

THAINAH CANDIDO AGUDO

**BIOESTIMULANTE E ÁCIDO GIBERÉLICO COMO NOVA PROPOSTA NO
ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE *Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.**

IRATI

2022

THAINAH CANDIDO AGUDO

**BIOESTIMULANTE E ÁCIDO GIBERÉLICO COMO NOVA PROPOSTA NO
ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE *Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, área de concentração em Silvicultura Clonal e Viveiros Florestais, para título de Mestre.

Prof^ª. Dr.^ª Fabiana Schmidt Bandeira Peres

Orientadora

Prof. Dr. Fabricio William de Ávila

Prof^ª. Dr.^ª Andrea Nogueira Dias

Coorientadores

IRATI

2022

Catálogo na Publicação
Rede de Bibliotecas da Unicentro

- A282b Agudo, Thainah Candido
Bioestimulante e ácido giberélico como nova proposta no enraizamento de miniestacas de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hill. / Thainah Candido Agudo. -- Irati, 2022.
xi, 76 f. : il. ; 28 cm
- Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, área de concentração em Silvicultura Clonal e Viveiros Florestais, 2022.
- Orientadora: Fabiana Schmidt Bandeira Peres
Coorientador: Fabricio William de Ávila
Coorientadora: Andrea Nogueira Dias
Banca examinadora: Fabiana Schmidt Bandeira Peres; Miranda Titon, Daniele Ukan; Ximena Mendes de Oliveira
- Bibliografia
1. Erva-mate. 2. Fitorregulador. 3. Propagação vegetativa. 4. Enraizamento adventício. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais.

| CDD 634.9



TERMO DE APROVAÇÃO

Defesa Nº 163

Thainah Candido Agudo

"BIOESTIMULANTE E ÁCIDO GIBERÉLICO COMO NOVA PROPOSTA DE ENRAIZAMENTO DE MINIESTACA DE *Ilex paraguariensis* A. St-Hill".

Dissertação aprovada em 07/07/2022, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, área de concentração em Manejo Sustentável de Recursos Florestais, da Universidade Estadual do Centro-Oeste, pela seguinte Banca Examinadora:

Prof.^a. Dra. Miranda Titon

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Primeira Examinadora

Prof.^a. Dra. Daniele Ukan

Universidade Estadual do Centro-Oeste
Segunda Examinadora

Prof.^a. Dra. Ximena Mendes de Oliveira

Universidade Estadual do Centro-Oeste
Terceira Examinadora

Prof.^a. Dra. Fabiana Schmidt Bandeira Peres

Universidade Estadual do Centro-Oeste
Orientadora e Presidente da Banca Examinadora

Irati - PR
2022

Home Page: <http://www.unicentro.br>

Campus Santa Cruz: Rua Salvatore Renna – Padre Salvador, 875, Bairro Santa Cruz – Cx. Postal 3010 – Fone: (42) 3621-1000 – FAX: (42) 3621-1090
CEP 85.015-430 – GUARAPUAVA – PR

Campus Cedeteg: Alameda Élio Antonio Dalla Vecchia, 836, Bairro Vila Carlí – Fone: (42) 3629-8100 – CEP 85.040-167 – GUARAPUAVA – PR

Campus de Irati: Rua Professora Maria Roza Zanon de Almeida, Bairro Engenheiro Gutierrez – Cx. Postal, 21 – Fone: (42) 3421-3000
CEP 84.505-677 – IRATI – PR

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser a luz que me guia, me fortalece e me fez chegar até aqui.

À UNICENTRO que é minha universidade de formação e também ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais pela oportunidade.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

À minha orientadora, Fabiana Schmidt Bandeira Peres, pela chance de realizar este trabalho. Obrigada pela confiança. Agradeço por todos os ensinamentos compartilhados e por me guiar nos primeiros passos da pós-graduação. Muito obrigada por tudo!

Aos meus coorientadores Fabricio William de Ávila e Andrea Nogueira Dias, por toda a ajuda durante a realização desta pesquisa. Suas contribuições foram essenciais para a concretização desta pesquisa.

Aos professores em geral do programa e em especial a Ximena Mendes de Oliveira que me auxiliou no processamento de dados e dividiu comigo seus conhecimentos.

À empresa *Golden Tree* Reflorestadora LTDA que abriu as portas e disponibilizou todo o material para a pesquisa, assim como também os funcionários.

Ao meu futuro marido, Renan Gustavo Pereira, por todo apoio, por me motivar e principalmente por acreditar em mim quando eu havia deixado de acreditar. Juntos somos muito mais!

Aos meus amigos de laboratório, Daniela Sanson e Gustavo Brizola. Obrigada pela força, pelas dicas, pela troca de experiência e pelo privilégio de terem compartilhado comigo esse momento das nossas vidas.

À Isabel Homczinski e Alexandre de Almeida Garret, pela ajuda em correções, contribuições e nas coletas de dados.

Aos meus amigos e familiares que sempre estiveram torcendo por mim.

Por fim, a todos que de alguma forma estiveram presentes, o meu muito obrigada!

Dedico esse trabalho ao meus pais, Pedro Gilberto Paiolla Agudo (*in memoriam*) e Edy Candido Paiolla Agudo, por serem meus maiores exemplos e minha inspiração. Obrigada pelo dom da vida e principalmente por sempre terem sonhado os meus sonhos. Amo muito vocês!

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. HIPÓTESE | 15 |
| 3. OBJETIVOS | 15 |
| 3.1. Objetivo Geral | 15 |
| 3.2. Objetivos específicos | 15 |
| 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 4.1. <i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil | 16 |
| 4.1.1. A importância da erva-mate | 17 |
| 4.2. Propagação Seminal | 18 |
| 4.3. Propagação Vegetativa | 20 |
| 4.3.1. Enxertia | 20 |
| 4.3.2. Micropropagação | 20 |
| 4.3.3. Estaquia | 21 |
| 4.3.4. Miniestaquia | 23 |
| 4.4. Uso de fitorreguladores na miniestaquia | 25 |
| 4.5. Ácido giberélico no enraizamento adventício | 26 |
| 4.6. Bioestimulantes na produção de mudas | 27 |
| 5. MATERIAL E MÉTODOS | 29 |
| 5.1. Descrição do local de estudo | 29 |
| 5.2. Material vegetal | 30 |
| 5.3. Coleta de brotações no minijardim clonal e fases da miniestaquia | 32 |
| 5.4. EXPERIMENTO I: Aplicação de bioestimulante nas miniestacas visando estimular o enraizamento dos clones | 35 |
| 5.5. EXPERIMENTO II: Aplicação de ácido giberélico nas miniestacas visando estimular o enraizamento dos clones | 36 |
| 5.6. Avaliações | 37 |
| 5.7. Análise estatística | 39 |
| 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 40 |
| 6.1. EXPERIMENTO I: Aplicação de bioestimulante visando o enraizamento das miniestacas | 40 |
| 6.1.1. Mortalidade | 41 |
| 6.1.2. Enraizamento | 43 |
| 6.1.3. Calogênese | 44 |
| 6.1.4. Altura | 46 |
| 6.1.5. Número de Folhas (NF) | 47 |

| | | |
|--------|--|----|
| 6.1.6. | Diâmetro do colo (DC)..... | 48 |
| 6.1.7. | Massa Seca da Raíz (MSR)..... | 49 |
| 6.1.8. | Índice de qualidade de Dickson (IQD)..... | 50 |
| 6.1.9. | Trocas Gasosas..... | 51 |
| 6.2. | EXPERIMENTO II: Aplicação de ácido giberélico nas miniestacas visando estimular o enraizamento dos clones..... | 54 |
| 6.2.1. | Mortalidade..... | 55 |
| 6.2.2. | Enraizamento..... | 55 |
| 6.2.3. | Calogênese..... | 56 |
| 6.2.4. | Número de Folhas (NF)..... | 57 |
| 6.2.5. | Altura..... | 58 |
| 6.2.6. | Diâmetro do Colo (DC)..... | 59 |
| 6.2.7. | Massa Seca da Raíz (MSR)..... | 60 |
| 6.2.8. | Índice de Qualidade de Dickson (IQD)..... | 61 |
| 6.2.9. | Trocas Gasosas..... | 61 |
| 7. | CONCLUSÃO | 64 |
| 8. | CONSIDERAÇÕES | 66 |
| 9. | RECOMENDAÇÕES | 66 |
| 10. | REFERÊNCIAS | 67 |

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Empresa *Golden Tree* Reflorestadora LTDA, localizada no Distrito de Entre Rios, na Gleba Cachoeira lote 63 A, município de Guarapuava – Paraná.

Figura 1. Clones de erva-mate estabelecidos em minijardim clonal. **A)** Clone BRS 409; **B)** Clone Aupaba; **C)** Clone BRS 408.

Figura 2, Minicepas dos três clones de erva-mate, cultivadas em canaletão de fibro-cimento em sistema semi-hidropônico.

Figura 3. Coleta de brotações e miniestaquia de erva mate. **A)** Materiais utilizados para coleta de miniestacas, na parte inferior da foto (borrifador e garrafa pet contendo solução de álcool 70 %), na porção superior da foto (bandeja e tesoura de ponta fina); **B)** Início da coleta (bandeja contendo miniestacas); **C)** Miniestacas acondicionadas em caixa de isopor; **D)** Tablete de serragem congelado; **E)** Tabletes de serragem congelados envoltos por papel toalha, dispostos no fundo da caixa de isopor.

Figura 4. Preparo para estaqueamento **A)** Miniestaca de erva mate (padrão da empresa); **B)** Estaqueamento realizado em tubetes de 55 cm³; **C)** Substrato padrão da empresa.

Figura 6. Preparo das soluções de biostimulante utilizadas antes do estaqueamento. **A)** Imersão da base da miniestaca nas soluções do bioestimulante; **B)** A esquerda da foto (capsula de 1,0 g do bioestimulante), a direita da foto (bioestimulantes já diluído em água de mina não clorada e sem tratamento).

Figura 7. Sistema portátil de medidas de fotossíntese (IRGA, Infrared Gas Analyzer, Li-cor, LI6400XT).

Figura 8. Avaliação de aspectos referentes ao crescimento e qualidade das mudas. **A)** separação por partes de uma muda para a pesagem e secagem; **B)** medição de diâmetro do colo utilizando-se um paquímetro com precisão de 0,01mm; **C)** balança de precisão utilizada para a pesagem das partes da muda.

Figura 9. Porcentagem de mortalidade (M) das miniestacas de clones de erva-mate submetidas a concentrações de bioestimulante a base de algas marinhas, avaliadas aos 150 dias de idade.

Figura 10. Porcentagem de enraizamento (ENR) de miniestacas de clones de erva-mate submetidas a concentrações de bioestimulante a base de algas marinhas, avaliadas aos 150 dias de idade.

Figura 11. Porcentagem de calogênese (C) nas miniestacas de clones de erva-mate submetidas a concentrações de bioestimulante a base de algas marinhas, avaliadas aos 150 dias de idade.

Figura 12. Médias de diâmetro do colo (DC) de miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito de aplicação de concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

Figura 13. Interação Clone x Concentração para concentração interna de CO₂ (Ci) de miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito de aplicação de concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise de variância para enraizamento (ENR), calogênese (C) e mortalidade (M) para miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito de concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

Tabela 2. Análise de variância para altura, número de folhas (NF), diâmetro do colo (DC), massa seca da raiz (MSR) e Índice de Qualidade de Dickson (IQD) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito de concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

Tabela 3. Médias de altura (ALT) de miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

Tabela 4. Médias de número de folhas (NF) de miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

Tabela 5. Análise de variância para as variáveis assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (gs), concentração interna de CO₂ (Ci) e taxa de transpiração (E) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

Tabela 6. Médias de condutância estomática (gs) e da taxa de transpiração (E) de miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

Tabela 7. Medianas referentes a mortalidade das miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 8. Medianas referentes ao enraizamento em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 9. Medianas referentes a formação de calo em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 10. Medianas referentes à variável número de folhas em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 11. Diferença entre as medianas referentes à variável altura em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 12. Medianas referentes à variável diâmetro do colo (DC) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 13. Diferenças entre as medianas referentes à variável matéria seca de raiz (MSR) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 14. Diferenças entre as medianas referentes à variável matéria seca de raiz (MSR) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 15. Medianas referentes à variável assimilação líquida de CO₂ (*A*), em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 16. Diferenças entre as medianas referentes à variável condutância estomática (*gs*) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 17. Diferenças entre as medianas referentes à variável concentração interna de CO₂ (*Ci*) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

Tabela 18. Diferenças entre as medianas referentes à variável taxa de transpiração (*E*) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

RESUMO

A produção de mudas de erva-mate pela via seminífera apresenta várias limitações e uma alternativa à propagação desta espécie consiste na propagação vegetativa, destacando-se a técnica de miniestaquia. Para a espécie não há relatos sobre o uso de ácido giberélico na miniestaquia. Os bioestimulantes têm sido apontados como potenciais alternativas de uso que podem viabilizar o enraizamento de espécies de difícil propagação, sendo escassos estudos envolvendo espécies arbóreas e também inexistente na miniestaquia de erva-mate. Desta forma, a presente pesquisa teve por objetivo avaliar o efeito da aplicação de bioestimulante e ácido giberélico (GA_3) no cultivo de miniestacas de erva-mate. A pesquisa foi desenvolvida na empresa *Golden Tree* Reflorestadora LTDA. Como material vegetal foram utilizados três clones identificados como: BRS 408, BRS 409 e BRS BLD Aupaba. As miniestacas foram tratadas com quatro concentrações do bioestimulante (0; 25; 50 e 100 mgL^{-1}), totalizando 12 tratamentos, com quatro repetições. Em um segundo experimento avaliou-se quatro concentrações (0, 50, 100, 150 mgL^{-1}) de ácido giberélico, totalizando 12 tratamentos, com quatro repetições. Aos 150 dias de idade avaliaram-se as variáveis mortalidade, porcentagem de enraizamento, calogênese, além de parâmetros referentes ao crescimento, qualidade das mudas e trocas gasosas. Sob efeito do bioestimulante, a maior porcentagem de mortalidade foi obtida sob a concentração de 100 mg L^{-1} e a menor, sem o uso do produto. Já para o enraizamento, a maior porcentagem encontrada foi no tratamento Testemunha (sem uso do produto). Para a calogênese, a maior porcentagem obtida foi sob efeito da concentração 25 mg L^{-1} . O bioestimulante mostrou efeito significativo apenas para o diâmetro do colo e quanto as variáveis de trocas gasosas, apenas para a concentração interna de CO_2 (C_i). As concentrações testadas de bioestimulante não geraram efeito no enraizamento das miniestacas de erva-mate e os clones não se diferiram quanto ao enraizamento. Sob efeito do ácido giberélico, para a mortalidade não obteve diferença significativa entre os tratamentos. Para o enraizamento, o clone Aupaba sob efeito das concentrações de 50 mg L^{-1} e 100 mg L^{-1} foi superior aos demais tratamentos. Quanto a calogênese a concentração 150 mg L^{-1} teve maior mediana e não se diferiu estatisticamente da Testemunha e da concentração 50 mg L^{-1} . O ácido giberélico foi expressivo significativamente na altura, massa seca da raiz e índice de qualidade de Dickson. Sob efeito do ácido giberélico, a condutância estomática (g_s), concentração interna de CO_2 (C_i) e taxa de transpiração (E) apresentaram melhores resultados. As concentrações testadas de ácido giberélico mais adequadas no enraizamento para clone Aupaba, foram 50 mg L^{-1} e 100 mg L^{-1} . O clone que apresentou melhor enraizamento sob efeito do ácido giberélico foi o Aupaba.

Palavras-chaves: erva-mate; fitorregulador; propagação vegetativa; enraizamento adventício

ABSTRACT

The production of yerba mate seedlings by the seminiferous route has several limitations and an alternative to the propagation of this species is the vegetative propagation, highlighting the minicutting technique. For the species there are no reports on the use of gibberellic acid in minicuttings. Biostimulants have been pointed out as potential alternative uses that can enable the rooting of species that are difficult to propagate, with few studies involving tree species and also non-existent in mini-cuttings of yerba mate. Thus, the present research aimed to evaluate the effect of the application of biostimulant and gibberellic acid (GA₃) in the cultivation of mini-cuttings of yerba mate. The research was developed at the company Golden Tree Reflorestadora LTDA. As plant material, three clones identified as: BRS 408, BRS 409 and BRS BLD Aupaba were used. The minicuttings were treated with four concentrations of the biostimulant (0; 25; 50 and 100 mgL⁻¹), totaling 12 treatments, with four replications. In a second experiment, four concentrations (0, 50, 100, 150 mgL⁻¹) of gibberellic acid were evaluated, totaling 12 treatments, with four replications. At 150 days of age, mortality, rooting percentage, callogenesis, as well as parameters related to growth, seedling quality and gas exchange were evaluated. Under the effect of the biostimulant, the highest percentage of mortality was obtained at the concentration of 100 mg L⁻¹ and the lowest without the use of the product. As for rooting, the highest percentage found was in the Witness treatment (not using the product). For callogenesis, the highest percentage obtained was under the effect of the concentration 25 mg L⁻¹. The biostimulant showed a significant effect only for the neck diameter and for the gas exchange variables, only for the internal concentration of CO₂ (*C_i*). The tested concentrations of biostimulant had no effect on the rooting of the mini-cuttings of yerba mate and the clones did not differ in terms of rooting. Under the effect of gibberellic acid, for mortality there was no significant difference between treatments. For rooting, the Aupaba clone under the effect of concentrations of 50 mg L⁻¹ and 100 mg L⁻¹ was superior to the other treatments. As for callogenesis, the concentration 150 mg L⁻¹ had the highest median and did not differ statistically from the Control and the concentration 50 mg L⁻¹. Gibberellic acid was significantly expressive in height, root dry mass and Dickson quality index. Under the effect of gibberellic acid, stomatal conductance (*g_s*), internal CO₂ concentration (*C_i*) and transpiration rate (*E*) showed better results. The most suitable concentrations of gibberellic acid tested in rooting for clone Aupaba were 50 mg L⁻¹ and 100 mg L⁻¹. The clone that showed better rooting under the effect of gibberellic acid was Aupaba.

Keywords: yerba mate; phytohormone; vegetative propagation; adventitious rooting

1. INTRODUÇÃO

Ilex paraguariensis A. St.-Hill, é conhecida popularmente como erva-mate e pertence a família Aquifoliaceae. A espécie é endêmica da América do Sul, no Brasil ocorre no Bioma Mata Atlântica, na formação florestal Floresta Ombrófila Mista, popularmente conhecida como Mata de Araucárias (GERHARDT, 2013). A erva-mate é o principal produto florestal não madeireiro da economia no Sul do Brasil, tendo importante papel no desenvolvimento de regiões como Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Mato Grosso do Sul e principalmente no Paraná (PRODUÇÃO AGRÍCOLA MUNICIPAL, 2016).

A espécie é utilizada sobretudo na forma de infusões quentes ou frias, como o chimarrão, tererê e chá-mate (OLIVEIRA e WAQUIL, 2015), mas apresenta uma ampla aplicação comercial, pois é também utilizada para a produção de refrigerantes, em medicamentos para tratamento de hipertensão, bronquite e pneumonia, cosméticos de uso pessoal, como perfumes e desodorantes, dentre outros (PAGLIOSA *et al.*, 2010; DARTORA *et al.*, 2013). Devido as inúmeras utilidades, recentemente, ocorreu uma expansão no consumo de produtos derivados da erva mate não só no Brasil, mas da mesma forma em vários países, tais como Itália, Espanha, Estados Unidos, França, Coreia, Austrália, Japão, Alemanha, Rússia e Síria (CARDOZO-JUNIOR e MORAND, 2016).

De acordo com Kapp-Junior *et al.* (2017) o manejo extrativista da erva-mate prevalece em relação ao cultivo implantado, podendo isto estar associado ao baixo interesse em investimento do produtor rural, mas também a dificuldades em estabelecer protocolos eficientes para produção de mudas de qualidade que propiciem alta relação de custo e benefício, visto que a taxa de germinação das sementes é baixa e desuniforme, devido à imaturidade do embrião (FOWLER e STURION, 2000 ; WENDLING e SANTIN, 2015).

Uma alternativa à propagação desta espécie, diante das limitações para a produção de mudas seminais, é a propagação vegetativa (WENDLING e SANTIN, 2015), destacando a técnica de miniestaquia, pois permite selecionar genótipos promissores, trazendo vantagens à silvicultura, convertendo-se em plantios clonais homogêneos e mais produtivos, com maior qualidade de seus derivados (XAVIER *et al.*, 2009). Santin *et al.* (2015) relatam que para a erva-mate, mudas propagadas vegetativamente a partir de miniestacas juvenis possuem alta taxa de sobrevivência, bom crescimento e elevados índices de produtividade, quando comparadas a mudas obtidas por sementes.

Contudo, uma das principais problemáticas e limitações encontradas na propagação vegetativa desta espécie, pela miniestaquia, são os baixos índices de enraizamento adventício dos propágulos vegetativos (WENDLING e SANTIN, 2015) e o estabelecimento dessas mudas, sendo necessários maiores estudos para um adequado e eficiente protocolo. A formação do sistema radicial adventício é um processo complexo principalmente para espécies de plantas lenhosas. A aplicação de substâncias promotoras do enraizamento vem sendo usada com frequência e pode acelerar o processo de formação do sistema radicial, aumentando o índice de enraizamento, a velocidade de formação, qualidade, quantidade e uniformidade das raízes (FACHINELLO *et al.*, 2005).

Existem muitas pesquisas realizadas com erva-mate com diferentes concentrações de fitorreguladores na miniestaquia, mostrando resultados satisfatórios de enraizamento, entretanto, na literatura científica são inexistentes as informações a respeito de trabalhos com outros reguladores de crescimento, como exemplo, o ácido giberélico que é um hormônio vegetal que tem papel importante no processo de germinação e superação da dormência de sementes, gemas, alongação da raiz, expansão foliar e desenvolvimento de flores e frutos (TAIZ e ZAIGER, 2004).

Em contrapartida às substâncias empregadas como indutoras de enraizamento adventício, que frequentemente apontam uma formulação química danosa ao meio ambiente e com custos notáveis, os bioestimulantes têm sido apontados como uma alternativa com potencialidades de uso, já que contém princípios ativos ou agentes orgânicos isentos de substâncias agrotóxicas, capazes de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas e também podem viabilizar o enraizamento de espécies de difícil propagação.

Os estudos de bioestimulantes elaborados a partir do extrato de algas marinhas são na grande maioria realizados com espécies de interesse agrônômico, sendo escassos em espécies arbóreas e também inexistente na técnica de miniestaquia de erva-mate, justificando então a presente pesquisa.

2. HIPÓTESE

O ácido giberélico e o bioestimulante terão efeito estimulatório no enraizamento adventício das miniestacas de clones de erva-mate.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito do bioestimulante a base de extratos de algas marinhas e de ácido giberélico (GA₃) no enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate.

3.2. Objetivos específicos

- Analisar a porcentagem de mortalidade, enraizamento e calogênese das miniestacas tratadas com bioestimulante e ácido giberélico;
- Avaliar o desenvolvimento e as trocas gasosas das miniestacas tratadas com bioestimulante e ácido giberélico;
- Avaliar a concentração mais adequada de bioestimulante e de ácido giberélico no enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate;
- Verificar qual clone apresentou melhor enraizamento sob efeito do bioestimulante e ácido giberélico.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil

O gênero *Ilex* apresenta cerca de 600 espécies, sendo que 220 são nativas da América do Sul, das quais 68 ocorrem no Brasil (STURION e RESENDE, 1997). Dentre as espécies do gênero, a *Ilex paraguariensis* A. St.-Hill, é a espécie mais comum e comercialmente utilizada. É conhecida popularmente como erva-mate, pertence à família Aquifoliaceae.

Trata-se de uma planta dioica, com flores masculinas (estaminadas) e femininas (pistiladas) de coloração branca e tamanho pequeno, não vistosas e dispostas em inflorescências fasciculadas de até cinco flores (CARVALHO, 2003). A floração acontece nos meses de outubro a dezembro (LORENZI, 2008), iniciando progressivamente aos dois anos em árvores procedentes de propagação vegetativa e aos cinco em árvores advindas de sementes (CARVALHO, 2003). A frutificação ocorre entre os meses de janeiro a março (LORENZI, 2008). Seus frutos são pequenos, medindo de 6 a 8 mm de diâmetro, são do tipo baga-drupa globular, com mesocarpo carnoso, endocarpo ósseo-lenhoso, de superfície lisa, quando maduros apresentam coloração vermelho-arroxeadado, com quatro sementes envoltas em uma polpa gelatinosa (CARVALHO, 2003).

A espécie possui tronco cilíndrico, geralmente reto ou pouco tortuoso, com casca de coloração cinza-claro a acastanhada, chegando a atingir até 30 m de altura e 100 cm de diâmetro a altura do peito (DAP) na idade adulta e em condições naturais (CARVALHO, 2003). Contudo, a altura das plantas cultivadas pode variar de 3 a 5 m em média, devido ao sistema atual de condução de podas constantes e do adensamento das plantas (CANSIAN, 2003). Suas folhas são do tipo simples, alternas, glabras, coriáceas ou subcoriáceas, de coloração verde escuro, com formato obtuso e margem serrilhada ou denteada (CARVALHO, 2003), medindo de 8 a 10 cm de comprimento e de 3 a 4 cm de largura, dependendo e variando de acordo com o ambiente em que se encontram (LORENZI, 2008).

A espécie é endêmica da América do Sul, com ocorrência natural na Argentina, Brasil e Paraguai (KAPP-JUNIOR *et al.*, 2017). Cerca de 80% da área de ocorrência natural pertence ao Brasil, no Bioma Mata Atlântica na formação florestal Floresta Ombrófila Mista, popularmente conhecida como Mata de Araucárias (GERHARDT, 2013), se subdividindo entre os estados do Mato Grosso do Sul (Sul), Paraná (Sul, Centro, Oeste e Noroeste), Santa Catarina (Oeste) e Rio Grande do Sul (Centro-norte e Sul) (ESMELINDRO *et al.*, 2002). Outros pequenos nichos de ocorrência são observados em São Paulo (Serra da Catingueira e Sul do Estado), Minas Gerais (Sul) e no Rio de Janeiro (Itatiaia) (OLIVEIRA e ROTTA, 1985; CARVALHO, 2003).

Ocorre naturalmente em solos de baixa fertilidade, com baixos teores de cátions trocáveis, altos teores de alumínio e pH ácido, em solos com profundidade acima de 30 cm, com textura franca (entre 15 a 35% de argila), a argilosa (argila acima de 35%), devendo ser evitado o plantio em solos úmidos e não permeáveis (MEDRADO *et al.*, 2000; CARVALHO, 2003). As áreas de distribuição natural da erva-mate, são caracterizados por dois tipos climáticos, conforme a classificação de Köppen-Geiger: o clima temperado (Cfb) e o subtropical (Cfa), caracterizados por chuvas regulares, bem distribuídas ao longo do ano e com médias de precipitação pluviométrica variando de 1500 mm a 2000 mm. A espécie é clímax tolerante a sombra e advém de altitudes que variam de 500 m a 1500 m, com temperaturas médias anuais de 15 °C a 18 °C e geadas frequentes a pouco frequentes (OLIVEIRA e ROTTA, 1985).

4.1.1. A importância da erva-mate

A erva-mate é considerada uma espécie de grande importância ambiental e ecológica, visto que pode ser utilizada no paisagismo, na recuperação de áreas degradadas e na recomposição florestal (LORENZI e MATOS 2002). É também conceituada como uma espécie de relevante potencial cultural, social e econômico, sendo um dos principais produtos agrícolas da região Sul do Brasil, do Paraguai, da Argentina e do Uruguai (FOWLER e STURION, 2000; LORENZI e MATOS, 2002; OLIVA, 2007; IBRAMATE, 2017).

Antes mesmo de ser popularizada, as folhas desta planta já eram beneficiadas e consumidas por tribos indígenas, principalmente guaranis, que habitavam a região em torno das bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai. Os povos indígenas já a usavam como estimulante natural (IBRAMATE, 2017). Atualmente, suas folhas são amplamente utilizadas na forma de chá, e sua principal forma de consumo é o chimarrão (OLIVEIRA e WAQUIL., 2015), o qual fornece inúmeros benefícios à saúde. Reigosa *et al.* (2015) citam que a erva-mate oferece benefícios a saúde pois é um estimulante da atividade física e mental, que atua sobre nervos e músculos, e é reguladora das funções do coração e da respiração, além de exercer importante papel na regeneração celular.

A erva-mate também está inserida em diversos sistemas produtivos, como extratos solúveis para bebidas, corantes, matéria-prima para produtos de higiene e cosméticos (DARTORA *et al.*, 2013).

O processo produtivo da erva-mate integra o início da industrialização do estado do Paraná, visto que, até o início da Primeira Guerra Mundial ela foi o principal produto da economia do estado. A produção da espécie está presente em quase todo o Paraná, sendo o principal produto não madeireiro do agronegócio florestal na região (PRODUÇÃO AGRÍCOLA MUNICIPAL, 2016). A maior concentração da produção fica na região sul, coordenada pelos municípios de União da Vitória, Irati, Guarapuava, Ponta Grossa e Pato Branco, que chegam a responder por quase 90% do Valor Bruto da Produção da erva-mate no estado (KAPP-JUNIOR *et al.*, 2017).

A produção da espécie acontece em estabelecimentos agropecuários familiares, sendo 80% do total da produção advinda de propriedades com até 20 hectares, com trabalho predominantemente familiar (VASCONCELLOS, 2012), estando entre as melhores opções de renda e emprego para os pequenos e médios produtores (COELHO *et al.*, 2002).

Segundo Kapp-Junior *et al.* (2017) o manejo extrativista da erva-mate prevalece em relação ao cultivo implantado, podendo isto estar associado ao baixo interesse em investimento do produtor rural, mas também as dificuldades em estabelecer protocolos eficientes para produção de mudas de qualidade, visto que a taxa de germinação das sementes é baixa e desuniforme, devido à imaturidade do embrião (FOWLER e STURION, 2000 ; WENDLING e SANTIN, 2015) e o modelo convencional adotado, sem tecnologias adequadas, resultam no declínio da qualidade e conseqüentemente em baixa produtividade.

4.2. Propagação Seminal

A produção comercial de mudas de erva-mate é usualmente realizada por propagação sexuada (WENDLING, 2004). Isso ocorre devida a maior facilidade de produção, ao domínio pelos produtores na produção de mudas e aos baixos custos de estruturas e produção (WENDLING e SANTIN, 2015).

Entretanto, apesar de ser uma espécie utilizada há várias décadas, alguns problemas silviculturais ainda persistem e oferecem limitações e dificuldades na sua propagação.

A germinação das sementes é demorada e desuniforme (de 100 a 360 dias) (PRAT KRIKUN, 1993; MENNA, 1995) e frequentemente baixa, em geral com porcentagem inferior a 20% (STURION, 1988; MENNA, 1995). Isso porque a semente possui diferentes graus de dormência, a qual está relacionada a uma combinação de causas como a imaturidade

morfológica do embrião, a estrutura do tegumento (FOWLER e STURION, 2000) e a presença de endocarpo lenhoso (MEDEIROS e EIRA, 2006).

O longo tempo destinado ao tratamento convencionalmente utilizado para a superação da dormência das sementes, via estratificação úmida, também é um problema, visto que o método consiste em deixar as sementes encobertas em areia úmida de quatro a seis meses, resultando em um demorado período para produção das mudas (STURION, 1988).

Há certa dificuldade de obtenção de sementes de alto padrão genético (WENDLING, 2004) e da produção em determinadas épocas do ano (WENDLING e SANTIN, 2015). Além disso, as mudas utilizadas para o estabelecimento de ervais, geralmente são provenientes de viveiros que não possuem programas efetivos de qualidade, o que tem resultado em plantios com baixo rendimento (SANTIN *et al.*, 2008).

Apesar da propagação seminal permitir que determinadas características genéticas da planta mãe sejam herdadas para a geração seguinte, deve-se levar em conta a variabilidade genética das mudas produzidas por esse método (WENDLING e SANTIN, 2015). Para a obtenção de mudas de qualidade, é recomendado atentar-se as características fenotípicas da planta matriz, qualidade fitossanitária e demais características de interesse (STURION *et al.*, 1999). Vários autores (RESENDE *et al.*, 1995; STURION *et al.*, 1999; COSTA *et al.*, 2009), destacam a importância da seleção das árvores matrizes produtoras de sementes de erva-mate em relação ao vigor, forma de tronco, ramificação, idade e tipo de folha, características que estão relacionados com a folha, principal produto final de interesse comercial.

Preferencialmente, selecionar árvores sadias, adultas de meia idade, ou seja, entre 15 e 30 anos, e no caso de erva-mate plantadas, sempre com idade superior a 6 anos. Erveiras muito jovens ou muito velhas devem ser evitadas, pois produzem sementes de baixa germinação.

Ervais de baixa produtividade tem sido estabelecidos e, possivelmente, isto se deve ao fato de a maior parte das mudas desta espécie serem produzidas por sementes de baixa qualidade genética (SANTIN *et al.*, 2008). Este resultado é consequência da seleção de matrizes fundamentada apenas para o genitor feminino e consequentemente da relação genética de meios-irmãos das plantas produzidas (PIMENTEL *et al.*, 2019).

Todos estes fatores contribuem para elevar o custo de produção das mudas, além de limitar a sequência dos programas de melhoramento genético da espécie. Wendling (2004) reforça que plantios de erva-mate oriundos de sementes coletadas sem critérios técnicos, resultam em desenvolvimento heterogêneo, e com respostas negativas na produtividade.

4.3. Propagação Vegetativa

Diante das limitações para a produção de mudas seminais, uma alternativa é a propagação vegetativa de indivíduos geneticamente superiores (WENDLING e SANTIN, 2015). A propagação vegetativa de plantas consiste na multiplicação assexuada de propágulos, de modo a gerar indivíduos geneticamente idênticos a planta mãe (FERRARI *et al.*, 2004), não ocorrendo a união de gametas (HIGASHI *et al.*, 2000).

A erva-mate pode ser propagada assexuadamente pelas técnicas de enxertia, micropropagação, estaquia e miniestaquia (WENDLING *et al.*, 2009).

4.3.1. Enxertia

A enxertia consiste na união de partes de uma planta em outra, que lhe sirva de suporte e de estabelecimento de comunicação com o sistema radicial (XAVIER *et al.*, 2013). O enxerto é representado por uma parte da planta que se planeja multiplicar, já o porta-enxerto é o que recebe o enxerto e, frequentemente, é uma planta jovem, com boa taxa de crescimento, oriunda de sementes ou estaca, já rustificada e resistente a pragas e doenças. Por meio da regeneração de tecidos, esse conjunto passa a ser uma única e nova planta. (WENDLING *et al.*, 2005).

Os primeiros estudos com enxertia de erva-mate foram realizados por Niklas em 1990, o qual não obteve sucesso com a técnica de borbulhia (enxerto de gema). Oliszeski e Neiverth (2002) avaliaram o método de garfagem e de mergulhia, o melhor resultado foi alcançado com a garfagem, onde obtiveram 80% de pegamento em condições de viveiro.

A enxertia não provoca o rejuvenescimento, mantendo as mudas produzidas com a mesma idade fisiológica da planta matriz, incluindo o estímulo para o florescimento (ALFENAS *et al.*, 2004). As desvantagens são o alto risco de rejeição, a dificuldade de pegamento de algumas espécies, a possibilidade de transmissão de doenças e a diminuição do tempo de vida das plantas (WENDLING *et al.*, 2005).

4.3.2. Micropropagação

A micropropagação é o cultivo de células de plantas, tecidos ou órgãos diferenciados como caule, broto, gema ou raiz, em meio de nutritivo em condições de laboratório (GEORGE

et al., 2008). Possibilita um grande número de indivíduos a partir de poucas matrizes, em curto espaço de tempo e em reduzidas áreas de laboratório.

Como desvantagem e limitações da técnica de micropropagação podem ser citadas a alta possibilidade de contaminação, alto custo, a variação das condições de cultura entre e dentro de clones e a dificuldade de encontrar meio adequado para a espécie desejada (GEORGE *et al.*, 2008).

Um dos principais entraves ao desenvolvimento *in vitro* de genótipos selecionados de erva-mate refere-se aos elevados índices de contaminação durante a fase de estabelecimento de explantes, que por sua vez acarreta em baixa porcentagem de estabelecimento. Dutra e Silva (2009) não verificaram diferença significativa entre diferentes meios de cultura utilizados para o estabelecimento de segmentos nodais *in vitro*, tendo uma porcentagem máxima de apenas 5,25%, ocorrendo elevada taxa de contaminação fúngica e bacteriana.

Os protocolos para erva-mate têm se limitado ao enraizamento *in vitro* de explantes obtidos por sementes ou plantas juvenis com posterior aclimatização. Estudos envolvendo o enraizamento *ex vitro* são necessários, pois poderiam maximizar a micropropagação da erva-mate, por realizar o enraizamento e a aclimatização ao mesmo tempo, com baixo custo e menor número de repicagem das mudas (WENDLING e SANTIN, 2015).

4.3.3. Estaquia

Os trabalhos envolvendo a propagação vegetativa em espécies florestais começaram com o gênero *Eucalyptus*, nos anos 50, no Marrocos e norte da África, estudando a estaquia de mudas de origem seminal (ALFENAS *et al.*, 2009).

A técnica de estaquia constitui-se na obtenção de mudas a partir de segmento de galho, caule, raiz, ramo ou folha, coletados de uma planta matriz, selecionada por meio de suas características de produtividade e qualidade, fazendo com que a muda apresente então as mesmas características da planta matriz (WENDLING e SANTIN, 2015).

A vantagem da estaquia retrata a homogeneidade das plantas desenvolvidas, herança das características da planta de interesse, possibilidade de multiplicação de plantas híbridas e de indivíduos resistentes a pragas e doenças (WENDLING, 2004). Além disso, a estaquia permite a multiplicação de plantas que não produzem ou produzem pouca semente, de plantas cujas sementes apresentam custo elevado, de mudas em menor tempo e durante todo o ano, levando em consideração as condições climáticas e estruturais disponíveis (DIAS *et al.*, 2012).

De uma maneira geral, os resultados encontrados em termos de enraizamento de estacas de espécies florestais nativas são contrastantes, há relatos de enraizamento acima de 90% para determinadas espécies, enquanto que outras não enraízam (XAVIER *et al.*, 2009). Para a erva-mate, os índices de enraizamento das estacas têm sido baixos e dependentes de diversos fatores, dentre os quais destacam-se o genótipo, a idade e o sexo das plantas matrizes (WENDLING e SANTIN, 2015).

Santos (2011) ao trabalhar com a estaquia de 16 genótipos de erva-mate, obteve enraizamento de 5,7% a 63,7% variando entre genótipos, estações do ano e uso ou não de regulador de crescimento AIB. Prat Krikun e Aranda (1980) relataram que, de um total de 106 clones selecionados de erva-mate, 22 foram eliminados devido ao seu baixo índice de enraizamento, e os outros 84 excedentes apresentaram uma média geral de 8,3% de enraizamento entre os anos de 1975 a 1978.

O sucesso obtido na propagação vegetativa sofre influência da espécie/clonagem (WENDLING e DUTRA, 2010), da estação do ano, condições fisiológicas da planta mãe, variações nas condições climáticas (BRONDANI *et al.*, 2012; XAVIER *et al.*, 2013), da posição do propágulo na planta matriz, do tamanho, tipo, armazenamento e hora de coleta do propágulo (BRONDANI *et al.*, 2012; FERREIRA *et al.*, 2012; PIRES *et al.*, 2013), do meio de enraizamento, das substâncias de crescimento e dos produtos químicos aplicados (WENDLING *et al.*, 2010; DIAS *et al.*, 2012; XAVIER *et al.*, 2013).

É importante frisar que a erva-mate é uma espécie de difícil enraizamento, devendo ser levado em consideração os fatores que afetam este processo e que devem ser otimizados para a obtenção de êxito (WENDLING, 2004). Entre os fatores limitantes está a idade ontogenética da planta matriz (WENDLING *et al.*, 2014), que pode agir desfavoravelmente no enraizamento, sendo fundamental o rejuvenescimento prévio para que se obtenham resultados satisfatórios (WENDLING *et al.*, 2007; WENDLING *et al.*, 2014).

A transição da fase juvenil para a adulta interfere no enraizamento das plantas lenhosas (WENDLING e XAVIER, 2001), sendo que a perda da capacidade de formar raízes é um dos principais efeitos da maturação (DIAZ-SALA *et al.*, 1996), gerando problemas na propagação vegetativa, porque as características esperadas de uma planta matriz são expressas depois da maturidade (HARTMANN *et al.*, 2002).

Uma das principais limitações à produção de mudas de erva-mate por estaquia, em escala comercial, está relacionada à carência de métodos eficientes de rejuvenescimento de material adulto (WENDLING *et al.*, 2007; BRONDANI *et al.*, 2008). Dessa forma, o

entendimento do processo de maturação das plantas pode incrementar as perspectivas de sucesso na clonagem de árvores adultas, trazendo maior eficiência para a seleção, melhoramento e, sobretudo, agregando informações para a silvicultura clonal da espécie (WENDLING *et al.*, 2014).

Vários trabalhos vêm indicando a importância da juvenilidade na propagação de erva-mate, concentrando esforços no desenvolvimento de protocolos eficientes para a produção de mudas por estaquia. Bitencourt *et al.* (2009) avaliaram o enraizamento de estacas de brotações do ano, proveniente da copa de árvores de 13 anos de idade, e estacas de rebrota, provenientes de decepa realizada em árvores de 17 anos de idade. Estes autores concluíram que ramos rejuvenescidos por meio da rebrota de erva-mate possuem maior potencial para o enraizamento. Wendling *et al.* (2013) analisaram o enraizamento de estacas obtidas a partir de brotos epicórmicos em galhos obtidos de árvores de erva-mate de 19 anos de idade, verificando a viabilidade da utilização dessa técnica para obter brotos em quantidade e qualidade para emprego na estaquia, configurando uma estratégia para o resgate de matrizes adultas, mas ressaltam que ainda há necessidade de maiores estudos.

4.3.4. Miniestaquia

Com o intuito de contornar as limitações no enraizamento por estaquia, Wendling *et al.* (2007) empregaram a miniestaquia como uma alternativa para a propagação vegetativa e produção de mudas de erva-mate, tornando possível clonar comercialmente genótipos de difícil enraizamento. Esta técnica de clonagem surgiu na década de 1990, sendo considerada um aprimoramento da estaquia convencional, e consiste no uso de brotações de mudas propagadas por estaquia ou de mudas produzidas por sementes como fonte de propágulos vegetativos (WENDLING *et al.*, 2010; XAVIER *et al.*, 2013).

A miniestaquia é a técnica mais difundida entre as médias e grandes empresas florestais que trabalham com a produção de mudas de *Eucalyptus spp.* (WENDLING; SANTIN, 2015), permitindo selecionar genótipos promissores, trazendo vantagens à silvicultura, como a formação de plantios clonais homogêneos e mais produtivos e com maior qualidade de seus derivados (XAVIER *et al.*, 2009).

Xavier *et al.* (2003) relatam viabilidade técnica do uso da miniestaquia a partir de material de origem seminal para a produção de mudas de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.), tornando-se uma alternativa para produção de mudas da espécie durante todo o ano e

principalmente nas situações em que a semente é o insumo limitante, ou para propagação de espécies com sementes de baixo índice de germinação ou de difícil enraizamento.

Em comparação à estaquia, a miniestaquia oferece vantagens, principalmente quanto ao maior grau de juvenildade dos propágulos vegetativos utilizados, maior controle fitossanitário e da nutrição mineral das minicepas conduzidas em sistemas semi-hidropônicos automatizados, permitindo a obtenção de brotações com qualidade fisiológica mais aptas ao processo de enraizamento (WENDLING e DUTRA, 2010; FREITAS *et al.*, 2013; XAVIER *et al.*, 2013), além da redução da área produtiva necessária pra a produção de mudas, dos custos e maior eficiência das atividades de manejo no minijardim clonal, como irrigação, nutrição e controle de pragas e doenças (WENDLING *et al.*, 2005).

Na miniestaquia de erva-mate, os propágulos são menores em comparação a técnica de estaquia. Geralmente são utilizadas miniestacas com tamanho de 6 cm, com a remoção do ápice e contendo um par de folhas com redução de aproximadamente 50% da área total foliar (BRONDANI *et al.*, 2007).

O êxito da miniestaquia depende de alguns fatores, e considerando que as miniestacas apresentam maior sensibilidade às condições ambientais, há necessidade de maior agilidade entre a coleta das miniestacas e o seu estaqueamento em casa de vegetação (WENDLING e SOUZA-JUNIOR, 2003).

Inúmeros estudos têm sido realizados com esta técnica, visando a obtenção de protocolos eficientes para a erva-mate. Wendling e Souza-Junior (2003) verificaram média geral de 75% de enraizamento de miniestacas de erva-mate de origem seminal, com a condução das minicepas em sacos plásticos. Wendling e Dutra (2008) apresentaram uma solução nutritiva para o manejo de minicepas de erva-mate em sistemas semi-hidropônicos do tipo canaletão com areia, objetivando o aumento na produção de brotos. No entanto, os autores relatam que a solução ainda necessita de ajustes específicos, para que os brotos sejam menos tenros.

Wendling *et al.* (2007) utilizaram a miniestaquia para a produção de mudas de erva-mate objetivando o aumento dos índices de enraizamento adventício. Os autores verificaram 95,6% de sobrevivência de miniestacas de mudas com origem seminal, conduzidas em sistema semi-hidroponico. Após 11 coletas de brotações, foram obtidos altos índices de enraizamento de miniestacas, com média geral de 85,8% de enraizamento, fato que viabilizou o protocolo estabelecido como método de clonagem para a espécie. Em estudos avaliando diferentes tipos de substrato na miniestaquia de erva-mate, Brondani *et al.*, (2007) recomendam a mistura de

casca de arroz carbonizada e casca de pinus com vermiculita (1:1 v/v) como a mais indicada para o enraizamento adventício.

4.4. Uso de fitorreguladores na miniestaquia

Na propagação vegetativa, o enraizamento é um processo anatômico e fisiológico complexo, tratando-se do redirecionamento do desenvolvimento de células vegetais totipotentes para a formação de um meristema voltado a formação de um novo sistema radicular (XAVIER *et al.*, 2009). Portanto, o sistema radicular é denominado adventício, quando a raiz é induzida em um local diferente daquele onde se forma no curso normal de desenvolvimento (ALFENAS *et al.*, 2009; XAVIER *et al.*, 2009).

A formação do sistema radicial adventício é um processo complexo principalmente para espécies de plantas lenhosas, sendo afetado por fatores endógenos, tais como características genéticas, idade e qualidade dos propágulos, além de fatores externos como tratamento com reguladores vegetais e época do ano (NEGISHI *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2016). O balanço hormonal entre inibidores e promotores durante o processo de formação do novo sistema radicial é essencial e pode ser garantido com a aplicação exógena de reguladores de crescimento (HARTMANN *et al.*, 2002).

A aplicação de substâncias promotoras do enraizamento vem sendo usada com muita frequência e pode acelerar o processo de formação do sistema radicial, aumentando o índice de enraizamento, a velocidade de formação, qualidade, quantidade e uniformidade das raízes (FACHINELLO *et al.*, 2005). A aplicação exógena de fitorreguladores irá compensar a falta endógena dos hormônios em plantas consideradas de difícil enraizamento (HARTMANN *et al.*, 2002).

Os fitorreguladores, funcionalmente assemelham-se aos hormônios vegetais, entretanto, são produzidos de forma sintética, e aplicados nas plantas exogenamente. Hartmann *et al.* (2002) destacam que a aplicação exógena de ácido indolbutírico (AIB) sintético pode simplesmente elevar a sua condição interna, convertendo-se parcialmente em ácido indolacético (AIA) no tecido vegetal, ou apresentar efeito sinérgico, modificando a ação ou a síntese de AIA, ou a sensibilidade dos tecidos ao AIA.

O AIB é uma das principais substâncias indutoras, estimulando a iniciação do enraizamento junto à região do corte do propágulo devido ao transporte polar (DIAS *et al.*,

2012; PIRES *et al.*, 2013). Segundo Taiz e Zeiger (2004), a resposta da planta à auxina endógena ou aplicada pode variar com a natureza do tecido e com a concentração desse regulador de crescimento já presente no propágulo.

Wendling *et al.* (2006) concluíram que tanto propágulos provenientes de minicepas produzidas por semente quanto os provenientes de estacas de árvores adultas de erva-mate responderam positivamente ao aumento da concentração de ácido indolbutírico (AIB), sendo que a concentração de 6.000 mg L⁻¹ de AIB resultou nos melhores índices de enraizamento. Wendling e Santin (2015) recomendam o uso de AIB nas concentrações de 0 a 3.000 mg L⁻¹, na miniestaquia de erva-mate, podendo variar em função do clone e da idade da planta matriz, sendo que essas concentrações devem ser avaliadas para cada clone, condições climáticas e manejo.

Há diversas pesquisas realizadas com a erva-mate com diferentes concentrações de fitorreguladores na miniestaquia, mostrando resultados satisfatórios de enraizamento, entretanto, na literatura científica são inexistentes as informações a respeito de trabalhos com outros reguladores de crescimento, como exemplo, o ácido giberélico.

4.5. Ácido giberélico no enraizamento adventício

A giberelina é um hormônio vegetal com efeito demonstrado em muitos processos fisiológicos, tendo um papel importante no processo de germinação e superação da dormência de sementes, gemas, alongação da raiz, expansão foliar e desenvolvimento de flores e frutos (TAIZ e ZAIGER, 2004).

O papel do ácido giberélico (GA₃) na indução e crescimento de raízes é, em grande parte, incerto (KOCHBA *et al.*, 1974). O efeito de um fitoregulador, além de ser dependente dos fatores ambientais, depende também da concentração, do número de aplicações, da época de aplicação e da espécie ou cultivar (COELHO *et al.*, 1983). Segundo George (1993), apesar de contribuir em alguns casos para a formação de raízes, a presença de ácido giberélico (GA₃) no meio de cultura frequentemente impede ou diminui a formação de raízes. Frassetto (2007) explica que as giberelinas podem competir com as auxinas livres no meio, diminuindo a formação de raízes. Ramos (1980) relata que a ação da giberelina é variada, de acordo com a concentração utilizada, o número de aplicações e a espécie que será tratada.

O efeito do ácido giberélico (GA₃), de acordo com Kochba *et al.* (1974), pode ser explicado pela hipótese de que ele influencia diretamente a iniciação de uma zona

meristemática radicular e/ou estimula o desenvolvimento de uma zona radicular existente. A incorporação de ácido giberélico, na concentração de 1 mg L⁻¹ aumentou o desenvolvimento de raízes em embriões de citros, plenamente ou parcialmente desenvolvidos, enquanto o uso de reguladores de crescimento, usualmente conhecidos como estimulantes do enraizamento, a exemplo do ácido naftalenoacético (ANA) e do ácido 3-indolbutírico (AIB) o suprimiram (KOCHBA *et al.* 1974).

A aplicação de giberelina em diferentes espécies de *Eucalyptus* demonstrou mudanças na distribuição de biomassa com maior alocação no caule em detrimento do sistema radicular e principalmente das folhas (LOPES *et al.*, 2015). Wagner Júnior *et al.* (2008) realizaram aplicações de ácido giberélico, nas concentrações de 0; 50; 100; 150 e 200 mg L⁻¹, na parte aérea de mudas de pessegueiro e relataram que com o aumento na concentração de ácido giberélico, houve redução na massa de matéria seca da raiz.

Amaro *et al.* (2017) avaliaram doses de giberelina nas concentrações de 0 mg L⁻¹; 25 mg L⁻¹; 50 mg L⁻¹; 100 mg L⁻¹; 150 mg L⁻¹; e 200 mg L⁻¹ em aplicação única, via foliar em *Eucalyptus sp.*, e observaram que a aplicação de giberelina promoveu alterações significativas na altura da planta, área foliar, acúmulo de biomassa e razão de massa radicular, obtendo-se mudas mais vigorosas, possibilitando menor tempo de aclimação e melhor estabelecimento em campo.

Freitas *et al.* (2018) notaram que a aplicação de giberelina proporcionou alterações significativas no comprimento de raiz e xilopódio, clorofila total e carotenóide e que as doses crescentes de giberelina interferiram no crescimento vegetativo das mudas de *Spondias tuberosa* de forma positiva obtendo mudas mais vigorosas, possibilitando melhor estabelecimento em campo e menor tempo de aclimação.

4.6. Bioestimulantes na produção de mudas

Em contrapartida às substâncias empregadas como indutoras de enraizamento adventício, que frequentemente apontam uma formulação química danosa ao meio ambiente, e com custos notáveis que sobrecarregam a produção de mudas, há a possibilidade de utilização de bioestimulantes, que também podem viabilizar o enraizamento de espécies de difícil propagação.

Os bioestimulantes são compostos orgânicos, que possuem em sua formulação uma elevada concentração de nutrientes, baixo custo e ainda ação hormonal que pode estimular o enraizamento adventício (MEDEIROS *et al.*, 2003). Podem ser aplicados em sementes, plantas e solos (AVILA *et al.*, 2008), proporcionando alterações nos sistemas morfológicos, fisiológicos, e em processos vitais e estruturais (CASTRO e VIEIRA, 2001; AVILA *et al.*, 2008), elevando a produtividade, agindo como indutores de resistência, promotores de crescimento e protetores da planta (ALVES *et al.*, 2001).

Souza e Peres (2016) avaliaram os efeitos das aplicações de dois biofertilizantes na produção e qualidade de mudas de *Eucalyptus dunnii* e encontraram que ao final de 90 dias, a aplicação dos biofertilizantes proporcionou melhoria significativa da qualidade das mudas, resultando no maior incremento das variáveis altura, peso de matéria fresca e seca da parte aérea e no peso de matéria fresca e comprimento de raízes.

Mayer *et al.* (2018) utilizaram aplicação de biofertilizante à base de aminoácidos na miniestquia de *Eucalyptus benthamii*, variando apenas o tempo (30 e 60 minutos) e a forma de aplicação (imersão da base das miniestacas; combinação entre a imersão e a pulverização das mudas) do biofertilizante, e encontraram que as miniestacas submetidas à imersão no biofertilizante por 30 minutos resultaram em maiores médias de altura, diâmetro do colo e comprimento de raiz, não sendo detectado efeito significativo em relação às formas de aplicação do biofertilizante.

Atualmente, diversas algas são comercializadas em nível mundial como bioestimulantes e/ou fertilizantes (SOUZA *et al.*, 2019). Os extratos de algas marinhas contêm diversos reguladores de crescimento, tais como citocininas, auxinas, giberelinas (DURAND *et al.*, 2003), além de alguns macronutrientes, como Ca, K, P, e micronutrientes como Fe, Cu, Zn, B, Mn, Co, Mo, (KHAN, 2009) necessários para o desenvolvimento e crescimento de plantas.

Ao contrário dos fertilizantes químicos, os extratos de algas são biodegradáveis, não tóxicos, não poluentes e não oferecem risco para os seres humanos e animais (RATHORE, 2009). As macroalgas marinhas sintetizam hormônios vegetais, e além disso, existem relatos de respostas das algas sobre o crescimento de plantas, resistência aos estresses bióticos e abióticos, qualidade nutricional dos alimentos e favorecimento de microrganismos benéficos do solo (KHAN, 2009).

Souza *et al.* (2019) conduziram estudo com bioestimulante à base de extrato de alga (Vitasoil[®]) aplicado diretamente ao solo ou via pulverização foliar em mudas de café recém-plantadas, e observaram melhor desenvolvimento inicial do cafeeiro em relação ao diâmetro do

coleteo, peso de matéria fresca e seca da parte aérea, das raízes e total, número de folhas por muda, área foliar, altura da planta, comprimento de raiz e relação parte aérea/raiz.

Nos últimos anos, tem sido observado crescente interesse em substâncias bioestimulantes naturais, entretanto, a utilização das algas marinhas no mercado ainda é pouco representativa, apesar das pesquisas científicas mostrarem a sua grande potencialidade (MATYSIAK *et al.*, 2011). Os estudos de bioestimulantes com extrato de algas marinhas são na grande maioria realizados com espécies de interesse agrônômico, sendo escassos em espécies arbóreas e inexistente no enraizamento de clones de erva-mate.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Descrição do local de estudo

A pesquisa foi desenvolvida na empresa *Golden Tree* Reflorestadora LTDA (Figura 1), localizada no Distrito de Entre Rios, na Gleba Cachoeira lote 63 A (coordenadas: 25°34'02''S e 51°30'44''O, 1083 m de altitude), no município de Guarapuava, estado do Paraná. O município de Guarapuava se localiza na região Centro-Sul do Estado, o clima, conforme a classificação climática de Koppen-Geiger é do tipo Cfb, subtropical mesotérmico-úmido, situando-se na zona de clima extratropical do Paraná, e sem estações secas definida, com verões amenos e geadas frequentes no inverno (DA COSTA *et al.*, 2017). A temperatura média anual é de aproximadamente 17 °C e a precipitação pluviométrica é de 1900 mm (THOMAZ e VESTENA, 2003).



Figura 1. Empresa *Golden Tree Reflorestadora LTDA*, localizada no Distrito de Entre Rios, na Gleba Cachoeira lote 63 A, município de Guarapuava – Paraná.

5.2. Material vegetal

O material vegetal utilizado no estudo foi constituído por miniestacas coletadas em minicepas de três clones de *I. paraguariensis*, identificados como BRS 408, BRS 409 e BRS BLD Aupaba.

O material genético BRS 409 (Figura 2A), estabelecido em minijardim clonal há 2 anos, foi obtido a partir de propágulos oriundos de um indivíduo da procedência de Bocaiúva do Sul – PR. A bebida obtida de suas folhas, apresenta sabor medianamente suave, e a finalidade do material é a produção de massa foliar. A produtividade esperada do clone BRS 409 é de 24.000 kg ha⁻¹ de massa verde, a cada 18 meses, em plantio de grande adoção tecnológica, desde que plantada em espaçamento cuja área vital seja de 4,5 m² por planta, com sombreamento de até 30% ou sob pleno sol (WENDLING *et al.*, 2017).

O material genético BRS BLD Aupaba (Figura 2B), estabelecido em minijardim clonal há 4 anos, pertence ao sexo feminino, e é proveniente de propágulos retirados de matriz geneticamente superior, selecionada em erval nativo do município de São Mateus do Sul-PR. A árvore matriz tem idade estimada superior a 80 anos, 4,8 m de altura e produção média de biomassa de folhas e galhos (menores que 7 mm) de 50 kg, foi resgatada e rejuvenescida pelo método de enxertia seriada. Sua finalidade também é a produção de massa foliar apresentando sabor da infusão considerado muito suave (WENDLING *et al.*, 2017).

O material genético BRS 408 (Figura 2C), estabelecido em minijardim clonal há 2 anos, foi obtido a partir de propágulos oriundos de um indivíduo selecionado na progênie de uma procedência de Cascavel – PR. A finalidade do material é a produção de massa foliar para a produção de bebidas, a qual apresenta sabor medianamente suave. A produtividade esperada do clone BRS 408 é de 18.000 kg ha⁻¹ de massa verde, a cada 18 meses, em plantio com alta adoção tecnológica, desde que plantada no espaçamento de 3 m x 1,5 m, sob pleno sol ou com sombreamento de até 30% (WENDLING *et al.*, 2017).

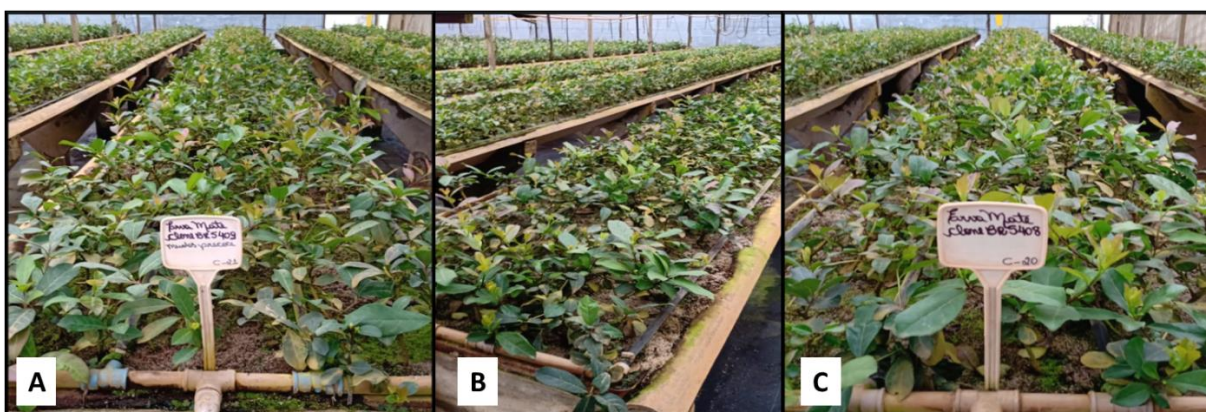


Figura 2. Clones de erva-mate estabelecidos em minijardim clonal. **A)** Clone BRS 409; **B)** Clone Aupaba; **C)** Clone BRS 408.

As minicepas dos três clones avaliados estão estabelecidas em minijardins clonais, em canaletão de fibro-cimento, com dimensões de 18 m x 0,8 m x 0,25 m, preenchidos com areia industrial de granulometria média, cultivadas em sistema semi-hidropônico (Figura 3). O espaçamento adotado nos minijardins para o estabelecimento das minicepas é de 18 cm x 9 cm, entre linhas e entre plantas, respectivamente. As minicepas recebem fertirrigação por gotejamento três vezes ao dia, em dias frios, e até seis vezes ao dia em dias quentes. Os minijardins clonais encontram-se ao abrigo de cobertura plástica transparente difusora de 150 micras.



Figura 3. Minicepas dos três clones de erva-mate, cultivadas em canaletão de fibro-cimento em sistema semi-hidropônico.

A nutrição mineral das minicepas seguiu os procedimentos operacionais da empresa, com base em análises foliares, em que a solução nutritiva é ajustada a cada 90 dias, de acordo com a necessidade de cada material genético. A formulação básica da solução nutritiva aplicada nos minijardins clonais é, normalmente, composta pelos fertilizantes fosfato monopotássico (51,5 % de P_2O_5 e 34 % de K_2O), nitrato de cálcio (17 % de $N-NO_3^-$ e 23,5 % de Ca) e sulfato de magnésio (9 % de Mg e 11% de $S-SO_4^{2-}$), com vazão de $1,54 L m^{-2}$ e pH ajustado para 5,5 unidades.

O pH da areia é medido uma vez a cada 30 dias, e mantido na faixa entre 4,5 e 5,5 unidades. Uma vez por semana é medida a condutividade elétrica (CE) da areia, sendo considerados valores ideais de CE, aqueles menores que $1,7 mS.cm^{-3}$.

As minicepas foram mantidas em regime de podas seletivas de produção, visando a coleta das brotações para o preparo de miniestacas, e uma vez ao ano, quando necessário, são realizadas podas de limpeza para renovação de brotações.

5.3. Coleta de brotações no minijardim clonal e fases da miniestaquia

A coleta das miniestacas foi realizada no período matutino, utilizando tesoura de poda previamente esterilizada em álcool 70% (v/v). Após a coleta, as brotações foram acondicionadas em caixas de isopor com tabletes de serragem congelados, envoltos com papel

toalha para evitar danos aos propágulos por congelamento, visando manter as condições de turgescência dos propágulos e reduzir os processos de oxidação (Figura 4).

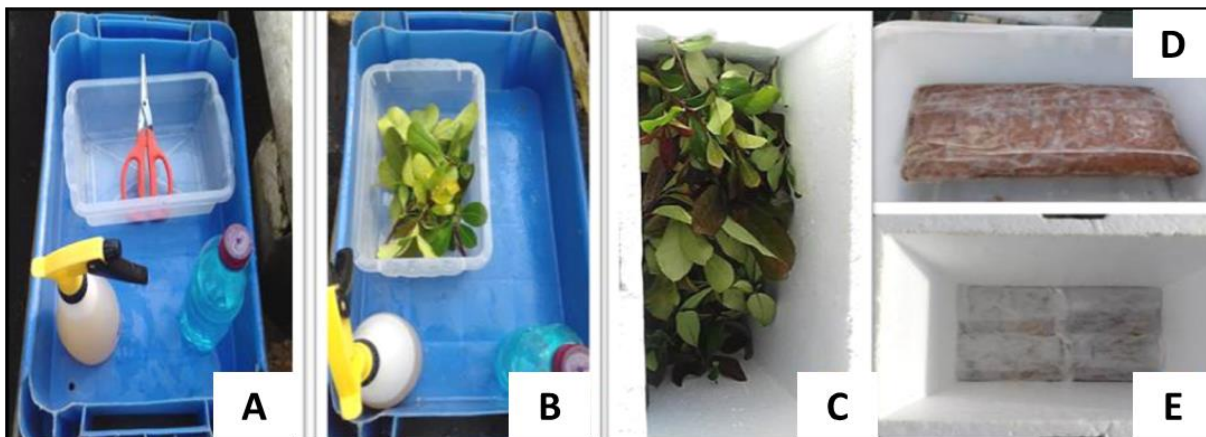


Figura 4. Coleta de brotações e miniestaquia de erva mate. **A)** Materiais utilizados para coleta de miniestacas, na parte inferior da foto (borrifador e garrafa pet contendo solução de álcool 70 %), na porção superior da foto (bandeja e tesoura de ponta fina); **B)** Início da coleta (bandeja contendo miniestacas); **C)** Miniestacas acondicionadas em caixa de isopor; **D)** Tablete de serragem congelado; **E)** Tabletes de serragem congelados envoltos por papel toalha, dispostos no fundo da caixa de isopor.

As miniestacas foram confeccionadas com dimensões entre 7 a 10 cm de comprimento, com 2 a 4 folhas, as quais foram mantidas inteiras, sem redução da área foliar (Figura 5A). Após o preparo das miniestacas, o estaqueamento foi realizado em tubetes de 55 cm³ (Figura 5B), preenchidos com substrato comercial, cuja composição contém turfa, vermiculita, resíduo orgânico industrial estabilizado, calcário, pH 5,5, condutividade elétrica CE: 0,4 mS.cm⁻³ (Figura 5C).

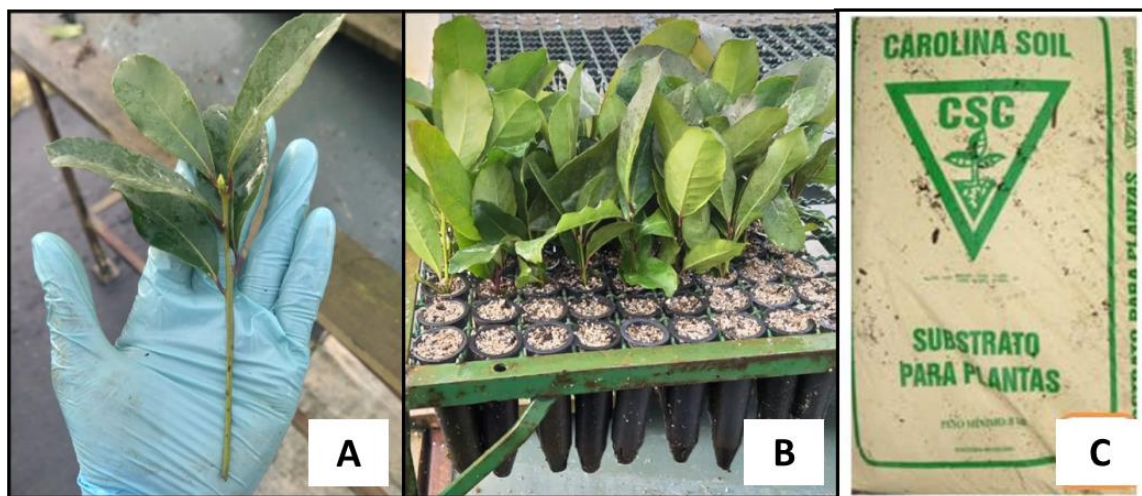


Figura 5. Preparo para estaqueamento **A)** Miniestaca de erva mate (padrão da empresa); **B)** Estaqueamento realizado em tubetes de 55 cm³; **C)** Substrato utilizado no cultivo das miniestacas.

Após o estaqueamento, as miniestacas foram mantidas em casa de vegetação, sob sombreamento de 50%, com umidade do ar superior a 80%, mantida por meio de nebulização intermitente. A temperatura na casa de vegetação pode ter sofrido variações entre 8 a 31° C durante os meses mais frios e entre 10 a 40 ° C nos meses mais quentes, de acordo com o histórico de anotações de temperatura da empresa, sendo necessário efetuar irrigações via aspersão (lâminas de 0,5 a 1 mm). Em dias mais quentes foram realizadas entre 2 e 16 aspersões, e nos dias mais frios ou encobertos cerca de 6 a 8 aspersões, para que não haja diminuição da umidade relativa do ar dentro do ambiente da casa de vegetação.

Aos 20 dias após o estaqueamento, as miniestacas passaram a receber, diariamente, a aplicação de 200 mL de solução nutritiva por bandeja, administrada via foliar e aplicada por meio de bomba costal, até completarem 90 dias de idade. A solução nutritiva foi composta pelos fertilizantes monoamônio-fosfato (MAP) (12% N-NH₄⁺ e 61% P₂O₅); nitrato de cálcio (17% N-NO₃ e 23,5% Ca); nitrato de potássio (12% N-NO₃⁻, 45% K₂O e 1,2% S-SO₄²⁻) e sulfato de magnésio (9% Mg e 11% S-SO₄²⁻); e pela mistura de fertilizantes contendo micronutrientes quelatados com EDTA (1,2% Mg, 0,85% B, 0,5% Cu, 3,22% Mn, 0,06% Mo, 4,2% Zn e 9,4% Fe).

Até os 90 dias de idade, as miniestacas permaneceram em casa de vegetação sendo mantidas sob nebulização e recebendo fertilização via pulverização foliar. Após esse período, a irrigação foi reduzida gradativamente, com o intuito da adequada aclimação. Nesta etapa,

dos 90 até os 150 dias, as miniestacas receberam maior luminosidade, ficando sombreadas apenas nas horas mais quentes do dia, das 10 da manhã até às 15 horas da tarde.

Para a presente pesquisa, foram realizados dois experimentos independentes, com todas as fases supracitadas, que serão descritos a seguir.

5.4. EXPERIMENTO I: Aplicação de bioestimulante nas miniestacas visando estimular o enraizamento dos clones

Após o preparo das miniestacas e previamente ao estaqueamento, a base das miniestacas foi imersa por cinco segundos em quatro concentrações do bioestimulante VitaSoil® (Figura 6A), desenvolvido pela empresa Alta Brasil, por meio de uma nanotecnologia e cuja composição básica contém extrato de algas marinhas, complexo de enzimas ativas e fonte de carbono orgânico, com a finalidade de induzir o aumento do índice de enraizamento.

As quatro concentrações de VitaSoil® avaliadas foram 0; 25; 50 e 100 mg L⁻¹, correspondendo aos tratamentos testemunha (controle), o qual as miniestacas não foram imersas no bioestimulante, metade da concentração padrão utilizada no viveiro, concentração padrão e o dobro da concentração padrão.

Para o preparo das concentrações, o bioestimulante foi diluído em água de mina, não clorada e sem tratamento, com 48 horas de antecedência ao seu uso (Figura 6B). Cada cápsula do bioestimulante contém 1,0 g. Na concentração padrão utilizada no viveiro (50 mg L⁻¹), uma cápsula de 1,0g foi diluída em 20 L de água. Na concentração correspondente a metade da concentração padrão (25 mg L⁻¹), foi feita diluição de uma cápsula de VitaSoil® em 40 L de água. Para o preparo da concentração equivalente ao dobro da concentração padrão (100 mg L⁻¹), uma cápsula de VitaSoil® foi diluída em 10 L de água.



Figura 6. Preparo das concentrações de biostimulante utilizadas antes do estaqueamento. **A)** Imersão da base da miniestaca nas soluções do bioestimulante; **B)** A esquerda da foto (capsula de 1,0 g do bioestimulante), a direita da foto (bioestimulantes já diluído em água de mina não clorada e sem tratamento).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 3x4, sendo o fator um constituído por três clones (BRS 408, BRS 409 e BRS BLD Aupaba) e o fator dois por quatro concentrações do bioestimulante (0; 25; 50 e 100 mg L⁻¹), totalizando 12 tratamentos, com quatro repetições (blocos), com 60 plantas por unidade experimental, totalizando 2.880 miniestacas.

5.5. EXPERIMENTO II: Aplicação de ácido giberélico nas miniestacas visando estimular o enraizamento dos clones

Este experimento teve por finalidade avaliar o efeito do fitormônio ácido giberélico (GA₃), no enraizamento das miniestacas.

Após o preparo das miniestacas, a base destas foi imersa por cinco segundos, em quatro concentrações de GA₃, nas concentrações (0; 50; 100 e 150 mg L⁻¹).

Para o preparo das concentrações, o fitormônio foi diluído em álcool 70% (v/v). Cada porção do produto a base de ácido giberélico continha 1,0 g e foi diluído em 10mL de álcool 70% (v/v). Na concentração padrão utilizada no viveiro, uma porção de 1,0 g pré-diluída em 10 mL de álcool 70% foi acrescentada em 10 L de água (concentração 100 mg L⁻¹). Em seguida, foi feita diluição de 1,0 g em álcool 70% e acrescentada em 20 L de água, correspondente à meia concentração (concentração 50mg L⁻¹). E para o preparo da concentração equivalente à 150 mg L⁻¹, uma porção de 1,0g do fitormônio pré-diluída em álcool 70% (v/v) foi acrescentada em 6,7 litros de água. O tratamento Testemunha (controle, concentração zero) não entrou em contato com o fitormônio.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 3x4, em que os tratamentos foram constituídos por três clones (BRS 408, BRS 409 e BRS BLD Aupaba) e quatro concentrações de GA₃ (0; 50; 100 e 150 mg L⁻¹), totalizando 12 tratamentos, com quatro repetições (blocos), com 60 plantas por unidade experimental, totalizando 2.880 miniestacas.

5.6. Avaliações

Em ambos os experimentos, foram realizadas avaliações das miniestacas aos 150 dias de idade. Primeiramente foram avaliadas as porcentagens de mortalidade, enraizamento e calogênese. A porcentagem de mortalidade foi obtida por meio da contagem das miniestacas mortas, ou seja, que se apresentavam necrosadas, sem folhas e com coloração escura. Já o percentual de enraizamento e calogênese (miniestacas vivas, sem raízes, com formação de massa de células não diferenciadas na base das miniestacas), foram identificados pela resistência ao leve toque de remoção da miniestaca do substrato e ainda com a visualização dos primórdios radiculares após remoção da superfície do substrato (aproximadamente 5 mm), conforme Freitas *et al.* (2009).

Foram avaliados também aspectos referentes às trocas gasosas e ao crescimento e qualidade das mudas. Para tanto, foram selecionadas cinco plantas vivas, consideradas enraizadas, de cada unidade experimental, totalizando 20 mudas por tratamento (considerando as avaliações feitas nos quatro blocos).

As avaliações quanto as trocas gasosas foram feitas por meio do sistema portátil de medidas de fotossíntese (IRGA, Infrared Gas Analyzer, Li-cor, LI6400XT) (Figura 7). Foram determinados o rendimento fotossintético ou assimilação líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s), concentração interna de CO₂ (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e taxa de transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).



Figura 7. Sistema portátil de medidas de fotossíntese (IRGA, Infrared Gas Analyzer, Li-cor, LI6400XT).

Considerando a natureza destrutiva do método, ainda com as mesmas cinco plantas vivas, consideradas enraizadas, de cada unidade experimental, totalizando 20 mudas por tratamento (considerando os quatro blocos), foram determinadas as seguintes características referente ao crescimento e qualidade das mudas: a) número de folhas; b) altura da parte aérea, expressa em centímetros, medida com régua milimetrada, a partir do colo até o ápice foliar (Figura 8A); c) diâmetro do colo expresso em milímetros, medida feita utilizando-se um paquímetro com precisão de 0,01mm (Figura 8B); d) matéria seca de raízes (MSR) expressa em gramas, determinada em estufa de circulação de ar forçado a 50°C até as amostras atingirem peso constante; e) Índice de qualidade de Dickson (IQD), obtido por meio da seguinte expressão (DICKSON *et al.*, 1960):

$$IQD = \frac{\text{matéria seca total (g)}}{\left(\frac{\text{altura (cm)}}{\text{diâmetro do colo (mm)}}\right) + \left(\frac{\text{matéria seca de parte aérea (g)}}{\text{matéria seca de raízes (g)}}\right)}$$

Onde: Matéria seca total é a somatória de massa seca da raíz (MSR), massa seca do caule (MSC) e massa seca das folhas (MSF); e matéria seca da parte aérea é a somatória de MSC e MSF.

Para isso, realizou-se a pesagem em balança analítica de precisão (Figura 8C) para determinar a massa fresca de raízes (MFR), caule (MFC) e folhas (MFF). Em seguida, esse material foi seco em estufa com circulação de ar forçado a 50 °C por 48 horas, até atingir peso

constante e foi novamente pesado, determinando-se a massa seca de raízes (MSR), caule (MSC) e folhas (MSF).

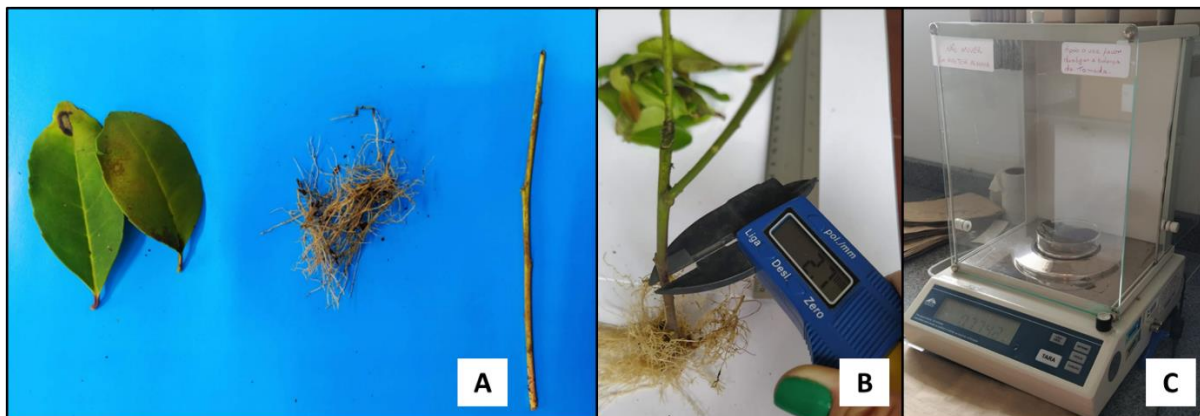


Figura 8. Avaliação de aspectos referentes ao crescimento e qualidade das mudas. **A)** separação por partes de uma muda para a pesagem e secagem; **B)** medição de diâmetro do colo utilizando-se um paquímetro com precisão de 0,01mm; **C)** balança de precisão utilizada para a pesagem das partes da muda.

5.7. Análise estatística

Para o Experimento I, realizado com o bioestimulante VitaSoil[®], os dados obtidos foram submetidos ao teste de homogeneidade pelo teste de Levene ($p < 0,05$) e ao teste de homoscedasticidade pelo teste de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$), posteriormente foi realizada a análise de variância (ANOVA, $p < 0,05$). Quando o fator clone ou as concentrações foram significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As interações entre clone e dosagem, quando significativas, foram submetidas a análise de regressão e avaliados de acordo com coeficiente de determinação (R^2) e Erro Padrão. Os dados estatísticos foram processados utilizando o *software* R versão 3.6.3 (Core Team, 2021), com o pacote “ExpDes.pt” (FERREIRA *et al.*, 2018) e o pacote “car” (FOX e WEISBERG, 2011).

Para o Experimento II, realizado com o ácido giberélico, os dados obtidos foram coletados e organizados em planilha eletrônica no Microsoft Excel[®] para compilação dos mesmos. Devido a alta mortalidade das plantas, optou-se por utilizar os tratamentos nos quais as repetições tivessem pelo menos três plantas vivas. Os que não tiveram, não foram considerados e foram eliminados da análise estatística, totalizando quatro tratamentos, descritos da seguinte forma:

- T1 (Aupaba – Testemunha; 0)
- T2 (Aupaba – 50 mg L⁻¹)
- T3 (Aupaba – Concentração padrão, 100 mg L⁻¹)
- T4 (Aupaba – 150 mg L⁻¹)

Optou-se, primeiramente, por realizar uma análise estatística utilizando o *software* e R (R Core Team 2021), com ferramentas contidas no pacote “*EasyAnova*” (ARNHOLD, 2013). Este pacote foi utilizado devido aos dados serem considerados desbalanceados, no entanto os dados obtidos não atenderam às premissas de normalidade dos resíduos e homocedasticidade das variâncias para nenhuma variável, mesmo depois de passarem por transformações como a logarítmica natural, raiz quadrada e Box Cox. Portanto, os mesmos foram considerados dados não paramétricos, sendo assim necessária a aplicação de um teste não paramétrico para obtenção das médias dos tratamentos.

Em função do delineamento estatístico do presente estudo, o teste não paramétrico indicado para esse caso foi o de Mann-Whitney, com 5% de significância, que é usado quando se dispõe de uma amostra pequena e de tamanhos diferentes e, é indicado para comparação de dois grupos não pareados (amostras independentes) para se verificar se pertencem ou não à mesma população e cujos requisitos para aplicação do teste *t* de Student não foram cumpridos. Ao contrário do teste *t*, que testa a igualdade das médias, o teste de Mann-Whitney testa a igualdade das medianas. Os valores calculados pelo teste avaliam o grau de entrelaçamento dos dados dos dois grupos após a ordenação. A maior separação dos dados em conjunto indica que as amostras são distintas, rejeitando-se a hipótese de igualdade das medianas. As suposições de normalidade e homogeneidade das variâncias não são necessárias. Após a aplicação desse teste, foi realizada a diferenciação das medianas via Microsoft Excel® para a identificação dos tratamentos superiores.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. EXPERIMENTO I: Aplicação de bioestimulante visando o enraizamento das miniestacas

Após realização do teste de Levene e do teste Shapiro-Wilk para a verificação quanto ao atendimento dos pressupostos para a análise estatística, obteve-se a homogeneidade das

variâncias e a normalidade dos resíduos respectivamente para a mortalidade (*p*-valor: 0.616; *p*-valor: 0,412), enraizamento (*p*-valor: 0.812; *p*-valor: 0,555) e calogênese (*p*-valor: 0.412; *p*-valor: 0,698), assim como para as variáveis de crescimento altura (*p*-valor: 0.321; *p*-valor: 0,613), número de folhas (*p*-valor: 0.813; *p*-valor: 0,379), diâmetro do colo (*p*-valor: 0.128; *p*-valor: 0,073), massa seca da raiz (*p*-valor: 0.977; *p*-valor: 0,267) e para o índice de qualidade de Dickson (*p*-valor: 0.896; *p*-valor: 0,053) das mudas.

6.1.1. Mortalidade

Quando analisada a mortalidade, os clones não se diferiram estatisticamente. Também não houve interação significativa entre os clones e o bioestimulante, mostrando que estes fatores são independentes. Apenas o fator concentração de bioestimulante se diferiu estatisticamente (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de variância para enraizamento (ENR), calogênese (CA) e mortalidade (M) para miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

| Fontes de Variação | GL ¹ | ENR | CA | M |
|--------------------|-----------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Bloco | 3 | 0,080 ^{n.s} | 0,070 ^{n.s} | 0,476 ^{n.s} |
| Clone (C) | 2 | 0,851 ^{n.s} | 0,991 ^{n.s} | 0,844 ^{n.s} |
| Concentração (Con) | 3 | 0,011** | 0,000** | 0,022* |
| C x Con | 6 | 0,700 ^{n.s} | 0,130 ^{n.s} | 0,800 ^{n.s} |
| CV% | | 26,65% | 30,51% | 26,71 |
| Média Geral | | 24,38 | 10,27 | 25,35 |

¹GL = Grau de Liberdade. Os valores de Bloco, Clone (C), Concentração (Con) e Interação (CxCon) são referentes ao *p*-valor (*p*).**, * e n.s. = *p* ≤ 0,01, *p* ≤ 0,05 e *p* > 0,05, respectivamente, pelo teste F.

A maior porcentagem de mortalidade foi observada quando se utilizou a concentração de 100 mg L⁻¹ (50%). Em tempo, a menor mortalidade foi obtida sem o uso do produto, no Tratamento Testemunha (36%) (Figura 9). Conforme o R² encontrado para os dados considerados, 77% das variações geradas podem ser explicadas pela equação descrita abaixo (Figura 9). O erro padrão encontrado foi de 12,15%.

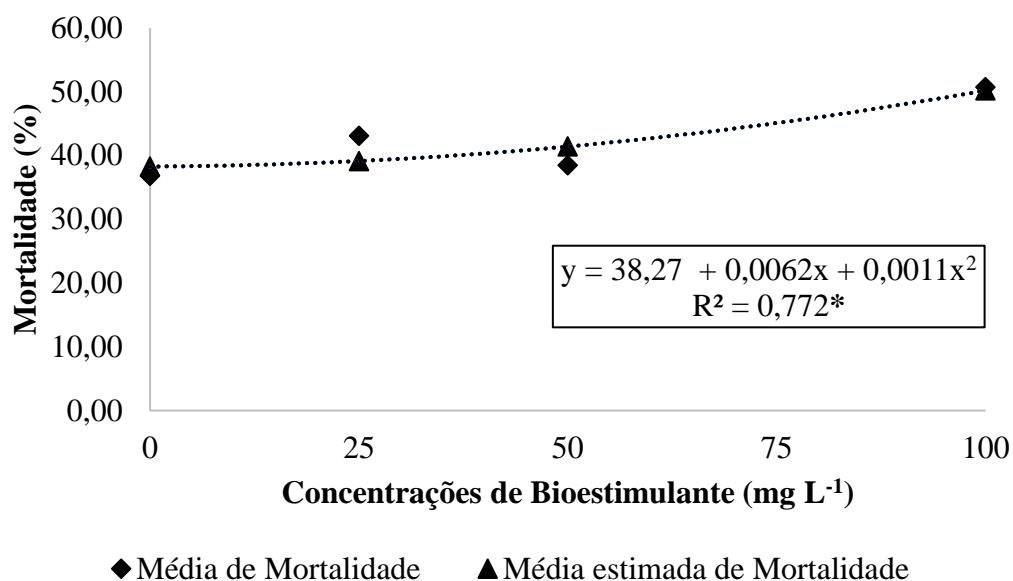


Figura 9. Porcentagem de mortalidade (M) das miniestacas de clones de erva-mate submetidas a concentrações de bioestimulante a base de algas marinhas, avaliadas aos 150 dias de idade. * = significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Ao contrário do encontrado na presente pesquisa, Guillen-Cossio *et al.*, (2009) avaliaram bioestimulante fabricado com extratos de alga marinha (*Eklonia maxima*) em *Podocarpus glomeratus* e obtiveram 100% de sobrevivência, já Mayer *et al.*, (2018), utilizando biofertilizante à base de aminoácidos em miniestacas de *Eucalyptus benthamii*, encontraram média geral de sobrevivência de 68,42%.

Os resultados de mortalidade observados no presente estudo foram superiores àqueles verificados por Wendling e Souza Junior (2003), os quais registraram em torno de 75% de enraizamento, ou seja, de sobrevivência, para miniestacas de erva-mate, sem a necessidade de aplicação de reguladores vegetais. Isto pode ser explicado, em parte, pelo grau de juvenilidade das minicepas, visto que estes autores utilizaram minicepas oriundas de mudas juvenis propagadas via sementes e, neste estudo, as minicepas foram provenientes de mudas mais velhas, propagadas via clonagem. Desta forma, as diferenças entre o estado de maturação do propágulo vegetativo podem ter influenciado na mortalidade e conseqüentemente na predisposição ao enraizamento.

As porcentagens de mortalidade das miniestacas aqui encontradas, as quais variaram de 36 % a 50 %, podem estar relacionadas também as mudanças das condições ambientais, já que

os efeitos de oscilações hídricas e de iluminação ocorridas durante a fase de aclimatação proporcionam maiores estresses às miniestacas, sendo capaz de levá-las a morte.

6.1.2. Enraizamento

Para a variável porcentagem de enraizamento, novamente os clones não diferiram estatisticamente e também não houve interação significativa, mostrando que o fator clone e o fator concentração do bioestimulante são independentes. Observou-se efeito significativo somente das concentrações de bioestimulante utilizadas (Tabela 1).

O melhor tratamento para o enraizamento, foi o Testemunha (sem o uso do produto), enquanto a menor porcentagem de enraizamento encontrada foi sob o efeito da concentração 25 mg L⁻¹ (Figura 10).

O erro padrão encontrado foi de 22,95%. O coeficiente de determinação (R²) foi de 0,32, indicando que apenas 32% das variações podem ser explicadas por esse modelo de equação (Figura 10). Este valor é bastante inferior quando comparado ao encontrado por Sá *et al.*, (2018), que utilizando diferentes doses de IBA obtiveram R² = 0,96.

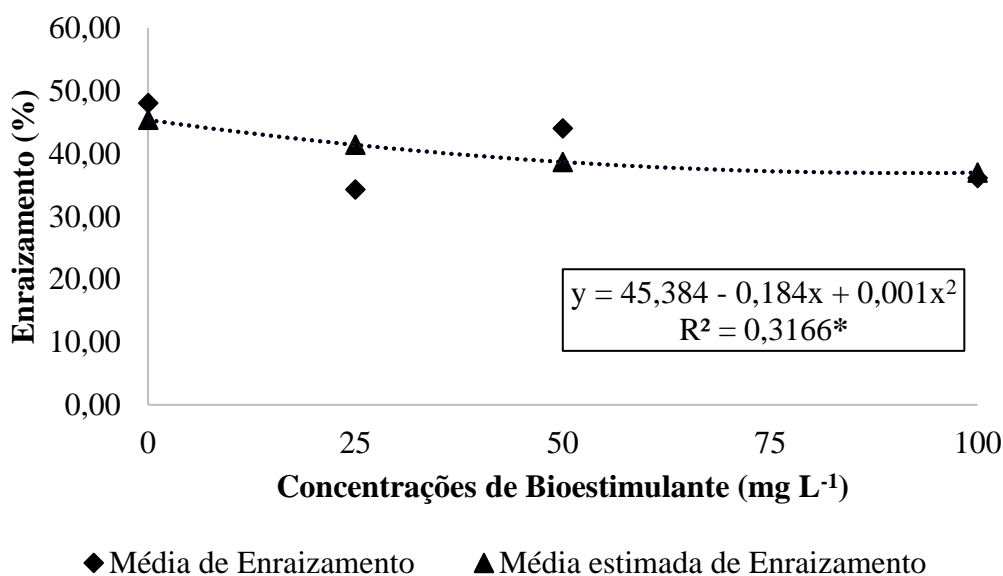


Figura 10. Porcentagem de enraizamento (ENR) de miniestacas de clones de erva-mate submetidas a concentrações de bioestimulante a base de algas marinhas, avaliadas aos 150 dias de idade. * = significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

As porcentagens de enraizamento observadas no presente estudo variaram de 34% a 48% e se aproximaram dos resultados encontrados por Brondani *et al.*, (2008) que observaram variação da porcentagem de enraizamento de miniestacas de erva-mate (coletadas de minicepas produzidas pela estaquia de árvores de 12 anos) de 42,9% a 62,5%, variando de acordo com o material genético e ambiente de enraizamento.

Assis e Mafia (2009) testaram a imersão, em tempos diferentes, de estacas de *Cordia verbenacea* em biofertilizante à base de esterco leiteiro. Contudo, o biofertilizante não influenciou o enraizamento das estacas. Em contrapartida, Mayer *et al.*, (2018), concluíram que a utilização do biofertilizante à base de aminoácidos dispôs maior percentual de enraizamento (65%) comparado aos estudos relatados na literatura utilizando o ácido indolbutírico (AIB) em miniestacas de *E. benthamii*, como estímulo ao processo de enraizamento adventício (BRONDANI *et al.* 2008; 2014; BENIN *et al.* 2013).

É importante salientar que a erva-mate é uma espécie considerada recalcitrante ao enraizamento, por tanto, devem ser ponderados também outros fatores para o sucesso do enraizamento da miniestaquia, como período e tipos de miniestacas (apical e intermediária), juvenilidade das brotações, idade e condição fisiológica da planta matriz. Na literatura é relatada a influência da maturação da planta-matriz na capacidade de enraizamento. De acordo com Dias *et al.* (2012), miniestacas de mudas provenientes de sementes enraízam facilmente, enquanto outras oriundas de plantas mais velhas podem enraizar esporadicamente ou não enraizar.

6.1.3. Calogênese

Referente a calogênese, os clones não diferiram estatisticamente. Não houve interação significativa entre os clones e as concentrações testadas, mostrando que estes fatores são independentes. Observou-se efeito significativo exclusivamente das concentrações de bioestimulante (Tabela 1). Houve maior formação de calo, sob efeito da concentração de 25 mg

L⁻¹. Já as demais concentrações tiveram porcentagem de calogênese variando de 13% a 17% (Figura 11).

O erro padrão foi de 24,43% e conforme o R² encontrado, 65% das variações geradas pela interação entre as concentrações e calogênese das plantas podem ser explicadas pela equação descrita abaixo (Figura 11). O coeficiente de determinação (R²) obtido para a mesma variável no trabalho de Sá *et al.*, (2018) com diferentes doses de IBA, foi de 0,46 no verão e de 0,62 no inverno.

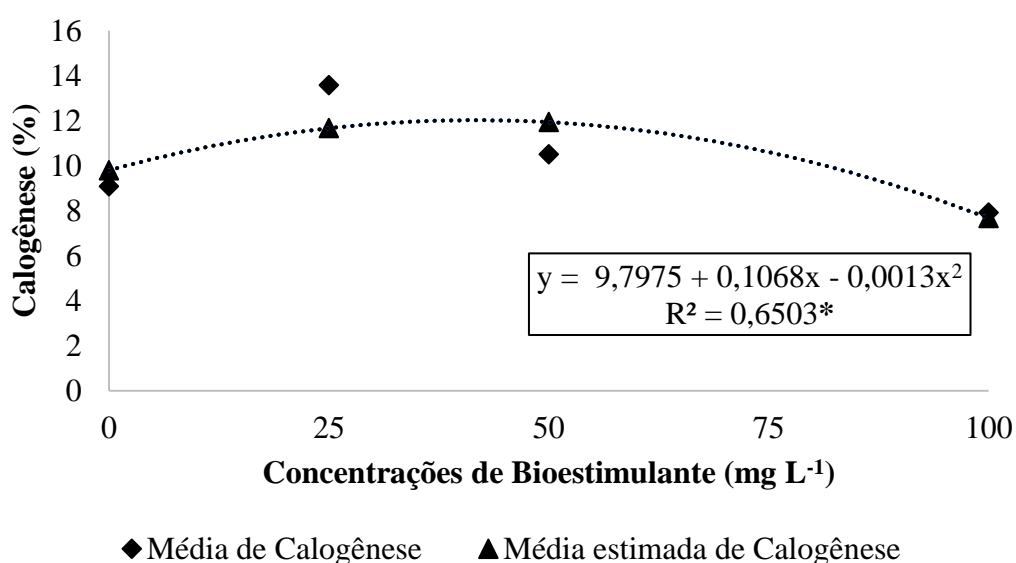


Figura 11. Porcentagem de calogênese (CA) nas miniestacas de clones de erva-mate submetidas a concentrações de bioestimulante a base de algas marinhas, avaliadas aos 150 dias de idade. * = significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

A formação de calo nos propágulos vegetativos pode ser um indicativo de enraizamento futuro das miniestacas de erva-mate. Em espécies consideradas de difícil enraizamento geralmente há formação de calos precedendo a formação de raízes (HARTMANN *et al.*, 2011). Segundo Oliveira *et al.* (2012b), as células desse tecido indiferenciado, denominado de calo, podem vir a se diferenciar e formar primórdios radiciais, caso sejam mantidos em condições de enraizamento por período adequado. Assim, trabalhos futuros avaliando o tempo ótimo de permanência das miniestacas de erva-mate em casa de vegetação, bem como estudos anatômicos avaliando a possível relação entre a calogênese e o enraizamento adventício são

necessários, evitando que ocorra a retirada das miniestacas da casa de vegetação antes do término do processo de enraizamento.

A sua formação de calo também pode indicar baixa juvenildade do material propagado e equilíbrio entre a concentração endógena de auxina e citocina (HARTMANN *et al.*, 2011; NASRI *et al.*, 2015).

6.1.4. Altura

A análise de variância para a altura não mostrou interação entre as diferentes concentrações do bioestimulante e os clones estudados, indicando que estes fatores são independentes. Apenas o fator clone teve significância (Tabela 2). Os clones BRS 408 (18,83 cm) e BRS 409 (18,14 cm) foram iguais estatisticamente e demonstraram-se superiores ao clone Aupaba (13,83 cm) (Tabela 3). Os valores do coeficiente de variação (CV%) obtidos foram considerados baixos e, em conformidade com Contini *et al.* (2004) que também avaliaram miniestaquia de erva-mate (Tabela 1 e 2). Estes valores apresentam-se numa faixa considerada aceitável, uma vez que quanto menores forem os CV%, mais confiáveis são os resultados obtidos.

Tabela 2. Análise de variância para altura, número de folhas (NF), diâmetro do colo (DC), massa seca da raiz (MSR) e Índice de Qualidade de Dickson (IQD) em miniestacas de clones de *I. paraguayensis* sob efeito das concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

| Fontes de Variação | GL ¹ | Altura (cm) | NF | DC (mm) | MSR (g) | IQD |
|---------------------|-----------------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Bloco | 3 | 0,004* | 0,023* | 0,814 n.s | 0,018 n.s | 0,206 n.s |
| Clone (C) | 2 | 0,000** | 0,000** | 0,318 n.s | 0,052 n.s | 0,831 n.s |
| Concentrações (Con) | 3 | 0,414 n.s | 0,790 n.s | 0,019* | 0,921 n.s | 0,232 n.s |
| C x Con | 6 | 0,282 n.s | 0,846 n.s | 0,040* | 0,904 n.s | 0,799 n.s |
| CV% | | 14,09 | 26,36 | 7,88 | 33,08 | 26,16 |
| Média Geral | | 16,93 | 7,89 | 2,89 | 0,34 | 0,16 |

¹ GL = Grau de Liberdade. Os valores de Bloco, Clone (C), Concentrações (Con) e Interação (CxCon) são referentes ao p-valor (p). **, * e n.s. = p ≤ 0,01, p ≤ 0,05 e p > 0,05, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 3. Médias de altura (ALT) de miniestacas de clones de *I. paraguayensis* sob efeito de aplicação de concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

| Clone | ALT (cm) |
|-------|----------|
|-------|----------|

| | |
|--------|---------|
| BRS408 | 18,83 a |
| BRS409 | 18,14 a |
| Aupaba | 13,83 b |

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Tukey.

O crescimento diferenciado entre clones sinaliza para ganhos significativos de produtividade via seleção e melhoramento ainda pouco explorado, afirmaram Benedetti *et al.* (2016). Esse mesmo autor, utilizando adubação orgânica, encontrou aumento no crescimento em altura das mudas clonais de erva-mate (56,4 cm).

Araújo (2017), quando utilizou extrato de algas marinhas como bioestimulante no crescimento inicial de espécies florestais da caatinga, obteve efeito negativo na altura das plantas até a maior concentração testada. Este efeito pode ter sido provocado pelo retardo na germinação em função das doses.

6.1.5. Número de Folhas (NF)

Para a variável número de folhas, também não houve interação entre as diferentes concentrações do bioestimulante e os clones utilizados, apontando que estes fatores são independentes. Novamente somente o fator clone mostrou significância. Os clones BRS 409 e BRS 408 foram iguais estatisticamente e demonstraram ser superiores ao clone Aupaba, ambos com média de nove folhas, 16,09% a mais que a média geral (7,89), enquanto o clone Aupaba apresentou média de 5,47 folhas, 30,67% a menos que a média geral (Tabela 4).

Tabela 4. Médias de número de folhas (NF) de miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito de das concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

| Clone | NF |
|--------|--------|
| BRS409 | 9,16 a |
| BRS408 | 9,02 a |
| Aupaba | 5,47 b |

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Tukey.

A média encontrada, para número de folhas, para os três clones aqui empregados, pode ser considerada alta quando comparada com as encontradas por Brondani *et al.*, (2008), que também utilizaram três clones de erva-mate testando diferentes ambientes, sendo nomeados por A7, A35 e A21, com médias de 4,6; 4,8 e 2,7 respectivamente.

Araújo (2017) em sua pesquisa com pó de algas marinhas no crescimento inicial de espécies florestais da caatinga, mais especificamente com relação ao Jucá (*Caesalpinia ferrea*), observou um pequeno estímulo inicial do produto sobre o número de folhas, no entanto, nas maiores concentrações ocorreu inibição nessa variável. Guimarães *et al.*, (2012) exploraram o efeito do extrato de algas no desenvolvimento de mudas de mamão e constatou que o máximo aumento no número de folhas (5,22) ocorre até uma determinada dose de concentração de algas e daí então inicia-se um decréscimo.

6.1.6. Diâmetro do colo (DC)

Houve interação entre os fatores clone e concentração quanto a variável diâmetro do colo, apontando que estes fatores são dependentes (Tabela 2). Em relação ao efeito dos tratamentos do bioestimulante, observou-se que no tratamento Testemunha (sem aplicação do bioestimulante) o clone BRS 409, teve melhor desempenho.

Interpretando a Figura 12, que representa regressão da interação clone x concentração, pode-se observar que para os clones BRS 408 e BRS 409, na medida em que as concentrações foram aumentando, houve também aumento no diâmetro do colo, atingindo um ponto máximo entre as concentrações de 50 mgL⁻¹ e 100 mgL⁻¹, considerando que a curva da regressão se apresentou em forma de parábola, com comportamento crescente a partir da concentração de 50 mgL⁻¹ e decrescendo próximo a concentração de 100 mgL⁻¹. Os coeficientes de determinação (R²) foram de 0,66 para o clone Aupaba e 0,75 para o clone BRS 408, apontando que, das variações existentes, 66% e 75% respectivamente, podem ser explicadas por esses modelos de equações, com erro padrão de 6,5% e 2,7%. Já para o clone BRS 409, 78% das variações podem ser explicadas pela equação, com erro padrão de 9,7%.

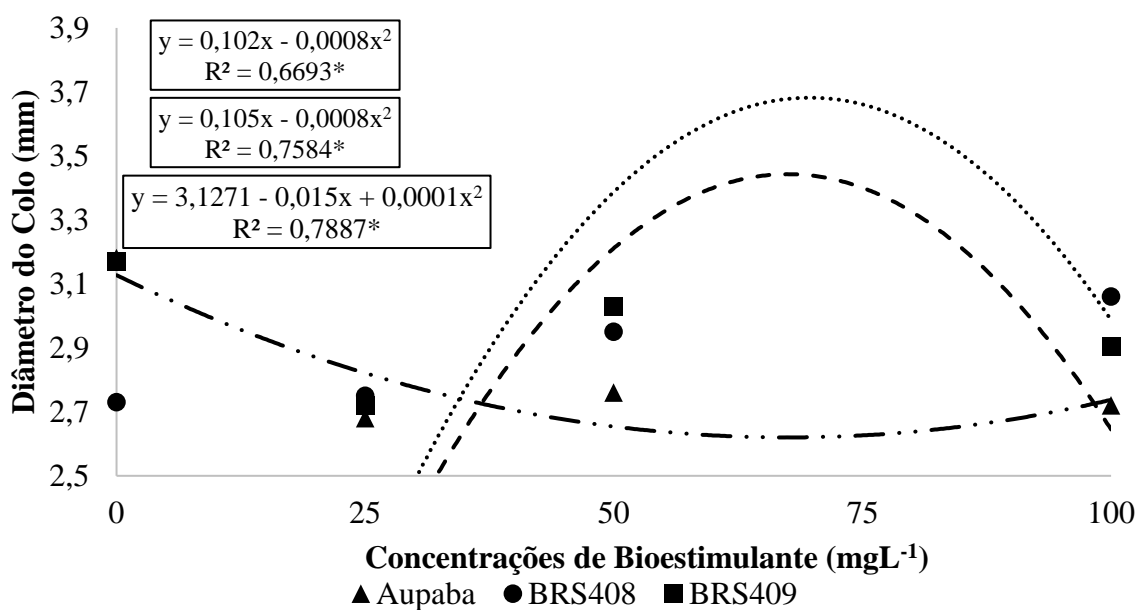


Figura 12. Médias de diâmetro do colo (DC) de miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade. * = significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Cardoso (2021) utilizou bioestimulante a base de algas marinhas (*Lithothamnium*), na produção de Mulungu (*Erythrina velutina*) e ao comparar o diâmetro do colo nos tratamentos com ou sem uso do bioestimulante, observou que nos tratamentos com uso de bioestimulante, houve uma redução de 8,97% na variável analisada.

Souza *et al.*, (2019) avaliaram o efeito de diferentes dosagens de VitaSoil[®] no desenvolvimento inicial de cafeeiro e observaram que independente das dosagens utilizadas do bioestimulador, apresentou-se valores maiores que a testemunha para parâmetros como diâmetro do caule, número de folhas por muda e área foliar. De acordo com Souza *et al.* (2006) a característica fundamental para o potencial de sobrevivência e crescimento pós-plantio de mudas florestais, é o diâmetro do caule. Assim, plantas com maiores diâmetros apresentam maior capacidade de adaptação e sobrevivência.

6.1.7. Massa Seca da Raiz (MSR)

Para a variável massa seca da raiz não houve efeito significativo para o fator clone, as médias desse fator foram estatisticamente iguais (Tabela 2), sendo que para o clone Aupaba a média foi de 0,28 g, para o BRS 408 de 0,37 g e para o BRS 409 de 0,36 g. Também não houve

diferença significativa para o fator concentração (Tabela 2), quais as médias variaram entre 0,33 a 035.

Corroborando com os dados encontrados, Cardoso (2021), não observou diferença significativa entre os tratamentos ao avaliar o efeito de bioestimulante a base de *Lithothamnium* em relação à massa seca do sistema radicular do mulungu (*E. velutina*). Assim como no estudo realizado por Oliveira (2011) utilizando extrato de algas (*Ascophyllum nodosum*) na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo, também não obteve diferenças significativas para as características matéria seca do sistema radicular e concluiu que ainda há uma enorme carência em pesquisas utilizando diferentes concentrações e tempos de aplicação desse composto na produção de mudas de espécies de plantas.

Já Araújo (2017), relatou em sua pesquisa com pó de algas marinhas no crescimento inicial de *Caesalpinia férrea* (jucá), que o efeito mais marcante foi o estímulo na MSR nas maiores doses de pó de alga testadas. Sugeriu ainda, que em trabalhos futuros, será importante confirmar o efeito e averiguar se de fato ocorreu estímulo ao crescimento das raízes ou se as plantas estavam sofrendo algum estresse abiótico, que acabam por estimular o crescimento de raízes (TAIZ e ZAIGER, 2004).

Garcia *et al.* (2014) utilizando diferentes doses de extrato de algas marinhas, constataram que a partir da dose de 2 mL L⁻¹ houve uma redução na MSR de porta-enxerto de cajueiros. O autor continua afirmando que a redução da MSR pode estar relacionada com o aumento da concentração salina no ambiente radicular, favorecido pelo extrato de alga *Ascophyllum nodosum* aplicados em elevada concentração.

6.1.8. Índice de qualidade de Dickson (IQD)

Não houve interação entre as diferentes concentrações do bioestimulante e os clones avaliados, apontando que estes fatores são independentes (Tabela 2). Em tempo, para o fator clone, as médias variaram de 0,15 a 0,16, bem como, com o mesmo valor de 0,15 a 0,16 variaram as médias encontradas para o fator concentração.

Contrariando os resultados obtidos no presente estudo, Costa (2017) realizou estudo sobre o efeito de diferentes doses e tipos de biofertilizantes, e observou que para o índice de qualidade de Dickson, os resultados mostraram-se contrários para os dois biofertilizantes empregados, onde um apresentou efeito linear e o outro quadrático, com valores máximos (0,093 e 0,068) nas doses 8 e 5,75 mL L⁻¹, respectivamente. Desse modo, mudas submetidas a

esse tratamento mostram um maior equilíbrio de crescimento, bem como, maior qualidade de produção. Já Garcia (2017), avaliando extrato da alga *Ascophyllum nodosum* no desenvolvimento de porta enxertos de cajueiro, observou que as dosagens deste extrato não promoveram efeito para o índice de qualidade de Dickson, corroborando com o encontrado na presente pesquisa.

De acordo com Paiva *et al.* (2015) um maior IQD pode ser explicado pelo maior crescimento e acúmulo de biomassa. Segundo Fonseca (2002), este índice constitui-se em um bom indicador, pois pondera características importantes para a avaliação da qualidade das mudas e considera a robustez e o equilíbrio da distribuição da massa na muda. Bernardino *et al.* (2005) afirmaram que quanto maior for o valor de IQD, maior será também a qualidade da muda. A utilização de bioestimulante a base de algas marinhas ou outros derivados, abre caminhos para futuras pesquisas com o propósito de aprimorar a compreensão do efeito deste extrato no desenvolvimento de mudas arbóreas, visto que a grande maioria das pesquisas atualmente são em culturas agrícolas.

6.1.9. Trocas Gasosas

Após realização do teste de Levene e do teste Shapiro-Wilk para a verificação quanto ao atendimento dos pressupostos para a análise estatística, obteve-se a homogeneidade das variâncias e a normalidade dos resíduos respectivamente para as variáveis assimilação líquida de CO₂ (A) (*p*-valor: 0,291; *p*-valor: 0,286), condutância estomática (gs) (*p*-valor: 0,384; *p*-valor: 0,095), concentração interna de CO₂ (Ci) (*p*-valor: 0,328; *p*-valor: 0,328) e taxa de transpiração (E) (*p*-valor: 0,192; *p*-valor: 0,358) nas miniestacas de clones de *I. paraguariensis* aos 150 dias de idade (Tabela 5).

Tabela 5. Análise de variância para as variáveis assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (gs), concentração interna de CO₂ (Ci) e taxa de transpiração (E) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

| Fontes de Variação | G L | A μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹ | gs mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹ | Ci mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹ | E mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹ |
|---------------------|-----|--|---|---|--|
| Bloco | 3 | 0,236 ^{n.s} | 0,866 ^{n.s} | 0,857 ^{n.s} | 0,116 ^{n.s} |
| Clone (C) | 2 | 0,990 ^{n.s} | 0,000** | 0,001** | 0,000** |
| Concentrações (Con) | 3 | 0,350 ^{n.s} | 0,294 ^{n.s} | 0,008** | 0,257 ^{n.s} |
| C x Con | 6 | 0,849 ^{n.s} | 0,774 ^{n.s} | 0,034* | 0,324 ^{n.s} |

| | | | | |
|-------------|-------|-------|--------|-------|
| CV% | 39,18 | 46,46 | 3,22 | 10,38 |
| Média Geral | 2,69 | 1,27 | 408,49 | 1,88 |

¹ GL = Grau de Liberdade. Os valores de Bloco, Clone (C), Concentrações (Con) e Interação (CxCon) são referentes ao p-valor. **, * e n.s. = $p \leq 0,01$, $p \leq 0,05$ e $p > 0,05$, respectivamente, pelo teste de F.

Verificou-se que não houve efeito significativo dos tratamentos para a assimilação líquida de CO₂ (A). Para a condutância estomática (gs) e para a taxa de transpiração (E) somente o fator Clone mostrou diferença significativa. Para a concentração interna de CO₂ (Ci) houve efeito significativo da interação dos fatores clone e concentrações de bioestimulante.

Em relação às variáveis (gs) e (E) o clone Aupaba mostrou-se superior, seguido do BRS408 e posteriormente o BRS409 (Tabela 6). O Aupaba teve média de condutância estomática 37,80% acima da média geral (1,27 mol H₂O m⁻² s⁻¹) e para a taxa de transpiração 12,23% também acima da média geral (1,88 mmol H₂O m⁻² s⁻¹), enquanto o BRS 409 teve 43,30% abaixo da média geral para condutância e 12,76% abaixo para taxa de transpiração.

Tabela 6. Médias de condutância estomática (gs) e da taxa de transpiração (E) de miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade.

| CLONE | (gs) | (E) |
|--------|--|---|
| | mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹ | mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹ |
| Aupaba | 1,75 a | 2,11 a |
| BRS408 | 1,23 b | 1,91 b |
| BRS409 | 0,72 c | 1,64 c |

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Tukey.

O valor encontrado da média geral para rendimento fotossintético (A) foi de 2,69 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, podendo ser justificado pela baixa luminosidade do dia de coleta, visto que A nada mais é que a intensidade de fotossíntese que a planta realiza, estando diretamente relacionada com a disponibilidade de água e a incidência de luz sobre as plantas, ou seja, quanto maior a radiação luminosa, maior a taxa fotossintética. Lima Junior *et al.* (2005) em estudo com *Cupania vernalis*, submetidas a sombreamento notaram que as plantas cultivadas com níveis de sombreamento de 50% e 70% obtiveram a taxa fotossintética reduzida, 2,81 e 2,62 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹) respectivamente. No mesmo estudo, os resultados demonstraram que no cultivo a pleno sol e baixo sombreamento, a cultura apresentou maior taxa fotossintética (3,83 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹) e condutância estomática 0,046 mol H₂O.m⁻². s⁻¹).

A condutância estomática variou de 0 a 9,26 mol H₂O m⁻² s⁻¹, tendo média geral de 1,27 mol H₂O m⁻² s⁻¹., resultado semelhante ao encontrado por Lima Junior *et al.*, (2005). O fato pode ser justificado, mais uma vez, pela condição climática encontrada na data de coleta (dia chuvoso e bastante úmido), já que a *g_s* é uma característica fisiológica referente à troca de CO₂ e H₂O entre a planta e o meio ambiente (LIMA *et al.*, 2016). Por consequência, a *g_s* está associada à quantidade de água disponível para a planta, se apresentar quantidade adequada, maior será a *g_s* e se a disponibilidade de água diminuir, a *g_s* também diminuirá.

Lima *et al.* (2010) destacam que o comportamento estomático determina também a demanda de transpiração que as folhas estão potencialmente sujeitas, controlando sua perda de H₂O para o ambiente, na forma de vapor de água. Em situação de ótima disponibilidade hídrica, as plantas geralmente apresentam altas taxas transpiratórias (*E*) de modo que, à medida que a água se torna escassa, a planta começa a reduzir sua taxa transpiratória para reduzir a perda de água. Ou seja, um fator que influencia nessa variável é a umidade, que faz com que a taxa diminua.

Em relação a concentração interna de CO₂ (*C_i*, μmol mol⁻¹), foi a única que mostrou diferença significativa na interação entre as diferentes concentrações do bioestimulante e os clones utilizados. Na Figura 13, é possível ver que para as quatro concentrações testadas, os três clones tiveram comportamento semelhante, sendo que a curva de regressão encontrada atingiu um ponto máximo entre as concentrações de 50 mgL⁻¹ e 100 mgL⁻¹. A curva da regressão se apresentou em forma de parábola, com comportamento crescente a partir da concentração de 50 mgL⁻¹ e decrescendo próximo a concentração de 100 mgL⁻¹.

Os R² encontrados são baixos, sendo de 0,13, 0,19 e 0,55 (Figura 13). O erro padrão encontrado para o clone Aupaba foi de 0,2%, para o BRS 408 1,3% e para o clone BRS 409 de 1,5%.

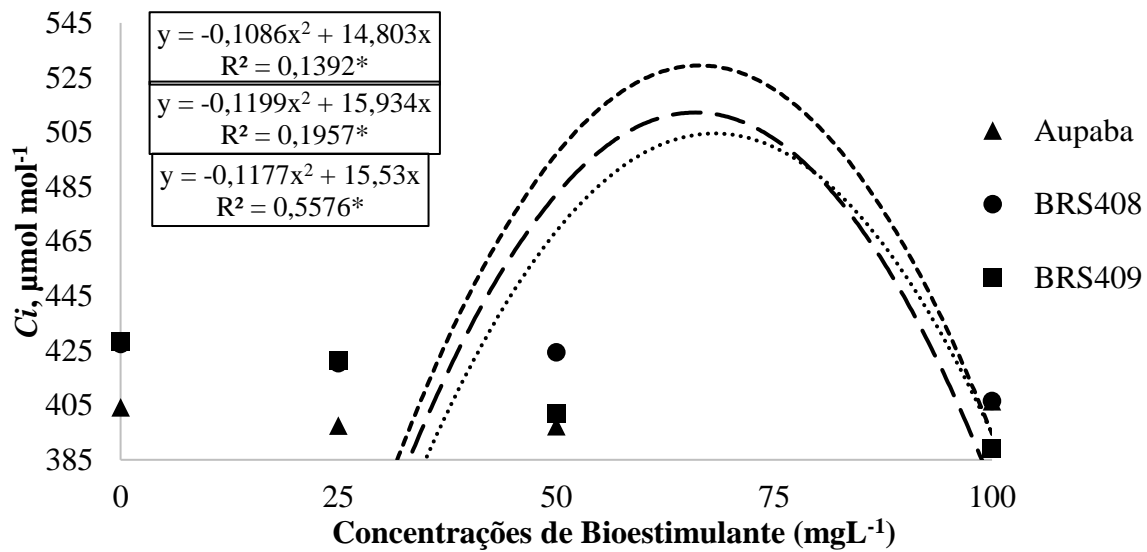


Figura 13. Interação Clone x Concentração para concentração interna de CO₂ (Ci) de miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito de concentrações de bioestimulante, aos 150 dias de idade. * = significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Conforme Zeist *et al.* (2017), se a concentração interna de CO₂ (Ci) estiver baixa, demandará maior entrada de CO₂ para regiões subestomáticas, aumentando o rendimento fotossintético. Se esse parâmetro estiver elevado, entende-se que a abertura dos estômatos e a transpiração da planta serão baixas, diminuindo a taxa de fotossíntese líquida.

6.2. EXPERIMENTO II: Aplicação de ácido giberélico nas miniestacas visando estimular o enraizamento dos clones

Aos 150 dias de idade das miniestacas, observou-se alta porcentagem de mortalidade das plantas e perda relevante de folhas, não sendo diagnosticados problemas relacionados à falta de água, doença ou ataque de pragas. Os clones BRS 408 e 409 foram os mais afetados, ambos tendo porcentagem total de enraizamento de apenas 4% e altos percentuais de calogênese (48% e 57% respectivamente) e mortalidade (48% e 39% respectivamente), sendo então descartados do experimento e retirados da análise estatística todos os tratamentos envolvendo esses dois clones

6.2.1. Mortalidade

Para a variável mortalidade não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 7). A porcentagem total de mortalidade observada para o clone Aupaba foi de 36%.

Tabela 7. Medianas referentes a mortalidade das miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CLONES | TRATAMENTOS | | MEDIANA | |
|--------|------------------------|----|---------|---|
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ | t1 | 26 | a |
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ | t2 | 25 | a |
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ | t4 | 22 | a |
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ | t3 | 20 | a |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

Silva (2017), avaliando a ação de giberelina (GA₃) no crescimento e desenvolvimento de plântulas de araçazeiro amarelo (*Psidium cattleianum* Sabine) relatou que em geral, as plântulas apresentaram média de mortalidade de 55,40% e associou esse número ao manejo durante transplântio ou ao fato da maior sensibilidade desta a perda de água na fase que foi transplantada. Sá *et al.*, (2018), relataram que a mortalidade foi influenciada significativamente pelo uso do regulador vegetal IBA, apresentando comportamento linear crescente com o aumento das concentrações, sendo que o maior valor observado (39,1%) ocorreu para o material tratado com 8000 mg L⁻¹.

A porcentagem encontrada no presente estudo, pode estar relacionada ao processo de aclimatação, visto que há muitos efeitos de oscilações hídricas e de iluminação ocorridas durante a fase de aclimatação, os quais proporcionam maiores estresses às miniestacas, podendo levá-las a morte. Além disso, outro fator que pode ter influenciado na mortalidade, é a dessecação, decorrente da ausência de raízes que impede a absorção de água em quantidade suficiente (LIMA *et al.*, 2011).

6.2.2. Enraizamento

Para a porcentagem de enraizamento, o clone Aupaba sob efeito das concentrações de 50 mg L⁻¹ (T3) e 100 mg L⁻¹ (T2) foram maiores aos demais tratamentos e não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 8).

Tabela 8. Medianas referentes a porcentagem enraizamento em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CLONES | TRATAMENTOS | | MEDIANA | |
|--------|------------------------|----|---------|---|
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ | t3 | 15 | a |
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ | t2 | 11 | a |
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ | t1 | 5 | b |
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ | t4 | 5 | b |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

Sob efeito do Tratamento 3, o clone Aupaba teve mediana de 15, tendo 8,25% de enraizamento, quando que sob efeito do Tratamento 2, alcançou 7,35% e obteve mediana de 11. A porcentagem total de enraizamento do clone Aupaba foi de 14,48%. Quando comparada a outros trabalhos de miniestaquia, esses valores são considerados muito baixos. Duarte *et al.*, (2020) testando a adubação nitrogenada em dois clones de erva-mate encontraram mais de 90% de enraizamento para um clone, e a menor porcentagem de enraizamento observada foi de 65%. Brondani *et al.* (2008), encontraram variação de 62,5 a 44,6 % de enraizamento aos 150 dias e Sá *et al.* (2018), obtiveram variação no enraizamento de 68,9 a 27,3 %.

Na literatura é relatada a influência da maturação da planta-matriz na capacidade de enraizamento. Segundo Dias *et al.* (2012), miniestacas de mudas provenientes de sementes enraízam facilmente, enquanto outras oriundas de plantas mais velhas podem enraizar esporadicamente ou não enraizar. O material vegetal que contém características juvenis possui condições fisiológicas e balanço hormonal, que favorecem o enraizamento, sendo que a adição de reguladores vegetais pode ter efeito inibitório na indução radicial (WENDLING e SOUZA JUNIOR, 2003; HARTMANN *et al.*, 2011).

Outro fator que pode estar relacionado aos resultados encontrados na presente pesquisa é o fato de que o ácido giberélico bloqueia a atividade auxínica no desenvolvimento do primórdio radicial, inibindo a formação de raízes nos propágulos vegetativos de determinadas espécies e genótipos (ONO *et al.*, 1994).

6.2.3. Calogênese

Quanto a calogênese o Tratamento 4 (150 mg L⁻¹), teve maior mediana (33) e não se diferiu estatisticamente do Tratamento 1 (Testemunha) e do Tratamento 3 (50 mg L⁻¹) (Tabela 9).

Tabela 9. Medianas referentes a formação de calo em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CLONES | TRATAMENTOS | | MEDIANA | |
|--------|------------------------|----|---------|----|
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ | t4 | 33 | a |
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ | t1 | 30 | a |
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ | t3 | 26 | ab |
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ | t2 | 24 | b |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

O clone Aupaba apresentou 49% de calogênese, valor bastante alto quando comparado ao encontrado por Sá *et al.*, (2018) em mudas de Eucalipto sob efeito de diferentes concentrações de IBA e em diferentes estações do ano, o maior valor (27,5%) ocorreu nas miniestacas coletadas no outono e tratadas com 2000 mg L⁻¹ de IBA.

Duarte *et al.* (2019) relataram que a formação de calos não é determinante para a formação de raízes adventícias no caso de *I. paraguariensis*, podendo essas serem originadas de células cambiais ou a partir de calos (HARTMANN *et al.*, 2017).

Hartmann *et al.*, (1997) afirmam que a formação de calo em propágulos é um indicativo do fornecimento de condições ambientais adequadas para o enraizamento, embora, segundo resultados de Wendling *et al.*, (2006), a maior ocorrência de calos foi observada em material adulto e representou a não formação de primórdios radiciais. A calogênese pode indicar baixa juvenildade do material propagado e equilíbrio entre a concentração endógena de auxina e citocina (HARTMANN *et al.*, 2011; NASRI *et al.*, 2015).

6.2.4. Número de Folhas (NF)

Para a variável NF, variável de interesse econômico para a espécie, as medianas encontradas não se diferiram, confirmando que não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 10). Ao contrário dos resultados obtidos no presente estudo, Freitas *et al.* (2018) avaliando aplicação de ácido giberélico em *Spondias tuberosa*, observaram que o fitoregulador proporcionou alterações significativas no número de folhas, mostrando que o

aumento da concentração de ácido giberélico até a concentração de 300 mg L⁻¹ proporcionou também aumento no número de folhas, apresentando comportamento linear e quadrático em relação aos acréscimos das concentrações de giberelina fornecidas às plantas.

Uma possível justificativa para a não significância dessas variáveis, são as concentrações utilizadas, podendo ser muito baixas para a espécie utilizada, fazendo com que a GA₃ não atuasse de forma positiva para a espécie e aplicação, sendo esta abordagem também citada por Pereira *et al.*, (2021) utilizando pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Segundo Schmidt *et al.* (2003), a ação de uma substância reguladora de crescimento depende de fatores ambientais, número e período de aplicação, concentração utilizada, estágio de crescimento da planta e da espécie ou cultivar tratada.

Tabela 10. Medianas referentes à variável número de folhas em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CLONES | TRATAMENTOS | | MEDIANA | |
|--------|------------------------|----|---------|---|
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ | t1 | 1 | a |
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ | t2 | 1 | a |
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ | t3 | 1 | a |
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ | t4 | 1 | a |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

6.2.5. Altura

Em relação a variável altura, os tratamentos T1 a T3 não diferiram estatisticamente entre si, porém foram inferiores ao Tratamento 4, que apresentou a maior mediana. O clone Aupaba teve melhor desempenho sob efeito da concentração 150 mg L⁻¹. Os resultados verificados nesta pesquisa revelam que a aplicação do fitorregulador GA₃ foi eficiente no estímulo ao crescimento das mudas de erva-mate avaliadas aos 150 dias após a miniestaquia (Tabela 11).

Tabela 11. Diferença entre as medianas referentes à variável altura em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CLONES | TRATAMENTOS | | MEDIANA (cm) | |
|--------|------------------------|----|--------------|---|
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ | t4 | 16,4 | a |
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ | t2 | 13,20 | b |
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ | t3 | 13,05 | b |

| | | | | |
|--------|----------------------|----|----|---|
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ | t1 | 13 | b |
|--------|----------------------|----|----|---|

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

Corroborando com os resultados encontrados no presente estudo, Freitas *et al.* (2018) constataram que o aumento da concentração de ácido giberélico (GA₃) até a concentração de 300 mg L⁻¹ proporcionou um aumento da altura das plantas. Pereira *et al.*, (2021) observaram aumento na altura das plantas à medida em que foi elevada a concentração de ácido giberélico nas soluções utilizadas na embebição das sementes de *Jatropha curcas* e posteriores pulverizações nas mudas. Ainda, notou-se que houve um aumento de 13,39 cm para 19,82 cm entre o tratamento testemunha e a maior concentração de ácido giberélico utilizada na solução (160 mg L⁻¹). A aplicação exógena da giberelina líquida (GA₃), pode favorecer um excesso no alongamento do caule, conseqüentemente pode causar diminuição do diâmetro (WAGNER JÚNIOR *et al.*, 2008).

6.2.6. Diâmetro do Colo (DC)

A variável diâmetro do colo (DC), não sofreu efeito diante dos tratamentos utilizados, em que o uso do ácido giberélico não promoveu ação favorável e nem desfavorável ao aumento do DC nas miniestacas de erva-mate (Tabela 12).

Tabela 12. Medianas referentes à variável diâmetro do colo (DC) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CIONES | TRATAMENTOS | | MEDIANA (mm) | |
|--------|------------------------|----|--------------|---|
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ | t1 | 2,7 | a |
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ | t2 | 2,9 | a |
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ | t3 | 2,9 | a |
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ | t4 | 2,7 | a |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

Fundamentando o resultado encontrado, ao avaliar a ação do ácido giberélico em mudas de pessegueiro, Wagner Júnior *et al.* (2008) chegaram à conclusão que o regulador vegetal não promoveu efeito no diâmetro do caule das plantas tratadas. Para esses autores, o maior crescimento em altura observado nas mudas foi decorrente do alongamento celular, sem que,

no entanto, refletisse em recíproco aumento em diâmetro. Esse efeito depressivo ou ainda nulo do DC em resposta ao uso do ácido giberélico pode ser considerado como um resultado esperado, uma vez que esse fitorregulador, ao promover o maior alongamento do caule e consequente aumento da altura da planta (STEFANINI *et al.*, 2002), pode provocar um efeito contrário em relação ao diâmetro caulinar, resultando em sua diminuição em função do tratamento exógeno com o regulador vegetal. As giberelinas exercem papel importante nos processos relacionados ao crescimento e desenvolvimento das plantas, porém pouco se sabe a respeito do metabolismo deste fitormônio em plantas de erva-mate.

6.2.7. Massa Seca da Raíz (MSR)

A ação do ácido giberélico foi eficiente para a MSR das miniestacas dos clones de erva-mate avaliados. A maior mediana encontrada para essa variável foi no Tratamento 2 (Aupaba – 100 mg L⁻¹), enquanto que a menor foi para o Tratamento 1 (Aupaba – 0 mg L⁻¹) e Tratamento 4 (Aupaba – 150 mg L⁻¹), os quais não se diferiram estatisticamente entre si (Tabela 13).

Tabela 13. Diferenças entre as medianas referentes à variável matéria seca de raiz (MSR) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CIONES | TRATAMENTOS | | MEDIANA (g) | |
|--------|------------------------|----|-------------|----|
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ | t2 | 0,22 | a |
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ | t3 | 0,16 | ab |
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ | t1 | 0,14 | b |
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ | t4 | 0,12 | b |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

Para Vendruscolo *et al.* (2016), a ação do ácido giberélico, que resulta no alongamento celular, pode propiciar o crescimento da parte aérea da planta e inibir a formação de novas raízes, o que resulta, consequentemente, em um desequilíbrio no crescimento do vegetal e uma menor massa da matéria seca de raiz. Ono *et al.*, (1994) reitera que o ácido giberélico bloqueia a atividade auxínica no desenvolvimento do primórdio radicial, inibindo a formação de raízes nos propágulos vegetativos de determinadas espécies e genótipos.

6.2.8. Índice de Qualidade de Dickson (IQD)

Houve diferença entre os tratamentos avaliados quanto ao IQD. O Tratamento 2 (Aupaba – 100 mg L⁻¹) novamente mostrou melhor desempenho, superior aos outros. Os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística entre si (Tabela 14).

Tabela 14. Diferenças entre as medianas referentes à variável matéria seca de raiz (MSR) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CLONES | TRATAMENTOS | | MEDIANA | |
|--------|------------------------|----|---------|---|
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ | t2 | 0,12 | a |
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ | t3 | 0,09 | b |
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ | t1 | 0,07 | b |
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ | t4 | 0,06 | b |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

Este índice vem sendo utilizado como principal parâmetro para representar a qualidade de mudas. O IQD é apontado como bom indicador de qualidade de mudas, porque são utilizados para seu cálculo a robustez (relação H/DC) e o equilíbrio da distribuição da biomassa (relação MSPA/MSR) (CALDEIRA *et al.*, 2007; TRAZZI, 2011). Segundo Dickson *et al.* (1960), quanto maior o seu valor, maior é a biomassa e o diâmetro, refletindo em maior qualidade da muda.

Contrariando os resultados observados na presente pesquisa, Coimbra *et al.*, (2021) avaliaram o efeito de um bioestimulante vegetal a base de ácido giberélico na formação de mudas de cedro australiano (*Toona ciliata*), e encontraram que apesar de satisfatório em ambos os casos (na presença ou ausência), o valor de IQD foi maior na ausência do bioestimulante. É possível constatar que vários estudos na literatura mostram que o índice de qualidade de Dickson é uma característica variável (CALDEIRA *et al.*, 2005; CALDEIRA *et al.*, 2007; KRATZ, 2011; TRAZZI, 2011). Nesse sentido, pode-se concluir que esse índice pode variar em função da espécie, do manejo das mudas no viveiro, do tipo e proporção do substrato, do volume do recipiente e, principalmente, de acordo com a idade em que a muda foi avaliada.

6.2.9. Trocas Gasosas

Para a variável A (assimilação líquida de CO₂) as medianas encontradas não se difeririam estatisticamente, confirmando que não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizando o ácido giberélico (Tabela 15). A taxa de assimilação líquida de carbono é determinada pelas características bioquímicas, fisiológicas e morfológicas do mecanismo fotossintético (DE LUCIA *et al.*, 2003), quanto maior a radiação luminosa, maior a taxa fotossintética, variando conforme as condições ambientais durante o crescimento, tais como irradiância, temperatura, CO₂ e suprimento de água e nutrientes (MOHOTTI e LAWLOR, 2012).

O fato de não ter sido observada diferença entre clones e os tratamentos com a aplicação de ácido giberélico, pode ser justificado pela capacidade de ajustamento osmótico, já que todas as plantas foram analisadas em mesmas condições em um dia nublado, sem grandes mudanças climáticas. Rakocevic (2006) classificou a erva-mate no grupo de espécies florestais que em condições de luz reduzida, desenvolvem estratégias de buscar a luz, mas possuem certa tolerância na sombra, processo conhecido como ajustamento osmótico ou osmorregulação, a fim de manter o turgor e equilíbrio do potencial hídrico na célula (NUNES, 2007). Segundo Jadoski *et al.* (2005), o aumento na taxa de assimilação de CO₂ (A) está relacionado à maior concentração de CO₂ encontrada no interior das folhas, o que pode decorrer do fechamento estomático.

Tabela 15. Medianas referentes à variável assimilação líquida de CO₂ (A), em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CLONES | TRATAMENTOS | MEDIANA |
|--------|------------------------|-----------|
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ | t4 3,89 a |
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ | t3 3,83 a |
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ | t2 3,99 a |
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ | t1 3,89 a |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

Quanto a condutância estomática (*gs*), o maior valor de mediana encontrado para essa variável foi para o Tratamento 3 (0,27 mol H₂O m⁻² s⁻¹), quando sob efeito da concentração 50 mg L⁻¹ de GA₃, porém sob efeito da concentração 100 mg L⁻¹ apresentou o pior desempenho para a característica analisada (0,15 mol H₂O m⁻² s⁻¹) (Tabela 16). A condutância estomática

determina em grande parte a perda de água transpirada da folha e também influencia a assimilação fotossintética (A) (GRANT *et al.*, 2012).

A *gs* responde a quantidade de água disponível para a planta, se houver uma quantidade adequada, maior será a *gs* e se a disponibilidade de água diminuir, a *gs* também diminui. Em condições de déficit hídrico, com baixa *gs*, as plantas podem apresentar alta eficiência no uso da água, mas, se em situação de normalidade apresentar baixa *gs*, é um indício de plantas com baixo vigor (GRANT *et al.*, 2012).

Tabela 16. Diferenças entre as medianas referentes à variável condutância estomática (*gs*) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CLONES | TRATAMENTOS | MEDIANA |
|--------|---------------------------|---------|
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ t3 | 0,27 a |
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ t4 | 0,17 b |
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ t1 | 0,15 bc |
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ t2 | 0,15 c |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

Para a concentração interna de CO₂ (*Ci*), novamente o Tratamento 3 (Aupaba – 50 mg L⁻¹) teve maior mediana. Os demais Tratamentos não se diferiram entre si, sendo estatisticamente iguais, porém inferiores ao Tratamento 3 (Tabela 17).

Tabela 17. Diferenças entre as medianas referentes à variável concentração interna de CO₂ (*Ci*) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CLONES | TRATAMENTOS | MEDIANA |
|--------|---------------------------|---------|
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ t3 | 365,5 a |
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ t4 | 329 b |
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ t1 | 327 b |
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ t2 | 322 b |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

Daley *et al.* (1989), relatam que a redução da condutância estomática pode limitar a taxa de retenção de CO₂ e, conseqüentemente, a *Ci* diminui nos espaços intercelulares devido ao consumo de CO₂ pela atividade fotossintética. Segundo Taiz e Zeiger (2004), a concentração

interna de CO₂ é importante porque a produtividade de uma planta pode ser analisada como o produto da energia solar interceptada e do CO₂ fixado durante um período. Na presença de quantidade adequada de luz e ausência de estresse, como déficit hídrico, concentrações mais altas de CO₂ sustentam taxas fotossintéticas elevadas, enquanto que em concentrações intercelulares de CO₂ muito baixas a fotossíntese é limitada.

O Tratamento 1 (Aupaba – Testemunha, 0 mg L⁻¹ de GA₃) não diferiu estatisticamente do Tratamento 4 (Aupaba – 150 mg L⁻¹), tendo esses as maiores medianas se comparados aos demais. Já o Aupaba sob efeito da concentração 50 mg L⁻¹, que em outras variáveis mostrou melhores resultados, para a taxa de transpiração teve a menor mediana (Tabela 18). Isso pode ser explicado pois, de modo geral, o fato da condutância estomática (gs) ser baixa, resulta também em uma baixa transpiração. Lima *et al.* (2010) afirmam que o comportamento estomático designa também a demanda transpirativa a que as folhas estão sujeitas, controlando sua perda de água para o ambiente.

Tabela 18. Diferenças entre as medianas referentes à variável taxa de transpiração (E) em miniestacas de clones de *I. paraguariensis* sob efeito das concentrações de ácido giberélico, aos 150 dias de idade.

| CLONES | TRATAMENTOS | | MEDIANA | |
|--------|------------------------|----|---------|----|
| Aupaba | 0 mg L ⁻¹ | t1 | 1,77 | a |
| Aupaba | 150 mg L ⁻¹ | t4 | 1,46 | ab |
| Aupaba | 100 mg L ⁻¹ | t2 | 1,28 | b |
| Aupaba | 50 mg L ⁻¹ | t3 | 0,96 | bc |

Medianas seguidas de letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo Teste de Mann-Whitney.

7. CONCLUSÃO

Com base nas condições experimentais em que o estudo foi desenvolvido, conclui-se que:

A maior porcentagem de mortalidade obtida sob efeito do bioestimulante, foi na concentração de 100 mg L⁻¹ e a menor, sem o uso do produto. Já para o enraizamento, a maior porcentagem encontrada foi no tratamento Testemunha (sem uso do produto). Para a calogênese, a maior porcentagem obtida foi sob efeito da concentração 25 mg L⁻¹.

O bioestimulante mostrou efeito significativo apenas para o diâmetro do colo e referente as variáveis das trocas gasosas, apenas para a concentração interna de CO₂ (*C_i*).

As concentrações testadas de bioestimulante não geraram efeito no enraizamento das miniestacas de erva-mate e os clones não se diferiram estatisticamente.

Sob efeito do ácido giberélico, para variável mortalidade não houve diferença significativa entre os tratamentos. Para o enraizamento, o clone Aupaba sob efeito das concentrações de 50 mg L⁻¹ e 100 mg L⁻¹ foi superior aos demais tratamentos. Quanto a calogênese o Tratamento 4 (150 mg L⁻¹), teve maior mediana e não se diferiu estatisticamente do Tratamento 1 (Testemunha) e do Tratamento 3 (50 mg L⁻¹).

O ácido giberélico foi expressivo significativamente na altura, MSR e IQD. Quando empregado o uso do ácido giberélico, a variável condutância estomática (*g_s*), concentração interna de CO₂ (*C_i*) e taxa de transpiração (*E*) apresentaram melhores resultados;

A concentração testada de ácido giberélico mais adequada no enraizamento de miniestacas de erva-mate, para clone Aupaba, foram as concentrações de 50 mg L⁻¹ e 100 mg L⁻¹.

O clone que apresentou melhor enraizamento sob efeito do ácido giberélico foi o Aupaba.

8. CONSIDERAÇÕES

Devido a importância da erva-mate e a dificuldade no seu enraizamento na propagação vegetativa, trabalhos como este devem ser realizados, para que possa enriquecer o protocolo da espécie.

Novos produtos, com novas tecnologias, devem ser testados, pois ainda há grande carência de resultados.

Fica como sugestão o desenvolvimento da pesquisa em diferentes estações do ano, para verificar a influência do clima sob o protocolo utilizado.

9. RECOMENDAÇÕES

Apesar da importância de testes com novos produtos e meios de propagação, a fim de encontrar novos protocolos para a erva-mate, com o presente estudo, notou-se que a propagação seminal, mesmo com suas limitações, ainda é a técnica com melhores resultados, com maior porcentagem de mudas finais e também maior facilidade na sua realização. Quanto aos produtos testados, deve-se levar em consideração o alto custo e o baixo rendimento, não sendo também indicado, pois seus resultados não foram efetivos.

10. REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do Eucalipto**. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 500 p.
- ALVES, S. B.; MEDEIROS, M. D.; TAMAI, M. A.; LOPES, R. B. Trofobiose e microrganismos na proteção de plantas. **Biociência**, n. 21, p. 16-19, 2001.
- AMARO, C. L.; CUNHA, S. D.; GRUPIONI, P. H. F.; SOUSA, V.; D'ABADIA, K. L.; BARROS, Isabella Batista; MATOS, Fábio Santos. Análise do Crescimento de mudas de *Eucalyptus sp.* submetidas a diferentes doses de giberelina. **AGRI-ENVIRONMENTAL SCIENCES**, v. 3, n. 1, p. 24-29, 2017.
- ARAUJO, J. M. H. **Algas marinhas**. 2017. 47 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Florestais, Ufrn, Macaíba, 2017. ARAUJO, J. M. H. **Algas marinhas**. 2017. 47 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Florestais, Ufrn, Macaíba, 2017.
- ARNHOLD, E. Package in the R environment for analysis of variance and complementary analyses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.6, p.488-492, 2013.
- ASSIS, T. F.; FETT-NETO, A. G.; ALFENAS, A. C. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwoods with emphasis on *Eucalyptus*. In: Fort, P. O. (Ed.). **Plantation forest biotechnology for the 21st century**. Research Signpost, Trivandrum, India, p. 303-333, 2004.
- ASSIS, T. F.; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem de *Eucalyptus*. In: BORÉM, A. (Ed.). **Biociência florestal**. Viçosa: Suprema, 2007. p. 93-121.
- AVILA, A. L. **Mecanismos de regeneração natural e estrutura populacional de três espécies arbóreas em remanescente de Floresta Ombrófila Mista, Rio Grande do Sul**. 2010. 150f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Santa Maria, 2010.
- BENEDETTI, E. L., SANTIN, D., & WENDLING, I. Adubação Orgânica Estimula Crescimento de Clones de Erva-Mate. **XI Reunião Sul-Brasileira de Ciência do Solo**. Qualidade do Solo & Ambiente de Produção. Frederico Westphalen, RS. 2016.
- BENIN, C. C.; PERES, F. S. B.; GARCIA, F. A. de O. Enraizamento de miniestacas apicais, intermediárias e basais em clones de *Eucalyptus benthamii*. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 43, n. 3, p. 421-428, 2013.
- BERNARDINO, D. C. S.; PAIVA, H. N.; NEVES, J. C. L.; GOMES, J.K; MARQUES, V. B. Crescimento e qualidade de mudas de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan em resposta à saturação por bases do substrato. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 863-870, 2005.
- BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RAIBS, K.C.; WENDLING, I.; KOEHLER, H.S. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilexparaguariensis* St. Hill) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.11, p.277-281, 2009.

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.

BRONDANI, G. E.; BACCARIN, F. J. B.; WIT ONDAS, H. W.; STAPE, J.; GONÇALVES, A. N.; ALMEIDA, M. Low temperature, IBA concentrations and optimal time for adventitious rooting of *Eucalyptus benthamii* mini-cuttings. **Journal of Forestry Research**. Tokyo, v. 23, n.4, p. 583-592, 2012. (DOI: 10.1007/s11676-012-0298-5)

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; ROVEDA, L. F.; ORRUTÉA, A. G. Ambiente de enraizamento e substratos na miniestaquia de erva-mate. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 3, p. 257-267, 2007. (DOI: 10.5380/rsa.v8i3.9540)

CALDEIRA, M. V. W.; MARCOLIN, M.; MORAES, E.; SCHAADT, S. S. Influência do resíduo da indústria do algodão na formulação de substrato para produção de mudas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Archontophoenix alexandrae* Wendl. et Drude e *Archontophoenix cunninghamiana* Wendl. et Drude. **Ambiência**, Guarapuava, v. 3, p. 1 - 8, 2007.

CALDEIRA, M. V. W.; SPATHELF, P.; BARICHELLO, L. R.; VOGEL, H. L. M.; SCHUMACHER, M. V. Effect of different doses of vermicompost on the growth of *Apuleia leiocarpa* (Vog) Macbr. seedlings. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 3, p. 11 - 17, 2005.

CANSIAN, R. L. **Variabilidade genética e de compostos voláteis e semi-voláteis em populações nativas de *Ilexparaguariensis* St. Hil. do Brasil, visando a conservação da espécie**. 2003. 82p. Tese Doutorado em Ciências – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2003.

CARDOSO, A. P. **Uso do bioestimulante à base de algas marinhas e água residuária de piscicultura na produção de mudas de Mulungu (*Erythrina Velutina* Wild.) em solo de área degradada**. 2021. 53 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, 2021.

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. (DOI: //dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.010)

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

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: **Agropecuária**, 2001, 132 p.

COELHO, G. C.; MARIATH, J. E. A.; SCHENKEL, E. P. Populational diversity on leaf morphology of maté (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, p. 47-51, 2002.

COELHO, Y.S.; OLIVEIRA, A.A.R.; CALDAS, R.C. Efeitos do ácido giberélico (AG3) no crescimento de porta-enxertos para citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v.18, n.11, p.1229-1232, 1983.

COIMBRA, J. V. M., DE LIMA, A. P. L., DE LIMA, S. F., DA SILVA, L. D. D., KANEKO, J. A. Moinha de carvão e bioestimulante vegetal na formação de mudas de cedro australiano. **Concilium**, v. 21, n. 1, p. 1-19, 2021.

CONTINI, A. Z., REGO, F. L. H., BENATTI, L. A. C., & DA COSTA, R. B. (2004). Avaliação do desenvolvimento inicial de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) nativas da região de Caarapó-MS. **Multitemas**, 2004.

COSTA, L. P. Produção e qualidade de mudas de romãzeiras (*Punica granatum* L.) sob diferentes doses e tipos de biofertilizantes. 2017. 33p. Monografia – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. 2017.

COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V., ROA, R. A. R.; BUNGENSTAB, D. J, MARTINS, W. J.; ROEL, A. R. Melhoramento genético da erva-mate nativa do Estado de Mato Grosso do Sul. **Bragantia**, Campinas v. 68, n. 3, p. 611-619, 2009.

CUNHA, A. C. M. C. M.; PAIVA, H. N. D.; BARROS, N. F. D.; LEITE, H. G.; LEITE, F. P. Relação do estado nutricional de minicepas com o enraizamento de miniestacas de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 591-599, 2009. (DOI: 10.1590/S0100-06832009000300012)

DA COSTA, C.; ANDRADE, A. R. Dinâmica da Precipitação Pluviométrica na cidade de Guarapuava, PR: Condicionantes Locais e Regionais. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 21, 2017. (DOI: 10.5380/abclima.v21i0.51625)

DALEY, P.F.; RASCHKE, K.; BALL, J.Y.; BERRY, J.A. Topography of photosynthetic activity of leaves obtained from video images of chlorophyll fluorescence. **Plant Physiology**, v.90, p.1233-1238, 1989. PMID:16666912 PMCid:PMC1061872. (DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.90.4.1233>)

DARTORA, N.; SOUZA, L. M.; PAIVA, S. M.; SCOPARO, C. T.; IACOMINIA, M.; GORIN, P. A. J.; RATTMANN, T. D.; SASSAKI, G. L. Rhamnogalacturonan from *Ilex paraguariensis*: A potential adjuvant in sepsis treatment. **Carbohydrate Polymers**, Tenbury Wells, v.92, n.2, p.1776-1782, 2013. (DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.11.013)

DE LUCIA, E.H.; WHITEHEAD, D.; CLEARWATER, M.J. The relative limitation of photosynthesis by mesophyll conductance in co-occurring species in a temperate rainforest dominated by the conifer *Dacrydium cupressinum*. **Functional Plant Biology**, 30, 2003. p. 1197-1204.

DIAS, P. C., DE OLIVEIRA, L. S., XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, n. 72, p. 453-462, 2012. (DOI: 10.4336/2012.pfb.32.72.453)

DIAZ-SALA, C.; HUTCHISON, K. W.; GOLDFARB, B.; GREENWOOD, M. S. Maturation-related loss in rooting competence by loblolly pine stem cuttings: The role of auxin transport, metabolism and tissue sensitivity. **Physiologia Plantarum**, v.97, n.3, p.481-90, 1996. (DOI: 10.1111/j.1399-3054.1996.tb00507.x)

DICKSON, A., LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **The Forestry Chronicle**, v. 36, n. 1, p. 10-13, 1960.

DUARTE M.M.; MIRESKI M.C; OLISZESKI A.; WENDLING I.; STUEPP C.A.; (2019) Rooting of yerba mate cuttings with different lengths. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, 5(1):05-11. (DOI: 10.21674/2448-0479.51.05-11).

DUARTE, M. M., GABIRA, M. M., DE CÁSSIA TOMASI, J., VIEIRA, L. M., DE AGUIAR, N. S., DE ALMEIDA MAGGIONI, R.; WENDLING, I. (2020). Adubação nitrogenada na miniestaquia de erva-mate. **Advances in Forestry Science**, 7(2), 981-988. (DOI: 10.34062/afs.v7i2.9716)

DURAND, N.; BRIAND, X.; MEYER, C. O efeito de substâncias bioativas marinhas (NPRO) e citocininas exógenas sobre a atividade de nitrato redutase em *Arabidopsis thaliana*. **Physiologia Plantarum, Malden**, v. 119, n. 4, p. 489-493, 2003.

DUTRA, L. F.; SILVA, N. D. G. **Estabelecimento in vitro de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 7 p.

ESMELINDRO, M. C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. D. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Food Science and Technology**, v.22, n.2, p.199-204, 2002.

FACHINELLO, J. C; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília – DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221p.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo: Embrapa Florestas – CNPF, 2004. 22 p.

FERREIRA E. B.; CAVALCANTI P. P.; NOGUEIRA, D. A. (2018). ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Portuguese). R package version 1.2.0. <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt>.

FERREIRA, D. A.; BARROSO, D. G.; SILVA, M. P. S.; SOUZA, J. S.; FREITAS, T. A. S.; CARNEIRO, J. G. A. Influência da posição das miniestacas na qualidade de mudas de cedro australiano e no seu desempenho inicial no pós-plantio. **Ciência Florestal**, Santa Maria – RS, v. 22, n. 4, p. 715-723, 2012.

FONSECA, E. P.; VALERI, S. V.; MIGLIORANZA, E.; FONSECA, N. A. N.; COUTO, L. Padrão de qualidade de mudas de trema micrantha (L.) blume, produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. **Revista Árvore**, v.26, nº.4, p.515-523, 2002.

FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A. Aspectos da formação do fruto e da semente na germinação de erva-mate. Colombo: **Embrapa Florestas**, 2000. 5p. (Embrapa Florestas. Comunicado Técnico, 45).

FOX, J.; WEISBERG, S. An {R} Companion to Applied Regression, Second Edition. Thousand Oaks CA: Sage; 2011. Disponível em: <http://socserv.socsci.mcmater.ca/jfox/Books/Companion>>. Acesso em: 01 set. 2020.

FRASSETTO, E. C. **Enraizamento adventício de estacas de *Sebastiania schottiana* Müll. Arg.** 2007. 132 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS, 2007.

FREITAS, I. A. S. SIMÃO, K. G.; PEREIRA, V. L. G.; PIRES, W. K. L.; SOUZA, M. C. H.; LIMA, G. H. F.; SILVA, F. O.; MATOS, F. S. Crescimento de *spondias tuberosa* tratadas com doses de giberelina. In: **Congresso de Ensino Pesquisa e Extensão da UEG**, 5, 2018. Ipameri, Universidade Estadual de Goiás. 2018.

FREITAS, J. A. A.; MARINHO, C. S.; FREITAS I. L. J. Goiabeiras Paluma, Pedro Sato e Cortibel 6 propagadas por miniestaquia e miniestaquia seriada. **Ciência Rural**. Santa Maria, RS, v.43, n. 8, p. 1351-1356, 2013.

FREITAS, T. A. S. et al. Manejo de miniestacas de eucalipto no setor de enraizamento para a produção em sistema de blocos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37. n. 84. p. 483-490. 2009. GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. J. **Plant propagation by tissue culture**. 3rd ed. Netherlands: Springer, 2008. V. 1. 551 p.

GARCIA, K., SILVA, C., CUNHA, C., NASCIMENTO, C. D., TOSTA, M. Extrato da alga *ascophyllum nodosum* (L.) no desenvolvimento de portaenxertos de cajueiro. **Enciclopédia biosfera**, v. 10, n. 18, 2014.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. Ed. 2. Part 1: The technology Exegetics limited, 1993. 574p.

GERHARDT, M. **História ambiental da erva-mate**. 2013. 290f. Tese (Doutorado em História). Centro de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

GRANT, O. M.; DAVIES, M. J; JAMES, C. M.; JOHNSON, A. W.; LEINONEN, I.; SIMPSON, D. W; Thermal imaging and carbon isotope composition indicate variation amongst strawberry (*Fragaria×ananassa*) cultivars in stomatal conductance and water use efficiency. **Environmental and Experimental Botany**, v. 76, p. 7–15, 1 fev. 2012.

GUIMARÃES, I., BENEDITO, C., CARDOSO, E., PEREIRA, F. E., e OLIVEIRA, D. Avaliação do efeito do uso de extrato de algas (Raiza®) no desenvolvimento de mudas de mamão. **Enciclopédia biosfera**, Goiania, v. 8, n. 15, p. 314, 2012.

GUILLEN-COSSIO F.; AYMA-ROMAY. A.I.; TERCEROS. E. S. Sobrevivencia y crecimiento de plántulas Pino de monte (*Podocarpus glomeratus*) probando bioestimulantes e fertilizantes en vivero, Cochabamba, Bolivia. Programa de Manejo y Restauración de Bosques Nativos de Independencia - Foundation Rufford Small. 2009.

HARTMANN H.T.; KERSTER D.E.; DAVIES J.R; GENEVE R.L.; **Plant Propagation: Principles and Practices**. 9th ed. Boston: Prentice Hall. 2017. 1024 p.

HARTMANN H.T.; KESTER D.E.; DAVES J.R.; GENEVE R.L.; **Plant Propagation: Principles and Practices**. 8. ed. New Jersey: Prentice-Hall. 2011. 915p

HARTMANN, H. T. KESTER, F. D., DAVIES, J. R. **Plant Propagation: Principles and Practices**. 7.ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880p.

HARTMANN, H. T., KESTER, D. E., DAVIES JUNIOR, F. T., GENEVE, R. L. **Plant propagation**; principles and practices. 6 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. **Circular Técnica – IPEF**, n. 192, p. 1-11. 2000.

IBRAMATE – Instituto brasileiro da erva-mate. Origem. 2017. Disponível em: <<http://ibramate.com.br/origem/>> Acesso em: 15 abr.2020

KAPP JUNIOR, C.; ZARPELLON, F. R.; DALAZEN, L. L.; SOUZA, A. A cultura da Erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em sistema de cultivo convencional e orgânico como alternativa de renda ao pequeno proprietário rural. In: **XXIV Congresso Brasileiro de Custos**, Florianópolis. 2017.

KHAN, W. Extratos de algas marinhas como bioestimulantes do crescimento e desenvolvimento das plantas. **Journal of Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 28, n. 4, p. 386-399, 2009.

KOCHBA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C. H.; KOCHBA, M. Stimulation of rooting of *Citrus* embryoids by gibberellic acid and adenine sulphate. **Annals of Botany**, v. 38 n. 4, p. 795-802, 1974. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084869>

KRATZ, D. **Substratos renováveis na produção de mudas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage e *Mimosa scabrella* Benth.** 2011. 121 f. il. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

LI H., LI T., GORDON R. J, ASIEDU S. K., HU K; Eficiência da frutificação do morango e sua correlação com variação da irradiância solar, temperatura e índice de refletância da água. **Botânica Ambiental e Experimental**, 68 (2010) , pp . 165-174

LI, S. W; XUE, L.; XU, S.; FENG, H. Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. **The Botanical Review**, v. 75, n. 2, p. 230-247, 2009. (DOI: 10.1007/s12229-009-9029-9)

LIMA JUNIOR E.C, ALVARENGA A.A, CASTRO E.M. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Rural**. 2005; 35(5):1092-7. (DOI:10.1590/S0103-84782005000500016)

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

LIMA, M. A.; BEZERRA, M. A.; GOMES FILHO, E.; PINTO, C. M.; ENÉAS FILHO, J. Trocas gasosas em folhas de sol e sombreadas de cajueiro anão em diferentes regimes hídricos. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, p.654-663, 2010. (DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902010000400020>)

LIMA, M. J. A. O efeito combinado das variáveis ambientais na condutância estomática foliar do feijão-caupi. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 4, 10 nov. 2016.

LOPES, V. A.; SOUZA, B. R.; MOURA, D. R.; DA SILVA, D. Z.; DA SILVEIRA, P. S.; MATOS, F. S. Initial growth of *Eucalyptus* plants treated with gibberellin. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 11, p. 1251-1255, 2015. (DOI: 10.5897/AJAR2015.9527)

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

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p.71-2.

MATYSIAK, K.; KACZMAREK, S.; KRAWCZYK, R. Influência de extratos de algas marinhas e mistura de ácidos húmicos e fúlvicos na germinação e crescimento de *Zea mays* L. **Acta Scientiarum Polonorum**, Lublin, v. 10, n. 1, p. 33-45, 2011

MAYER, E. L. P.; PERES, F. B.; TAMBARUSSI, E. V. Arquitetura foliar de miniestacas e aplicação de biofertilizante à base de aminoácidos na miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage. **Scientia Forestalis**, v. 46, n. 118, p. 251-260, 2018.

MEDEIROS, A. D. S.; EIRA, M. T. S. Comportamento fisiológico, secagem e armazenamento de sementes florestais nativas. **Embrapa Florestas-Circular Técnica**. 2006.

MEDEIROS, M. B.; WANDERLEY, P. A.; WANDERLEY, M. J. A. Biofertilizantes líquidos. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Natal, n. 31, p. 38-44, 2003.

MEDRADO, M. J. S.; LOURENÇO, R. S.; RODIGHERI, H. R.; DEDECEK, R. A.; PHILIPOVSKI, J. F.; CORREA, G. Implantação de ervais. Colombo; Embrapa Florestas, 2000. 26 p.

MENNA, A. B. Proposta para ação extensionista na cultura da erva-mate. In: **Erva-mate: biologia e cultura no cone sul**. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 1995. p. 235-239.

MOHOTTI, A.J.; LAWLOR, D.W. Diurnal variation of photosynthesis and photoinhibition in tea: effects of irradiance and nitrogen supply during growth in the field. **Journal of Experimental Botany**, 53, 2012. p. 313-322.

NASRI, F., FADAKAR, A., SABA, MK., & YOUSEFI, B; Estudo dos efeitos do ácido indol butírico (AIB) no enraizamento de estacas melhorando alguns genótipos silvestres de rosa damascena (*Rosa damascena* Mill.). **Journal of Agricultural Sciences**, [s. l.], v. 60, n. 3, p. 263-275, 2015.

NEGISHI, N.; NAKAHAMA, K.; URATA, N.; KOJIMA, M.; SAKAKIBARA, H.; KAWAOKA, A. Hormone level analysis on adventitious root formation in *Eucalyptus globulus*. **New Forest**, v. 45, n. 4, p. 577-587, 2014. (DOI 10.1007/s11056-014-9420-1)

NIKLAS, C. O. **Injertacion de yerba mate**, Citrusmisiones, n. 20, p. 7-9, 1990.

NUNES, C. M. J. **Caracterização da resposta ao déficit hídrico de linhas transgênicas de *Medicago trunculata* cv. Jemalong**. 64 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia), Universidade de Lisboa, Lisboa –Portugal, 2007.

OLISZESKI, A.; NEIVERTH, D. D. Recuperação de erva-mate nativas por enxertia. **Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo**, n. 44, p. 133-134, 2002.

OLIVA, E. V. **Composição química e produtividade de procedências e progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Latossolo Vermelho Distrófico no município de Ivaí-PR.** 2007. 72 f. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

OLIVEIRA, L. A. A. GÓES, G. B., MELO, I. G. C., DA COSTA, M. E. e da Silva, R. M. Uso de extrato de algas (*Ascophyllum nodosum*) na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Verde**, Mossoró, v. 6, n. 2, p. 1-4, 2011.

OLIVEIRA, S. V.; WAQUIL, P. D. Dinâmica de produção e comercialização de erva-mate no Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 45, n. 4, p. 750-756, 2015.

OLIVEIRA, Y. M. M.; ROTTA, E. Área de distribuição natural de erva mate. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS; SILVICULTURA DA ERVA-MATE, 10., 1983, Curitiba. **Anais... URPFC**, 1985. p. 17-35.

OLIVEIRA, Y., ALCANTARA, G. B., GUEDES, I., PINTO, F., QUOIRIN, M.; BIASI, L. A. Substratos, concentrações de ácido indolbutírico e tipos de miniestacas no enraizamento de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 611- 616, 2012b.

ONO, E. O.; BARROS, S. D.; RODRIGUES, J. D.; PINHO, S. D. Enraizamento de estacas de *Platanus acerifolia*, tratadas com auxinas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 9, p. 1373-1380, 1994.

PAGLIOSA, C. M.; VIEIRA, M. A.; PODESTÁ, R.; MARASCHIN, M.; ZENI, A. L. B.; AMANTE, E. R.; AMBONI, R. D. M. C. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Food Chemistry**, v.122, n.1, p.173-178, 2010. (DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.02.040)

PAIVA, A.S.; FERNANDES, E.J.; RODRIGUES, T.J.D.; TURCO, J.R.P. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, v.25, p.161- 169, 2005. (DOI: 10.1590/S0100-69162005000100018)

PAIVA, E. P.; ROCHA, R. H. C.; PRAXEDES, S. C.; GUEDES, W. A.; SÁ, F. V. da S. Crescimento e qualidade de mudas de romãzeiras wonderful propagadas por estaquia. **Revista Caatinga**, v. 28, n° 2, p.64-75, Mossoró/RN, 2015.

PEREIRA, V. S.; PEIXOTO, C. P.; ALMEIDA, A. T.; VIEIRA, E. L.; OLIVEIRA, E. R.; DE OLIVEIRA, D. Ácido giberélico no crescimento inicial de plantas de pinhão manso. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 28635-28653, 2021.

PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; KIELSE, P.; RODRIGUES, M. B.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Productivity of mini-stumps and rooting of mini-cuttings of erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) clones. **Ciência Florestal**, v. 29, n. 2, p. 559-570, 2019. (DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509827009>)

PIRES, P. P.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. Ácido indolbutírico e ortotropismo na miniestaquia de *Araucaria angustifolia*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 37, n. 3, p. 393-399, 2013. (DOI: 10.1590/S0100-67622013000300002)

PIRES, P.; WENDLING, I.; AUER, C.; BRONDANI, G. Sazonalidade e soluções nutritivas na miniestaquia de *Araucariaangustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Revista Árvore**, v. 39, n. 2, p. 283-293, 2015. (DOI: 10.1590/0100-67622015000200008)

PRAT KRIKUN, S. D. **Yerba mate**: técnicas actualizadas de cultivo. Cerro Azul: INTA, Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul, 1993. 14 p.

PRAT KRIKUN, S. D.; ARANDA, D. **Plan de trabajo**: selección clonal de la yerba mate: progressos y resultados años 1979. 1980. 2p.

PRODUÇÃO AGRÍCOLA MUNICIPAL: culturas temporárias e permanentes. Rio de Janeiro: **IBGE**, v. 43, p. 1-62, 2016.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>.2020.

RAKOCEVIC, M. Troca gasosa foliar da erva-mate no curso diário. **Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR**. Londrina – PR. 2006.

RAMOS, V.H.V. **Efeitos do ácido giberélico e cycocel sobre porta-enxertos de mangueira (*Mangifera indica* L.) em viveiro**. 1980. 117f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Curso de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa. 1980.

RATHORE, S. S. Efeito do extrato de algas marinhas sobre o crescimento, produção e absorção de nutrientes da soja (*Glycine max*) sob condições de sequeiro. **Revista Sul Africana de Botânica**, Amsterdã, v. 75, n. 2, p. 351-355, 2009.

REIGOSA, G. S. D. C. M., BUENO, A., & CARDOSO, G. C. N. Estudo da importância socioeconômica da erva-mate para o desenvolvimento regional na região da 26ª sdr. 15 p. 2015.

RESENDE, M. D. V.; STURION, J. A.; MENDES, S. **Genética e melhoramento da erva-mate (*Ilexparaguariensis* A. St.-Hil.)**. Colombo: Embrapa-CNPQ, 1995. 33 p.

RITTER, G. **Microrganismos e substâncias húmicas no enraizamento de estacas de cultivares de oliveira**. 2019. 51f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade do Oeste do Paraná, Marechal Candido Rondon, Paraná. 2019.

SÁ, F. P. D.; PORTES, D. C.; WENDLING, I.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Miniestaquia de erva-mate em quatro épocas do ano. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 4, p. 1431-1442, 2018.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BRONDANI, G. E.; REISSMANN, C. B.; ORRUTÉA, A. G.; ROVEDA, L. F. Crescimento de mudas de erva-mate fertilizadas com N, P e K. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 59-66, 2008.

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. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 3, p. 571-579, 2015.

SANTOS, S. R. F. **Multiplicação de genótipos de erva-mate pelo processo de estaquia**. 2011, 96 f. Dissertação (Mestrado Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2011.

SCHMIDT, C. M.; BELLÉ, R. A.; NARDI, C.; TOLEDO, K. A. Ácido giberélico (GA₃) no crisântemo (*Dedranthema grandiflora* Tzvelev.) de corte viking: cultivo de verão. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 33, n. 2, p. 267-274, 2003.

SILVA, M. A.A.; **Giberelina (GA₃) no crescimento e desenvolvimento de plântulas de araçazeiro amarelo (*Psidium catteyanum* Sabine) oriundas de três estratégias reprodutivas.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SOUZA, C. A. M.; OLIVEIRA, R. B. D.; MARTINS FILHO, S.; LIMA, J. S. D. S. Crescimento em campo de espécies florestais em diferentes condições de adubação. **Ciência Florestal, Santa Maria**, v. 16, n. 3, p. 243-249, 2006. (DOI <https://doi.org/10.5902/198050981905>)

SOUZA, E. M.; FRANCO JÚNIOR, K. S.; BRIGANTE, G. P.; BROCKELMANN, C. E.; TAVARES, R. M.; DIAS, M. S.; MARQUES, D. J.; CARNEIRO, J. P. C. Efeito do Bioativador de Solo no Desenvolvimento Inicial do Cafeeiro. **Revista Brasileira De Agropecuária Sustentável**, v. 9, n. 04, p. 60-65, 2019.

SOUZA, L. R.; PERES, F. S. B. Uso de biofertilizantes à base de aminoácidos na produção de mudas de *Eucalyptus dunnii*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 36, n. 87, p. 211-218, 2016. (DOI: 10.4336/2016.pfb.36.87.1127)

STEFANINI, M. B.; RODRIGUES, S. D.; MING, L. C. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 18- 23, 2002.

STURION, J. A. **Produção de mudas e implantação de povoamentos com erva-mate.** Curitiba, EMBRAPA - CNPF, 1988. 10 p.

STURION, J. A.; DE RESENDE, M. D. V.; NEIVERTH, D. D., OLISZESKI, A.; BASTOS, R. Métodos de produção de sementes melhoradas de erva-mate. Colombo: Embrapa Florestas – CNPF, 1999, 17 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, 1. e REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., Curitiba, 1997. Colombo. EMBRAPA-CNPF, 1997. 467p.

TAIZ, L. ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** Porto Alegre: Artmed, 2004, p. 719.

THOMAZ, E. L.; VESTENA, L. R. **Aspectos Climáticos de Guarapuava-PR.** Guarapuava: UNICENTRO, 2003. 106 p.

TRAZZI, P. A. **Substratos renováveis na produção de mudas de *Tectona grandis* Linn F.** 2011. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre.

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

VENDRUSCOLO, E. P.; CAMPOS, L. F. C.; MARTINS, A. P. B.; SELEGUINI, A. GA₃ em sementes de tomateiro: efeitos na germinação e no desenvolvimento inicial de mudas. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 3, n. 4, p. 19-23, 2016.

WAGNER JÚNIOR, A.; SANTOS, C. E. M.; SILVA, J. O. C.; PIMENTEL, L. D.; NEGREIROS, J. R. S.; BRUCKNER, C. H. Ácido giberélico no crescimento inicial de mudas de pessegueiro. **Ciência agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1035-1039, 2008. (DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000400001>)

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

WENDLING, I.; DUTRA, L.F. **Produção de mudas de eucalipto**. Colombo: Embrapa Florestas, 2010. 184 p.

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

WENDLING, I. ; DUTRA, L. F. Solução nutritiva para condução de minicepas de erva-mate (*Ilexparaguariensis* St. Hil.) em sistema semi-hidropônico. **Embrapa Florestas-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2008.

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E.; DUTRA, L. F.; HANSEL, F. A. Mini-cuttings technique: a new *ex vitro* method for clonal propagation of sweetgum. **New Forests**, Netherlands, v. 39, n.3, p. 343-353, 2010. (DOI: 10.1007/s11056-009-9175-2)

WENDLING, I.; BRONDANI, G.E.; BIASSIO, A.; DUTRA, L.F. Vegetative propagation of adult *Ilex paraguariensis* trees through epicormic shoots. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringa, v.35, n.1, p.117-125, 2013. (DOI: 10.4025/actasciagron.v35i1.15958)

WENDLING, I.; FERRIANI, A. P.; BIASSIO, A.; HEBERLE, M.; Miniestaquia de propágulos juvenis e adultos de erva-mate sob diferentes concentrações de ácido indolbutírico. In: CONGRESSO SUDAMERICANO DE LA YERBA MATE, 4.; REUNIÓN TÉCNICA DE LA YERBA MATE, 4.; EXPOSICIÓN DE AGRONEGOCIOS DE LA YERBA MATE.; 2006, Posadas. **Actas...** INTA, 2006 p. 189-193.

WENDLING, I.; FERRIANI, AP.; BIASSIO, A; REBERLE, M. Miniestaquia de propágulos juvenis e adultos de erva-mate sob diferentes concentrações de ácido indolbutírico. In: CONGRESO SUDAMERICANO DE LA YERBA MATE, 4.; REUNIÓN TÉCNICA DE LA YERBA MATE, 4., EXPOSICIÓN DE AGRONEGOCIOS DE LA YERBA MATE, 2., 2006, Posadas. **Actas**. Posadas: INTA, 2006. p.189-193.

WENDLING, I.; LAVORANTI, O. J.; RESENDE, M. D. V.; HORMANN, H. A. Seleção de matrizes e tipo de propágulo na enxertia de substituição de copa em *Ilex paraguariensis*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 5, p. 811-819, 2009. (DOI: 10.1590/S0100-67622009000500004)

WENDLING, I.; PAIVA, H. N.; GONÇALVES, W. **Técnica de produção de mudas de plantas ornamentais**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2005, v. 3. 223 p. (Coleção jardinagem e paisagismo. Série produção de mudas ornamentais).

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

WENDLING, I.; SANTIN, D.; NAGAOKA, R.; STURION, J. A. BRS BLD Aupaba e BRS BLD Yari: **cultivares clonais de erva-mate para produção de massa foliar de sabor suave**. Colombo: Embrapa Florestas, 2017. 6 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 411).

WENDLING, I.; TRUEMAN, S.J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry – Part I: concepts, regulation and consequences of phase change. **New Forests**, San Francisco, v. 45, n. 4, p. 449-471, 2014. (DOI: 10.1007/s11056-014-9421-0)

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, 2005, p. 921-930.

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

WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) por miniestaquia de material juvenil. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 3. FEIRA DO AGRONEGÓCIO DA ERVA-MATE 1., 2003. Chapecó. **Anais...** Chapecó: Epagri, 2003, 8 p. CD-ROM.

XAVIER, A., SANTOS, G. A., WENDLING, I., e OLIVEIRA, M. L. Propagação vegetativa de cedro-rosa por miniestaquia. **Revista Árvore**, 27(2), 139-143, 2003. (DOI: 10.1590/S0100-67622003000200003)

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

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. 2 ed. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2013. 279 p.

ZEIST, A. R.; PIVA, R.; RESENDE, J. T.; SILVA, I.F.; ATHANÁZIO, J. C; RODRIGUES, J. D; Características Fisiológicas e Agronômicas Do Híbrido de Repolho Fuyutoyo® Pulverizado Com Reguladores Vegetais. **Horticultura Brasileira**, p. 210–215, 1 abr. 2017.

ZHANG, W., FAN, J., TAN, Q., ZHAO, M., & CAO, F. Mechanisms underlying the regulation of root formation in *Malus hupehensis* stem cuttings by using exogenous hormones. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 36, n. 1, p. 174-185, 2016. (DOI: 10.1007/s00344-016-9628-8)