioncultured tobacco cells. **Planta**, v. 198, p. 532-541, 1996.

DENAXA, N. K. et al. Assigning a role to the endogenous phenolic compounds on adventitious root formation of olive stem cuttings. **Journal of Plant Growth Regulation**, 2019.

DIAS-FILHO, M. B. Physiological response of *Solanum crinitum* Lam. to contrasting light environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 8, p. 789-79, 1997.

DIAS, P. C. et al. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 72, p. 453-462, 2012.

DIAS, P. C. et al. Propagação vegetativa de *Schizolobium amazonicum* por estaquia. **Cerne**, v. 21, n. 3, p. 379-386, 2015.

DE KLERK, G. J. et al. The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. **In Vitro Cellular & Developmental Biology**, v. 35, p. 189-199, 1999.

DE KLERK, G. J. et al. Effects of phenolic compounds on adventitious root formation and oxidative decarboxylation of applied indoleacetic acid in *Malus* 'Jork 9'. **Plant Growth Regulation**, v. 63, p. 175-185, 2011.

DOMINGUES, S. et al. Regrowth of yerba mate plants (*Ilex paraguariensis* A. St. - hill.) submitted to dynamized high-dilution preparations. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 36, n. 6, p. 1-11, 2019.

DRUEGE, U. et al. Relation between nitrogen status, carbohydrate distribution and subsequent rooting of chrysanthemum cuttings as affected by pre-harvest nitrogen supply and cold-storage. **Annals of Botany**, v. 85, p. 687-701, 2000.

DRUEGE, U. Involvement of carbohydrates in survival and adventitious root formation of cuttings within the scope of global horticulture. **Adventitious Root Formation of Forest Trees and Horticultural Plants: From Genes to Applications**, p. 187-208, 2009.

DRUEGE, U. et al. Molecular and physiological control of adventitious rooting in cuttings: phytohormone action meets resource allocation. **Annals of Botany**, v. 123, p. 929-949, 2019.

DUARTE, M. M. et al. Rooting of yerba mate cuttings with different lengths. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 5, n. 1, p. 05-11, 2019.

DUTRA, T. R. et al. Desenvolvimento inicial de mudas de copaíba sob diferentes níveis de sombreamento e substratos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 321-329, 2012.

EDWARDS, R. A.; THOMAS, M. B. Observations on physical barriers to root formation in cuttings. **Plant propagator**, v. 26, n. 2, p. 6-8, 1980.

ELBASHEER, Y. H. A.; ELKALIFA, W. A. Anatomy of stem cuttings in relation to adventitious rooting of some forest trees. **University of Africa Journal of Science**, v. 1, n. 1, p. 62-76, 2010.

ENGEL, M. L. et al. Enraizamento de miniestacas de diferentes clones de *Acacia mearnsii* de Wildeman com aplicação de AIB. **Revista Espacios**, v. 38, n. 23, p. 8-20, 2017.

ENGEL, M. L. et al. Influence of stem cutting position, leaves condition and size of minicuttings in rooting of black wattle. **Agriculture & Forestry**, v. 65, n. 1, p. 191-199, 2019.

FABIANE, K. C. et al. **Tentativa de propagação de erva-mate por estaquia**. Seminário: Sistemas de produção agropecuária - ciências agrárias, animais e florestais, 2010. Disponível em: <<http://revistas.utfpr.edu.br/dv/index.php/sspa/article/view/320>>. Acesso em: 24 Jun. 2017.

FACHINELLO, J. C. et al. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília, DF: [s.n.], 2005. 221 p.

FAO. Food and agriculture organization. **FAOSTAT: crops and livestock products**, 2019. Disponível em:<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/tp>>. Acesso em: 26 Jan. 2019.

- FERREIRA, A. G.; HU, C. Y. Light-mediated inhibition of *in vitro* late embryogeny of *Ilex*. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v. 114, p. 819-823, 1989.
- FIGUEIREDO, F. A. M. M. A. et al. Correlations between *Eucalyptus* clonal cutting quality and performance after planting. **Floresta e Ambiente**, v. 26, n. 4, 2019.
- FLECK, J. D. et al. Immuno-adjutant saponin production in seedlings and micropropagated plants of *Quillaja brasiliensis*. **In Vitro Cellular & Developmental Biology**, v. 45, p. 715-720, 2009.
- FONSECA, T. G. **Produção de mudas de hortaliças em substratos de diferentes composições com adição de CO₂ na irrigação**. 2001. 72 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2001.
- FONSECA, E. P. et al. Padrão de qualidade de mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume, produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 515-523, 2002.
- FOSTER, G. S. et al. Loblolly pine cutting morphological traits: effects on rooting and field performance. **New Forests**, v. 19, n. 3, p. 291-306, 2000.
- FOWLER, J. A. P. et al. Variação do desenvolvimento embrionário das sementes de erva-mate. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 54, p. 105-108, 2007.
- FRICK, E. M.; STRADER, L. C. Roles for IBA-derived auxin in plant development. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 2, p. 169-177, 2018.
- FRIML, J.; PALME, K. Polar auxin transport: old questions and new concepts? **Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 273-284, 2002.
- GASPARIN, E. et al. Influência do substrato e do volume de recipiente na qualidade das mudas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. em viveiro e no campo. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, p. 553-563, 2014.
- GATINEAU, F. et al. Quantitative variations of indolyl compounds including IAA, IAA-aspartate and serotonin in walnut microcuttings during root induction. **Biologia Plantarum**, v. 39, p. 131-137, 1997.
- GAZZANA, D.; PIMENTEL, N.; MANTOVANI, N. C. Sobrevivência de minicepas e produtividade de miniestacas de erva-mate em sistema de minijardim seminal. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 18, n. 2, p. 175-179, 2019.
- GOETZ, P. Maté, *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Aquifoliaceae). **Phytothérapie**, v. 11, n. 2, p. 116-120, 2013.
- GOMES, J. M. et al. Parâmetros morfológicos na avaliação da qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 26, n. 6, p. 655-664, 2002.
- GOMES, J. M.; PAIVA, H. N. **Viveiros florestais: propagação sexuada**. 3. Ed. Viçosa, MG: UFV, 2006.

- GOMES, A. D. V.; FREIRE, A. L. O. Crescimento e qualidade de mudas de cedro (*Cedrela fissilis* L.) em função do substrato e sombreamento. **Scientia Plena**, v. 15, p. 110203, 2019.
- GONÇALVES, J. L. M.; POGGIANI, F. Substratos para produção de mudas florestais. In: Congresso Latino Americano de Ciência do Solo, 13, **Anais...** Águas de Lindóia: SP, 1996.
- GOODIN, J. R. Anatomical changes associated with juvenile-to-mature growth phase transition in *Hedera*. **Nature**, v. 208, n. 5009, p. 504-505, 1965.
- GOULART, P. B. et al. Morfoanatomia da rizogênese adventícia em miniestaca de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, p. 521-532, 2014.
- GRAÇA, M. E. C. et al. **Estaquia de erva-mate**. Colombo: Embrapa Florestas (Comunicado Técnico, 18), 1988. 8 p.
- GRATIERI-SOSSELLA, A. et al. Propagação da corticeira do banhado (*Erythrina cristagalli* L.) (Fabaceae) pelo processo de estaquia. **Revista Árvore**, v. 32, n. 1, p. 163-171, 2008.
- GROPPO, M. Aquifoliaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2015. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB50>>. Acesso em: 9 Jul. 2019.
- GUGLIUCCI, A.; BASTOS, D. H. M. Chlorogenic acid protects paraoxonase 1 activity in high density lipoprotein from inactivation caused by physiological concentrations of hypochlorite. **Fitoterapia**, v. 80, p. 138-142, 2009.
- HANNERZ, M. et al. Rooting success of cuttings from young *Picea abies* in transition to flowering competent phase. **Scandinavian Journal of Forest Research**, v. 14, n. 6, p. 498-504, 1999.
- HARTMANN, H. T et al. **Plant propagation: principles and practices**. 8. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2011. 915 p.
- HECK, C. I.; DE MEJIA, E. G. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*), a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 9, p. 138-151, 2007.
- HELOIR, J. F. et al. Changes in the concentration of auxins and polyamines during rooting of *in vitro* propagated walnut shoots. **Tree Physiology**, v. 16, p. 515-519, 1996.
- HEUSER, E. D. ***Ilex paraguariensis* St. Hil.: endosperma e embrião durante a embriogênese tardia**. 1990. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1990.
- HIGA, R. C. V. Estaquia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): Resultados preliminares. In: Congresso Florestal Brasileiro, 4, **Anais...** Belo Horizonte: MG, p. 304-305, 1982.

- HUSEN, A.; PAL, M. Metabolic changes during adventitious root primordium development in *Tectona grandis* Linn. f. (teak) cuttings as affected by age of donor plants and auxin (IBA and NAA) treatment. **New Forests**, v. 33, p. 309-323, 2007.
- IRITANI, C.; SOARES, R. V. Ação de reguladores de crescimento em estacas de *Ilex paraguariensis* St. Hilaire. **Revista Floresta**, p. 59-66, 1981.
- IVANCHECHEN, S. L. **Estudo morfológico e terminológico do tronco e casca de 30 espécies arbóreas em floresta ombrófila mista**. 1988. 221 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 1988.
- JESUS, J. S. de. et al. Mini-cuttings of forest and fruit species. **Científica**, v. 48, n. 1, p. 67-75, 2020.
- JUNGLOS, M. S. et al. Propagação vegetativa de *Sambucus nigra* L. (Adoxaceae) pelo método de estaquia. In: Encontro de Iniciação Científica, n. 5, **Anais...** Mato Grosso do Sul: ENIC, 2013.
- KANMEGNE, G. et al. The influence of stockplant fertilization on tissue concentrations of nitrogen, carbohydrates and amino acids and on the rooting of leafy stem cuttings of *Cola anomala* K. Schum (Malvaceae). **New Forest**, v. 48, p. 17-31, 2017.
- KANG, Y. R. et al. Anti-obesity and anti-diabetic effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. **Laboratory animal research**, v. 28, n. 1, p. 23-29, 2012.
- KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agropecuária, 2000.
- KEFFER, J. F. et al. Evapotranspiration and water sensitivity of Amazonian yellow ipe seedlings under different shading conditions. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n. 10, p. 733-740, 2019.
- KENNEY, G. et al. The uptake of growth substances XIII. Differential uptake of indole-3yl-acetic acid through the epidermal and cut surfaces of etiolated stem segments. **Journal of Experimental Botany**, v. 20, p. 820-840, 1969.
- KIBBLER, H. et al. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell 1. Plant genotype, juvenility and characteristics of cuttings. **Scientia Horticulturae**, v. 102, p. 133-143, 2004.
- KRAJNC, A. U. et al. Morphological and physiological changes during adventitious root formation as affected by auxin metabolism: stimulatory effect of auxin containing seaweed extract treatment. **Agricultura**, v. 10, n. 2, p. 17-27, 2013.
- KRATZ, D. et al. Produção de mudas de erva-mate por miniestaquia em substratos renováveis. **Floresta**, v. 45, n. 3, p. 609-616, 2015.
- KUROHA, T. et al. A transzeatin riboside in root xylem sap negatively regulates adventitious root formation on cucumber hypocotyls. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 2193-2200, 2002.

LELES, P. S. S. et al. Qualidade de mudas de quatro espécies florestais produzidas em diferentes tubetes. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 13, n. 1, p. 69-78, 2006.

LI, S. W. et al. Mediators, genes and signalling in adventitious rooting. **The Botanical Review**, v. 75, n. 2, p. 230-247, 2009.

LIMA, R. L. S. et al. Volume de recipientes e composição de substratos para a produção de mudas de mamoneira. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 3, p. 480-486, 2006.

LIMA, D. M. et al. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 422-438, 2011.

LIMA, D. M. et al. Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de *Langerstroemia indica* em diferentes substratos. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 36, n. 88, p. 549-554, 2016.

LOPES, J. L. W. et al. Qualidade de mudas de eucalipto produzidas sob diferentes lâminas de irrigação e dois tipos de substrato. **Revista Árvore**, v. 31, n. 5, 2007.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, v. 1, 2008. 384 p.

LOURENÇO, R. S. et al. Influência do substrato no desenvolvimento de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 38, p. 13-30, 1999.

LUDWIG-MÜLLER, J. et al. Analysis of indole-3-butyric acid-induced adventitious root formation on *Arabidopsis* stem segments. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 2095-2105, 2005.

LUZ, A. B. G. et al. The anti-inflammatory effect of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil (Mate) in a murine model of pleurisy. **International Immunopharmacology**, v. 36, p. 165-172, 2016.

MACCARI JUNIOR, A. **Análise do pré-processamento da erva-mate para chimarrão**. 2005. 215 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MAGGIONI, R. A. et al. Ácido indolbutírico e diferentes clones no enraizamento de estacas de *Araucaria angustifolia* In: Seminário Sul-Brasileiro sobre a Sustentabilidade da Araucária, 3. **Anais...** Tapera: Lew, p. 148-150, 2018.

MAYER, J. L. S. et al. Formação de raízes em estacas de duas espécies de *Calliandra* (Leguminosae - Mimosoideae). **Rodriguésia**, v. 59, n. 3, p. 487-495, 2008.

MAYNARD, B. K.; BASSUK, N. L. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. In: DAVIES, T. D.; HAISSING, B. E.; SANKHLA, N. (Eds.). **Adventitious root formation in Biasi cuttings**, v. 2, p. 29-46, 1988.

- MARIATH, J. E. A. et al. Aspectos anatômicos e embriológicos em espécies do gênero *Ilex*. In: WINGE, H.; FERREIRA, A. G.; MARIATH, J. E. A.; TARASCONI, L. C. (Org). Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul, **Anais...** Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, p. 263-280, 1995.
- MARQUES, C. M. et al. Genetic dissection of vegetative propagation traits in *Eucalyptus tereticornis* and *E. globulus*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 99, p. 936-946, 1999.
- MARQUES, C. M. et al. Conservation and synteny of SSR loci and QTLs for vegetative propagation in four *Eucalyptus* species. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, p. 474-478, 2002.
- MARTINET, A. et al. NMR and LC–MSn characterisation of two minor saponins from *Ilex paraguariensis*. **Phytochemical Analysis**, v. 12, p. 48-52, 2001.
- MARTINS, C. C. et al. Umedecimento do substrato na emergência e vigor de plântulas de pupunheira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 224-230, 2009.
- MATSUMOTO, R. L. et al. Effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) ingestion on mRNA expression of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and total antioxidant status in healthy young women. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1775-1780, 2009.
- MAZUCHOWSKI, J. Z. **Manual da erva-mate**. Curitiba: Emater, 1991. 104 p.
- MAZUCHOWSKI, J. Z. et al. Efeito da luminosidade e da adição de nitrogênio no crescimento de plantas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Revista Árvore**, v. 31, n. 4, p. 619-627, 2007.
- MEDRADO, M. J. S. et al. Alterações anatômicas em estacas de seringueira (*Hevea brasiliensis* clone RRIM 600) em resposta a diferentes técnicas de indução ao enraizamento. **Scientia Agricola**, v. 52, n. 1, p. 89-95, 1995.
- MELO, L. A. et al. Crescimento de Mudanças de *Eucalyptus grandis* e *Eremanthus erythropappus* sob diferentes formulações de substrato. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 2, p. 234-242, 2014.
- MENDES, R. M. O. **Caracterização e avaliação da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St Hill) beneficiada no Estado de Santa Catarina**. 2005. 119 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.
- MENDONÇA, E. G. et al. In vitro serial subculture to improve rooting of *Eucalyptus urophylla*. **New Forests**, 2019.
- MENINI, T. et al. Protective action of *Ilex paraguariensis* extract against free radical inactivation of paraoxonase-1 in high-density lipoprotein. **Planta Medica**, v. 73, p. 1141-1147, 2007.
- MINAMI, K. **Produção de mudas de hortaliças de alta qualidade em horticultura**. São Paulo: TA Queiroz, 1995. 128 p.

MIRESKI, M. C. et al. Secagem na viabilidade e desenvolvimento embrionário de sementes de *Ilex paraguariensis*. **Revista Ciência Florestal**, v. 29, n. 3, p. 1354-1362, 2019.

MORAIS, E. C. et al. Consumption of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-Cholesterol reduction in individuals on statin therapy. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, p. 8316-8324, 2009.

MOURA, L. C. et al. Ácido indolbutírico (AIB) e substratos na propagação vegetativa de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) por miniestaquia. **Advances in Forestry Science**, v. 6, n. 1, p. 515-522, 2019.

NAIDU, R. D.; JONES, N. B. The effect of cutting length on the rooting and growth of subtropical *Eucalyptus* hybrid clones in South Africa. **Southern Forests**, v. 71, n. 4, p. 297-301, 2009.

NASCIMENTO, B. et al. Nitrogenated fertilization favors vegetative rescue and propagation of *Ilex paraguariensis*. **Cerne**, v. 25, n. 1, 2019.

NEVES, J.C.L.; GOMES, J.M.; NOVAIS, R.F. Fertilização mineral de mudas de eucalipto. In: BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. (Ed.) **Relação solo-eucalipto**. Viçosa, MG: Folha de Viçosa, 1990. 330 p.

NICOLOSO, F. T. et al. Comprimento da estaca de ramo no enraizamento de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*). **Ciência Rural**, v. 31, n. 1, p. 57-60, 2001.

OLIVEIRA, M. C. et al. **Enraizamento de estacas para produção de mudas de espécies nativas de mata de galeria** (Recomendação Técnica 41), Brasília, 2001. 4 p.

OLIVEIRA, Y. et al. Comprimento das estacas no enraizamento de melaleuca. **Scientia Agraria**, v. 9, n.3, p. 415-418, 2008.

OLIVEIRA JUNIOR, O. A. et al. Características morfofisiológicas associadas à qualidade de mudas de *Eucalyptus urophylla* produzidas em diferentes substratos. **Revista Árvore**, v. 35, n. 6, p. 1173-1180, 2011.

OLIVEIRA, R. J. P. et al. Teores de carboidratos em estacas lenhosas de mirtilheiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1199-1207, 2012.

OLIVEIRA, A. C.; DORIGON, E. B. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: Jornada integrada em biologia, **Anais...** 2016 Disponível em: <<https://editora.unoesc.edu.br/index.php/jornadaintegradaembilogia/article/view/10252>>. Acesso em: 21 Jun. 2019.

OUYANG, F. et al. Effects of cutting size and exogenous hormone treatment on rooting of shoot cuttings in Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. **New Forests**, v. 46, p. 91-105, 2015.

PALANISAMY, K.; KUMAR, P. Effect of position, size of cuttings and environmental factors on adventitious rooting in neem (*Azadirachta indica* A. Juss). **Forest Ecology and Management**, v. 98, p. 277-280, 1997.

PAULUS, D. et al. Propagação vegetativa de *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton em função da concentração de AIB e do comprimento das estacas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 1, p. 25-31, 2014.

PEIXE, A. et al. Estudo histológico sobre a formação de raízes adventícias em estacas caulinares de oliveira (*Olea europaea* L.). **Revista de Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 476-482, 2007.

PIJUT, P. M. et al. Promotion of adventitious root formation of difficult-to-root hardwood tree species. **Horticultural Reviews**, v. 38, p. 213-251, 2011.

PIMENTA, A. C. et al. Estaquia e anatomia caulinar de *Annona crassiflora* Mart. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 2, p. 01-07, 2017.

PIMENTEL, N. et al. Morphophysiological quality of yerba mate plantlets produced by mini-cuttings. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 6, p. 3515-3528, 2017.

PIMENTEL, N. et al. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Revista Ciência Florestal**, v. 29, n. 2, p. 559-570, 2019.

PIRES, E. Z. et al. Biologia reprodutiva de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) em remanescente de Floresta Ombrófila Mista Altomontana. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 13, n. 2, p. 171-180, 2014.

POLETTI, I. et al. Influência da inoculação de *Fusarium* spp. e níveis de sombreamento no crescimento e desenvolvimento da erva-mate. **Revista Ciência Florestal**, v. 20, n. 3, p. 513-521, 2010.

POLETTI, I. et al. Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Revista Ciência Florestal**, v. 25, n. 2, p. 281-291, 2015.

PONTES FILHO, F. S. T. et al. Comprimento de estacas e concentrações de ácido indolbutírico (AIB) na propagação vegetativa de pitaia. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 4, p. 788-793, 2014.

POP, T. et al. Auxin Control in the Formation of Adventitious Roots. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 39, n. 1, p. 307-316, 2011.

PRAT KRIKUN, S. D. Propagación vegetativa de plantas adultas de Yerba Mate. In: WINGE, H.; FERREIRA, A. G.; MARIÍTA, J. E. A.; TARASCONI, L. C. (Org.). **Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: UFRGS, p. 137-150, 1995.

PRZYGODDA, F. et al. Effect of erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) on serum cholesterol, triacylglycerides and glucose in Wistar rats fed a diet supplemented with fat and sugar. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 956-961, 2010.

RIO GRANDE DO SUL. Lei Nº 11.929, de 20 de junho de 2003. Institui o churrasco como "prato típico" e o chimarrão como "bebida símbolo" do Estado do Rio Grande do Sul e dá outras providências. **Assembleia Legislativa do Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, RS, 23 de jun. de 2003. Disponível em <www.al.rs.gov.br/filerepository/repLegis/arquivos/11.929.pdf>. Acesso em 05 out. 2019.

RUBERY, P. H.; SHELDRAKE, A. R. Effect of pH and surface charge on cell uptake of auxin. **Nature: New biology**, v. 244, p. 285-288, 1973.

SÁ, F. P. et al. Miniestaquia de erva-mate em quatro épocas do ano. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 4, p. 1431-1442., 2018.

SACHS, R. M. et al. Plant rooting studies indicat esclerenchyma tissue is not restricting factor. **California Agriculture**, v. 18, n. 9, p. 4-5, 1964.

SANTOS, C. B. et al. Efeito do volume de tubetes e tipos de substratos na qualidade de mudas de *Cryptomeria japonica* (L.F.) D. Don. **Ciência Florestal**, v. 10, n. 2, p. 1-15, 2000.

SANTIN, D. et al. Crescimento de mudas de erva-mate fertilizadas com N, P e K. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 1, p.59-66, 2008.

SANTIN, D. et al. Sobrevivência, crescimento e produtividade de plantas de erva-mate produzidas por miniestacas juvenis e por sementes. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 3, p. 571-579, 2015.

SCHMIDT-VOGT, H. **Wachstum und qualitaet von forstpflanzen**. 2. Ed. Munique: Bayerischer Landwirtschaftsverlag, 1966. 210 p.

SCALON, S. P. Q. et al. Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob condição de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 27, n. 6, p. 753-758, 2003.

SCHAFER, G.; SOUZA, P. V. D. de.; FIOR, C. S. Um panorama das propriedades físicas e químicas de substratos utilizados em horticultura no sul do Brasil. **Ornamental Horticulture**, v. 21, n. 3, p. 299-306, 2015.

SCHWARZ, J. L.; GLOCKE, P. L.; SEDGLEY, M. Adventitious root formation in *Acacia baileyana* F. Muell. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 74, n. 5, p. 561-565, 1999.

SILVA, E. T. et al. Materiais de cobertura na produção de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill). **Scientia Agraria**, v. 8, n. 1, p. 103-109, 2007.

SILVA, R. B. G. et al. Qualidade de mudas clonais de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* em função do substrato. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 3, p. 297-302, 2012.

SILVEIRA, C. S.; SCHULTZ, G. Desempenho das indústrias ervateiras do Alto Taquari/RS: uma análise com a aplicação da matriz importância – desempenho. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, v. 15, n. 7, p. 215-229, 2019.

SOUSA, V. A.; DAROS, T. L.; STURION, J. A. Fenologia reprodutiva de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil). In: Congresso Florestal Estadual do Rio Grande do Sul, 9, **Anais...** Nova Prata: Prefeitura Municipal, 2003.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 3. Ed. Nova Odessa: Plantarum, 2012.

SOUZA, G. F. et al. Efeito da estratificação em substrato esterilizado na qualidade sanitária de sementes de *Ilex paraguariensis*. **Revista Ciência Florestal**, v. 29, n. 2, p. 854-862, 2019.

STEFFENS, B.; RASMUSSEN, A. The Physiology of Adventitious Roots. **Plant Physiology**, v. 170, p. 603-617, 2016.

STRADER, L.C.; BARTEL, B. Transport and metabolism of the endogenous auxin precursor indole-3-butyric acid. **Molecular Plant**, v. 4, p. 477-486, 2011.

STRZELECKA K. Anatomical structure and adventitious root formation in *Rhododendron ponticum* L. cuttings. **Acta Scientiarum Polonorum**, v. 6, n. 2, p. 15-22, 2007.

STUEPP, C. A. et al. Age of stock plants, seasons and IBA effect on vegetative propagation of *Ilex paraguariensis*. **Revista Árvore**, v. 41, n. 2, p. 1-7, 2017.

STURION, J. A. **Produção de mudas e implantação de povoamentos com erva-mate**. Curitiba: EMBRAPA/CNPF, (Circular Técnica, n.17), 1988. 12 p.

STURION, J. A.; RESENDE, M. D. V. Programa de melhoramento genético da erva-mate no Centro Nacional de Pesquisa de Florestas da Embrapa. In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 1º Reuniao Tecnica do Cone Sul sobre a Cultura da Erva-Mate. **Anais...** Colombo: EMBRAPA-CNPF, 1997.

TARRAGÓ, J. et al. Effect of leaf retention and flavonoids on rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings. **Scientia Horticulturae**, v. 103, p. 479-488, 2005.

TRAZZI, P. A. et al. Substratos de origem orgânica para produção de mudas de teca (*Tectona grandis* Linn. F.). **Ciência Florestal**, v. 23, n. 3, p. 401-409, 2013.

TRAUTENMÜLLER, J. W. et al. Influência de composto orgânico no desenvolvimento de *Ilex paraguariensis* St. Hilaire. **Advances in Forestry Science**, v. 3, n. 4, p. 55-58, 2016.

TROBEC, M. et al. Fluctuations of different endogenous phenolic compounds and cinnamic acid in the first days of the rooting process of cherry rootstock 'GiSelA 5' leafy cuttings. **Journal of plant physiology**, v. 162, p. 589-597, 2005.

TRUEMAN, S. J.; ADKINS, M. F. Effect of aminoethoxyvinylglycine and 1-methylcyclopropene on leaf abscission and root formation in *Corymbia* and *Eucalyptus* cuttings. **Scientia Horticulturae**, v. 161, p. 1-7, 2013.

UZUNOVA, V. V. et al. Tomographic docking suggests the mechanism of auxin receptor TIR1 selectivity. **Open Biology**, v. 6, 2016.

VASCONCELLOS, F. C. F. **Os impactos da criação do Mercosul no mercado de erva-mate no Rio Grande do Sul**. 2012. 66 p. Monografia (Graduação em Ciências Econômicas) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012.

VÉRAS, M. L. M. et al. Uso de reguladores vegetais na propagação via estaquia de umbucajazeira. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 3, p. 740-748, 2018.

VERDONCK, O. et al. Barck compost a new accepted growing medium for plants. **Acta Horti.**, v. 133, p. 221-227, 1983.

VERSTRAETEN I. et al. Hypocotyl adventitious root organogenesis differs from lateral root development. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 495, p. 1-13, 2014.

VIGL, F.; REWALD, B. Size matters? The diverging influence of cutting length on growth and allometry of two Salicaceae clones. **Biomass Bioenergy**, v. 60, p.130-136, 2014.

WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) por miniestaquia de material juvenil. In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 3, **Anais...** Chapecó, SC: Epagri, 2003.

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

WENDLING, I. et al. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 42, n. 2, p. 289-292, 2007a.

WENDLING, I et al. Características físicas e químicas de substratos para produção de mudas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Revista Árvore**, v. 31, n. 2, p. 209-220, 2007b.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F. **Solução nutritiva para condução de minicepas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) em sistema semi-hidropônico**. Colombo: Embrapa Florestas (Comunicado Técnico, 157), 2008. 4 p.

WENDLING, I.; DELGADO, M. E. **Produção de mudas de Araucária em tubetes**. Colombo: Embrapa Florestas (Comunicado Técnico, 201), 2008. 8 p.

WENDLING, I.; GATTO, A. **Substratos, adubação e irrigação na produção de mudas**. 2 ed. Viçosa: Aprenda fácil, 2012. 149 p.

WENDLING, I. et al. Vegetative propagation of adult *Ilex paraguariensis* trees through epicormic shoots. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, n. 1, p. 117-125, 2013.

WENDLING, I; SANTIN, D. **Propagação e nutrição de erva-mate**. Brasília: EMBRAPA, 2015. 195 p.

WENDLING, I. et al. **Resgate vegetativo por anelamento e decepa e estaquia de árvores adultas de erva-mate**. Colombo: Embrapa Florestas (Comunicado Técnico, 385), 2016. 5 p.

WOJTANIA, A. et al. Soluble sugar, starch and phenolic status during rooting of easy and difficult-to-root magnolia cultivars. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 2018.

WOODWARD, A.; BARTEL, B. Auxin: Regulation, Action, and Interaction. **Annals of Botany**, v. 95, p. 707-735, 2005.

XAVIER, A. et al. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 272 p.

XAVIER, A.; SILVA, R. L. Evolução da silvicultura clonal de *Eucalyptus* no Brasil. **Agronomia Costarricense**, v. 34, n. 1, p. 93-98, 2010.

ZACCHEU, P. V. C. et al. Tamanho de recipientes e tempo de formação de mudas no desenvolvimento e produção de maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 603-607, 2013.

ZAMPIER, A. C. **Avaliação dos níveis dos nutrientes, cafeína e taninos em erva-mate após adubação mineral e orgânica e sua relação com a produtividade na erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. 2001. 103 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

ZANON, A. **Produção de sementes de erva mate**. Curitiba: Embrapa Florestas (Circular técnica, 16), 1988. 8 p.

ZAPATA, F. J. et al. Caffeine, but not other phytochemicals, in mate tea (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire) attenuates high-fat-high-sucrose-diet-driven lipogenesis and body fat accumulation. **Journal of Functional Foods**, v. 64, 2020.

ZAVISTANOVICZ, T. C. et al. Morphophysiological responses of *Ilex paraguariensis* seedlings to different substrates and fertilizations. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 2, p. 111-115, 2017.

ZHANG, Y. et al. Comprehensive analysis of dynamic gene expression and investigation of the roles of hydrogen peroxide during adventitious rooting in poplar. **BMC Plant Biology**, v. 19, n. 99, 2019.

ZHAO, Z. R. et al. Promotive effect of potassium on adventitious root formations in some plants. **Plant Science**, v. 79, p. 47-50, 1991.

ZIMMERMAN, P. W.; WILCOXON, F. Several chemical growth substances which cause initiation of roots and other responses in plants. **Contributions from Boyce Thompson Institute**, v. 7, p. 209-229, 1935.

APÊNDICES

APÊNDICE A1 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	2522.6683	1261.3341	3.83 *
Resíduo	27	8886.8575	329.1429	
Total	29	11409.5258		

APÊNDICE A2 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	4770.2164	2385.1082	7.52 *
Resíduo	27	4770.2164	2385.1082	
Total	29	4770.2164		

APÊNDICE A3 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	6774.2529	3387.1265	15.41 *
Resíduo	27	5933.4480	219.7573	
Total	29	12707.7009		

APÊNDICE A4 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	3121.5756	1560.7878	6.60 *
Resíduo	27	6382.8950	236.4035	
Total	29	9504.4706		

APÊNDICE A5 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de calogênese das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	295.0711	147.5356	0.30 NS
Resíduo	27	13231.2148	490.0450	
Total	29	13526.2859		

APÊNDICE A6 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de calogênese das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	2615.0829	1307.5414	4.63 *
Resíduo	27	7622.0672	282.2988	
Total	29	10237.1501		

APÊNDICE A7 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de calogênese das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	4928.4617	2464.2308	11.08 *
Resíduo	27	6004.6239	222.3935	
Total	29	10933.0856		

APÊNDICE A8 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de calogênese das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	2563.3891	1281.6946	5.34 *
Resíduo	27	6476.5546	239.8724	
Total	29	9039.9437		

APÊNDICE A9 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de brotação das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	3591.2662	1795.6331	7.00 *
Resíduo	27	6923.7121	256.4337	
Total	29	10514.9783		

APÊNDICE A10 - Resumo da análise de variância para a porcentagem de brotação das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	4354.31	2177.1555	7.75 *
Resíduo	27	6610.65	270.7650	
Total	29	1064.96		

APÊNDICE A11 - Resumo da análise de variância para a porcentagem de brotação das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	1957.73	978.8684	4.98 *
Resíduo	27	5300.8512	196.3278	
Total	29	7258.5881		

APÊNDICE A12 - Resumo da análise de variância para a porcentagem de brotação das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	1926.9987	963.4993	3.588 *
Resíduo	27	7249.5634	268.5023	
Total	29	9176.5621		

APÊNDICE A13 – Resumo da análise de variância para o número de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.487305	0.243653	2.49 NS
Resíduo	27	2.638429	0.097720	
Total	29	3.125735		

APÊNDICE A14 – Resumo da análise de variância para para o número de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.3303	0.1651	1.12 NS
Resíduo	27	3.8883	0.1440	
Total	29	4.2186		

APÊNDICE A15 - Resumo da análise de variância para o número de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.4503	0.2251	2.12 NS
Resíduo	27	2.8621	0.1060	
Total	29	3.3125		

APÊNDICE A16 – Resumo da análise de variância para o número de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.3223	0.1611	0.736 NS
Resíduo	27	5.9138	0.2190	
Total	29	6.2361		

APÊNDICE A17 – Resumo da análise de variância para o comprimento de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.0780	0.0390	0.87 NS
Resíduo	27	1.2078	0.0447	
Total	29	1.2859		

APÊNDICE A18 – Resumo da análise de variância para para o comprimento de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.1026	0.0513	0.90 NS
Resíduo	27	1.5366	0.0569	
Total	29	1.6393		

APÊNDICE A19 – Resumo da análise de variância para o comprimento de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.3057	0.1528	2.52 NS
Resíduo	27	1.6392	0.0607	
Total	29	1.9450		

APÊNDICE A20 – Resumo da análise de variância para o comprimento de brotos das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.2207	0.1103	1.22 NS
Resíduo	27	2.4432	0.0904	
Total	29	2.6639		

APÊNDICE A21 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de enraizamento das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	529.8222	264.9111	0.80 NS
Resíduo	27	8974.4644	332.3876	
Total	29	9504.2866		

APÊNDICE A22 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de enraizamento das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	2190.5083	1095.2541	2.30 NS
Resíduo	27	12883.3367	477.1606	
Total	29	15073.8449		

APÊNDICE A23 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de enraizamento das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	2021.6225	1010.8113	2.87 NS
Resíduo	27	8091.6738	351.6916	
Total	29	10113.2964		

APÊNDICE A24 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de enraizamento das miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	1873.7999	936.9000	2.38 NS
Resíduo	27	10634.8740	393.8842	
Total	29	12508.6739		

APÊNDICE A25 – Resumo da análise de variância para o número de raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	1.3285	0.6643	0.83 NS
Resíduo	27	21.7108	0.8041	
Total	29	23.0393		

APÊNDICE A26 – Resumo da análise de variância para o número de raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	3.7083	1.8542	1.96 NS
Resíduo	27	25.4916	0.9441	
Total	29	29.2000		

APÊNDICE A27 – Resumo da análise de variância para o número de raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	2.0909	1.0454	1.49 NS
Resíduo	27	18.9806	0.7030	
Total	29	21.0715		

APÊNDICE A28 – Resumo da análise de variância para o número de raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	1.5215	0.7607	1.30 NS
Resíduo	27	15.8389	0.5866	
Total	29	17.3604		

APÊNDICE A29 – Resumo da análise de variância para o comprimento das raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 45 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	1.2181	0.6090	4.27 *
Resíduo	27	3.8487	0.1425	
Total	29	5.0669		

APÊNDICE A30 – Resumo da análise de variância para o comprimento das raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.9294	0.4647	4.127 *
Resíduo	27	3.0407	0.1126	
Total	29	3.9702		

APÊNDICE A31 – Resumo da análise de variância para o comprimento das raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 75 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.8316	0.4158	5.332 *
Resíduo	27	2.1054	0.0779	
Total	29	2.9370		

APÊNDICE A32 – Resumo da análise de variância para o comprimento das raízes formadas nas miniestacas de erva-mate com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.9050	0.4525	10.800 *
Resíduo	27	1.1312	0.0418	
Total	29	2.0363		

APÊNDICE A33 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	14637.1764	7318.5882	5.560 *
Resíduo	167	219834.0000	1316.3712	
Total	169	234471.1764		

APÊNDICE A34 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	3535.411765	1767.705882	0.867 NS
Resíduo	167	340524.0000	2039.0658	
Total	169	344059.4117		

APÊNDICE A35 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	1553.2941	776.6470	0.411 NS
Resíduo	167	315252.0000	1887.7365	
Total	169	316805.2941		

APÊNDICE A36 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	1734.3529	867.1764	0.498 NS
Resíduo	167	290628.0000	1740.2874	
Total	169	292362.3529		

APÊNDICE A37 – Resumo da análise de variância para o número de folhas formadas nas mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	8.8282	4.4141	6.113 *
Resíduo	167	120.5879	0.7220	
Total	169	129.4162		

APÊNDICE A38 – Resumo da análise de variância para o número de folhas formadas nas mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.0611	0.0305	2.416 NS
Resíduo	167	2.1143	0.0126	
Total	169	2.1755		

APÊNDICE A39 – Resumo da análise de variância para o número de folhas formadas nas mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	3.9466	1.9733	1.855 NS
Resíduo	167	177.6543	1.0637	
Total	169	181.6010		

APÊNDICE A40 – Resumo da análise de variância para o número de folhas formadas nas mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	7.2307	3.6153	1.874 NS
Resíduo	167	322.1258	1.9288	
Total	169	329.3565		

APÊNDICE A41 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	38.605553	19.302776	48.277 *
Resíduo	167	66.772372	0.399835	
Total	169	105.3779		

APÊNDICE A42 - Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.2826	0.1413	2.611 NS
Resíduo	167	9.0369	0.0541	
Total	169	9.3195		

APÊNDICE A43 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.4156	0.2078	2.455 NS
Resíduo	167	10.3807	0.0178	
Total	169	10.7963		

APÊNDICE A44 - Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	6.3773	3.1886	2.355 NS
Resíduo	167	226.1598	1.3542	
Total	169	232.5371		

APÊNDICE A45 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	3.5465	1.7732	9.804 *
Resíduo	167	30.2041	0.1808	
Total	169	33.7506		

APÊNDICE A46 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	1.5525	0.7762	3.049 *
Resíduo	167	42.5240	0.2546	
Total	169	44.0766		

APÊNDICE A47 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.0782	0.0391	0.160 *
Resíduo	167	40.8591	0.2446	
Total	169	40.9374		

APÊNDICE A48 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.4377	0.2188	0.760 *
Resíduo	167	48.0847	0.2879	
Total	169	48.5225		

APÊNDICE A49 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	18.4182	9.2091	51.414 *
Resíduo	167	29.9123	0.1791	
Total	169	48.3306		

APÊNDICE A50 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.0142	0.0071	2.326 NS
Resíduo	167	0.5132	0.0030	
Total	169	0.5275		

APÊNDICE A51 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.0290	0.0145	0.765 NS
Resíduo	167	3.1645	0.0189	
Total	169	3.1935		

APÊNDICE A52 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e o diâmetro de colo das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	7.7389	3.8694	8.469 *
Resíduo	167	76.3006	0.4589	
Total	169	84.0396		

APÊNDICE A53 – Resumo da análise de variância para a relação massa seca da parte aérea e das raízes das mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	30.0667	20.6612	1.73 NS
Resíduo	9	98.4661	11.9407	
Total	11	19.7886		

APÊNDICE A54 – Resumo da análise de variância para o comprimento total das raízes de mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	32.0957	16.0478	1.50 NS
Resíduo	9	96.1915	10.6879	
Total	11	128.2871		

APÊNDICE A55 – Resumo da análise de variância para a área superficial das raízes de mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	8.4459	4.2229	1.54 NS
Resíduo	9	24.7128	2.7459	
Total	11	33.1587		

APÊNDICE A56 – Resumo da análise de variância para o volume total das raízes de mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.1036	0.0518	1.680 NS
Resíduo	9	0.2776	0.0308	
Total	11	0.3812		

APÊNDICE A57 – Resumo da análise de variância para o diâmetro médio das raízes de mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.0259	0.0129	0.43 NS
Resíduo	9	0.2699	0.0300	
Total	11	0.2958		

APÊNDICE A58 – Resumo da análise de variância para o índice de qualidade de Dickson de mudas de erva-mate oriundas de miniestacas com diferentes tamanhos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	2	0.1112	0.0556	29.52 *
Resíduo	9	0.0170	0.0019	
Total	11	0.1282		

APÊNDICE B1 – Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	140.8876	70.4438	1.3578 NS
Clones	3	544.4513	181.4838	3.4981 NS
Substrato x Clones	6	422.6627	70.4438	1.3578 NS
Tratamentos	11	1108.0016	100.7274	
Resíduo	48	2490.2791	51.8808	

APÊNDICE B2 – Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	163.5503	281.7752	2.7671 NS
Clones	3	547.6006	149.2002	3.3395 NS
Substrato x Clones	6	740.9474	123.4912	1.2127 NS
Tratamentos	11	3852.0984	350.1908	
Resíduo	48	4887.8018	101.8292	

APÊNDICE B3 – Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	357.4425	178.7212	0.9535 NS
Clones	3	584.1922	161.3974	2.5956 NS
Substrato x Clones	6	1069.6531	178.2755	0.9511 NS
Tratamentos	11	4011.2878	364.6625	
Resíduo	48	8997.0571	187.4387	

APÊNDICE B4 – Resumo da análise de variância para porcentagem de sobrevivência das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	1082.7208	541.3604	1.6796 NS
Clones	3	135.1928	145.0643	1.2423 NS
Substrato x Clones	6	1275.7627	212.6271	0.6597 NS
Tratamentos	11	5493.6792	499.4251	
Resíduo	48	15471.3002	322.3188	

APÊNDICE B5 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.0241	0.0120	0.6897 NS
Clones	3	0.6624	0.2208	12.6621 *
Substrato x Clones	6	0.1386	0.0231	1.3251 NS
Tratamentos	11	0.8251	0.0750	
Resíduo	48	0.8370	0.0174	

APÊNDICE B6 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.0177	0.0089	0.3828 NS
Clones	3	0.7719	0.2573	11.1302 *
Substrato x Clones	6	0.1436	0.0239	1.0353 NS
Tratamentos	11	0.9332	0.0848	
Resíduo	48	1.1096	0.0231	

APÊNDICE B7 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.625	0.313	0.4504 NS
Clones	3	0.3527	0.1176	5.4529 *
Substrato x Clones	6	0.2718	0.453	2.1012 NS
Tratamentos	11	0.6871	0.0625	
Resíduo	48	1.0350	0.0216	

APÊNDICE B8 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.0427	0.0214	0.3338 NS
Clones	3	0.6091	0.2030	3.1717 *
Substrato x Clones	6	0.2399	0.0400	0.6246 NS
Tratamentos	11	0.8918	0.811	
Resíduo	48	3.0729	0.0640	

APÊNDICE B9 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestquia em diferentes substratos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.3499	0.1750	1.1907 NS
Clones	3	1.2868	0.4289	2.9191 NS
Substrato x Clones	6	0.8238	0.1373	0.9344 NS
Tratamentos	11	2.4604	0.2237	
Resíduo	48	7.0528	0.1469	

APÊNDICE B10 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestquia em diferentes substratos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.8332	0.9166	1.2875 NS
Clones	3	0.7938	0.2646	0.9490 NS
Substrato x Clones	6	2.2706	0.3784	1.3573 NS
Tratamentos	11	4.8975	0.4452	
Resíduo	48	13.3828	0.2788	

APÊNDICE B11 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.6688	1.8344	0.8791 NS
Clones	3	4.0770	1.3590	7.4000 *
Substrato x Clones	6	1.7086	0.2848	1.5506 NS
Tratamentos	11	13.4543	1.2231	
Resíduo	48	8.8151	0.1836	

APÊNDICE B12 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.7056	0.3528	0.6385 NS
Clones	3	4.4287	1.4762	3.6080 *
Substrato x Clones	6	2.2788	0.3798	0.9283 NS
Tratamentos	11	15.4132	1.4012	
Resíduo	48	19.6395	0.4092	

APÊNDICE B13 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.0888	0.0444	0.7918 NS
Clones	3	0.3366	0.1122	2.0007 NS
Substrato x Clones	6	0.2634	0.0439	0.7828 NS
Tratamentos	11	0.6887	0.0626	
Resíduo	48	2.6916	0.0561	

APÊNDICE B14 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.5233	0.2616	2.1905 NS
Clones	3	0.7586	0.2529	2.1172 NS
Substrato x Clones	6	0.9128	0.1521	1.2737 NS
Tratamentos	11	2.1947	0.1995	
Resíduo	48	5.7330	0.1194	

APÊNDICE B15 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	2.0805	1.0403	14.6805 *
Clones	3	1.8612	0.6204	8.7554 *
Substrato x Clones	6	0.6860	0.1143	1.6135 NS
Tratamentos	11	4.6277	0.4207	
Resíduo	48	3.4013	0.0709	

APÊNDICE B16 – Resumo da análise de variância para a relação entre altura da parte aérea e diâmetro de colo das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	1.6304	0.8152	6.7375 *
Clones	3	1.6291	0.5430	4.4882 *
Substrato x Clones	6	0.9675	0.1612	1.3327 NS
Tratamentos	11	4.2270	0.3843	
Resíduo	48	5.8077	0.1210	

APÊNDICE B17 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	1.1082	0.5541	1.3284 NS
Clones	3	11.0650	3.6883	8.8426 *
Substrato x Clones	6	0.5828	0.0971	0.2329 NS
Tratamentos	11	12.7560	1.1596	
Resíduo	48	20.0212	0.4171	

APÊNDICE B18 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.1915	0.957	0.2761 NS
Clones	3	12.2798	4.0933	11.8044 *
Substrato x Clones	6	0.9571	0.1595	0.4600 NS
Tratamentos	11	13.4284	1.2208	
Resíduo	48	16.6444	0.3468	

APÊNDICE B19 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	4.8516	2.4258	10.9150 *
Clones	3	13.7906	4.5969	20.6838 *
Substrato x Clones	6	2.7707	0.4618	2.0778 NS
Tratamentos	11	21.4129	1.9466	
Resíduo	48	10.6677	0.2222	

APÊNDICE B20 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	2.8462	1.4231	3.5456 *
Clones	3	18.4497	6.1499	15.3221 *
Substrato x Clones	6	2.1485	0.3581	0.8922 NS
Tratamentos	11	23.4444	2.1313	
Resíduo	48	19.2660	0.4014	

APÊNDICE B21 – Resumo da análise de variância para a relação entre a massa seca da parte aérea e do sistema radicial de mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	1.0757	0.5378	5.3752 *
Clones	3	0.9854	0.9951	1.0458 NS
Substrato x Clones	6	3.8437	0.6406	6.4026 *
Tratamentos	11	7.9048	0.7186	
Resíduo	24	2.4013	0.1001	

APÊNDICE B22 – Resumo da análise de variância para o comprimento total das raízes das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	290.5032	145.2516	8.0567 *
Clones	3	247.1015	82.3672	4.5687 *
Substrato x Clones	6	117.4374	19.5729	1.0856 NS
Tratamentos	11	655.0421	59.5493	
Resíduo	24	432.6899	18.0287	

APÊNDICE B23 – Resumo da análise de variância para a área superficial das raízes das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	36.7923	18.3961	7.3553 *
Clones	3	27.6154	9.2051	3.6805 *
Substrato x Clones	6	12.3217	2.0536	0.8211 NS
Tratamentos	11	76.7295	6.9754	
Resíduo	24	60.0257	2.5011	

APÊNDICE B24 – Resumo da análise de variância para o volume total das raízes das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.3471	0.1735	7.4157 *
Clones	3	0.2811	0.0937	4.0037 *
Substrato x Clones	6	0.0859	0.0143	0.6120 NS
Tratamentos	11	0.7140	0.0649	
Resíduo	24	0.5616	0.0234	

APÊNDICE B25 – Resumo da análise de variância para o número de extremidades das raízes das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	105.0950	52.5475	2.6170 NS
Clones	3	275.9996	91.9999	4.5818 *
Substrato x Clones	6	112.3498	18.7250	0.9325 NS
Tratamentos	11	493.4444	44.8586	
Resíduo	24	481.9084	20.0795	

APÊNDICE B26 – Resumo da análise de variância para o índice de qualidade de Dickson das mudas de diferentes clones de erva-mate produzidas por miniestaquia em diferentes substratos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Substratos	2	0.1308	0.654	0.5931 NS
Clones	3	0.2679	0.460	0.7837 NS
Substrato x Clones	6	0.4813	0.802	0.8579 NS
Tratamentos	11	0.7800	0.0709	
Resíduo	24	0.2807	0.0117	

APÊNDICE B27 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	109.5924	109.5924	0.19 NS
Resíduo	18	10376.9378	576.4965	
Total	19	10486.5302		

APÊNDICE B28 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	336.6557	336.6557	0.66 NS
Resíduo	18	9196.3520	510.9084	
Total	19	9533.0078		

APÊNDICE B29 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	23.1305	23.1305	0.05 NS
Resíduo	18	8533.1547	474.0641	
Total	19	8556.2852		

APÊNDICE B30 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	236.9471	236.9471	0.46 NS
Resíduo	18	9194.8058	510.8225	
Total	19	9431.7530		

APÊNDICE B31 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0264	0.0264	0.16 NS
Resíduo	18	2.9894	0.1661	
Total	19	3.0157		

APÊNDICE B32 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.1718	0.1718	1.30 NS
Resíduo	18	2.3757	0.1320	
Total	19	2.5474		

APÊNDICE B33 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0479	0.0479	0.25 NS
Resíduo	18	3.4248	0.1903	
Total	19	3.4726		

APÊNDICE B34 – Resumo da análise de variância para o diâmetro de colo das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.1086	0.1086	0.56 NS
Resíduo	18	3.5019	0.1945	
Total	19	3.6105		

APÊNDICE B35 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	1.1288	1.1288	2.04 NS
Resíduo	18	9.9661	0.5537	
Total	19	11.0949		

APÊNDICE B36 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	1.3491	1.3491	1.93 NS
Resíduo	18	12.6024	0.7001	
Total	19	13.9515		

APÊNDICE B37 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.1542	0.1542	0.17 NS
Resíduo	18	16.6487	0.9249	
Total	19	16.8029		

APÊNDICE B38 – Resumo da análise de variância para a altura da parte aérea das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	3.2313	3.2313	3.68 NS
Resíduo	18	15.8267	0.8793	
Total	19	19.0580		

APÊNDICE B39 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.8139	0.8139	1.63 NS
Resíduo	18	8.9707	0.4984	
Total	19	9.7846		

APÊNDICE B40 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	1.1696	1.1696	1.62 NS
Resíduo	18	12.9925	0.7218	
Total	19	14.1622		

APAPÊNDICE B41 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	1.0008	1.0008	1.12 NS
Resíduo	18	16.1072	0.8948	
Total	19	16.1080		

APÊNDICE B42 – Resumo da análise de variância para o número de folhas das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	1.8587	1.8587	2.04 NS
Resíduo	18	16.3689	0.9094	
Total	19	18.2276		

APÊNDICE B43 – Resumo da análise de variância para clorofila *a* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0506	0.0506	0.45 NS
Resíduo	18	2.0427	0.1135	
Total	19	2.0933		

APÊNDICE B44 – Resumo da análise de variância para clorofila *a* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0884	0.0884	0.55 NS
Resíduo	18	2.8876	0.1604	
Total	19	2.9760		

APÊNDICE B45 – Resumo da análise de variância para clorofila *a* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0346	0.0346	0.65 NS
Resíduo	18	0.9655	0.0536	
Total	19	1.0002		

APÊNDICE B46 – Resumo da análise de variância para clorofila *a* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0229	0.0229	0.17 NS
Resíduo	18	2.3635	0.1313	
Total	19	2.3864		

APÊNDICE B47 – Resumo da análise de variância para clorofila *b* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.2381	0.2381	1.40 NS
Resíduo	18	3.0673	0.1704	
Total	19	3.3054		

APÊNDICE B48 – Resumo da análise de variância para clorofila *b* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0225	0.0257	0.12 NS
Resíduo	18	3.7907	0.2106	
Total	19	3.7912		

APÊNDICE B49 – Resumo da análise de variância para clorofila *b* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0091	0.0091	0.10 NS
Resíduo	18	1.6799	0.0933	
Total	19	1.6890		

APÊNDICE B50 – Resumo da análise de variância para clorofila *b* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0250	0.0250	0.08 NS
Resíduo	18	5.5512	0.3084	
Total	19	5.5762		

APÊNDICE B51 – Resumo da análise de variância para clorofila total das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.1696	0.1696	0.75 NS
Resíduo	18	4.0893	0.2272	
Total	19	4.2589		

APÊNDICE B52 – Resumo da análise de variância para clorofila total das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0752	0.0752	0.25 NS
Resíduo	18	5.4627	0.3035	
Total	19	5.5379		

APÊNDICE B53 – Resumo da análise de variância para clorofila total das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0451	0.0451	0.43 NS
Resíduo	18	1.8783	0.1043	
Total	19	1.9234		

APÊNDICE B54 – Resumo da análise de variância para clorofila total das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0017	0.0017	0.01 NS
Resíduo	18	5.8746	0.3264	
Total	19	5.8763		

APÊNDICE B55 – Resumo da análise de variância para relação entre clorofila *a* e clorofila *b* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 30 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0522	0.0522	1.08 NS
Resíduo	18	0.8655	0.0481	
Total	19	0.9177		

APÊNDICE B56 – Resumo da análise de variância para relação entre clorofila *a* e clorofila *b* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 60 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0007	0.0007	0.02 NS
Resíduo	18	0.6563	0.0365	
Total	19	0.6570		

APÊNDICE B57 – Resumo da análise de variância para relação entre clorofila *a* e clorofila *b* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 90 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0021	0.0021	0.13 NS
Resíduo	18	0.2868	0.0159	
Total	19	0.2890		

APÊNDICE B58 – Resumo da análise de variância para relação entre clorofila *a* e clorofila *b* das mudas de erva-mate cultivadas em diferentes sombreamentos, aos 120 dias de cultivo.

Causas de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	1	0.0060	0.0060	0.11 NS
Resíduo	18	0.9671	0.0537	
Total	19	0.9731		

APÊNDICE C1 – Minijardim clonal de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) estabelecido em sistema fechado de cultivo sem solo, composto por uma telha de fibrocimento de 6 mm de espessura, suspensa em cavaletes de ferro. Detalhe das minicepas de 14 diferentes clones, oriundas do cultivo in vitro de embrião zigótico (clones 06SM17, 06SM15 e 06SM12), da estaquia de brotos epicórmicos de árvores adultas (clones 10SM07, 13SMU05, 13SMU01 e 13SMI62) e da estaquia de mudas seminais (clones 14SMC02, 14SMC03, 15SMI04, 15SMI02, 15MA05, 15MA07 e 15MA03), das quais foram coletadas brotações para a confecção das miniestacas de erva-mate.



Fonte: Autor.