

Documentos 91

Propagação Vegetativa de Erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): Estado da Arte e Tendências Futuras

Ivar Wendling

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Florestas

Estrada da Ribeira, km 111

Caixa Postal 319

Fone: 41 666-1313

Fax: 41 666-1276

Home page: <http://www.cnpf.embrapa.br>

E-mail (sac): sac@cnpf.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Luciano Javier Montoya Vilcahuaman

Secretária-Executiva: Cleide da S. N. Fernandes de Oliveira

Membros: Antônio Carlos de S. Medeiros, Edilson Batista de Oliveira, Erich Gomes Schaitza, Honorino Roque Rodigheri, Jarbas Yukio Shimizu, José Alfredo Sturion, Patricia Póvoa de Mattos, Sérgio Ahrens, Susete do Rocio C. Penteadó

Supervisor editorial: Luciano Javier Montoya Vilcahuaman

Normalização bibliográfica: Lidia Woronkoff e Elizabeth Câmara Trevisan

Foto(s) da capa:

Revisão gramatical: Ralph D. M. de Souza

Editoração eletrônica: Cleide da S. N. Fernandes de Oliveira

1ª edição

1ª impressão (2004): Sob demanda

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

CIP – Brasil. Catalogação na Publicação
Embrapa Florestas

Wendling, Ivar.

Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) : estado da arte e tendências futuras / Ivar Wendling. – Colombo : Embrapa Florestas, 2004.

46 p. (Embrapa Florestas. Documentos, 91)

ISSN 1517-536X (impresso). - ISSN 1679-2599 (CD-ROM)

1. Erva-mate – Propagação vegetativa. 2. *Ilex paraguariensis*. I. Título. II. Série.

CDD 634.97385

© Embrapa 2004

Autor

Ivar Wendling

Engenheiro Florestal, Doutor, Pesquisador da *Embrapa Florestas*.

ivar@cnpf.embrapa.br.

Apresentação

A produção de mudas de erva-mate em escala comercial sempre foi e continua sendo efetuada pela via seminal ou sexuada. Em vista de uma série de problemas e limitações relacionadas a semente e a produção da muda via sexuada, a propagação vegetativa tem sido tema de inúmeros estudos. Muitos avanços com a técnica de estaquia e micropropagação da espécie foram obtidos, levando ao desenvolvimento de protocolos de propagação, os quais, no entanto, não têm sido implementados em nível comercial em vista de uma série de limitações. Assim, este trabalho objetivou a revisão de aspectos relacionados à propagação vegetativa de erva-mate que possam orientar futuras pesquisas e trabalhos em nível comercial, baseado em pesquisas realizadas com a espécie, bem como em técnicas mais avançadas desenvolvidas para outras espécies lenhosas.

Moacir José Sales Medrado
Chefe Geral
Embrapa Florestas

Sumário

1. Introdução	9
2. Fatores Importantes na Propagação Vegetativa de Plantas	11
2.1. Reguladores de crescimento	11
2.2. Substratos	13
2.3. Recipientes e ambiente de propagação	15
2.4. Tipo e tamanho dos propágulos	16
2.5. Juvenilidade e maturidade dos propágulos	17
2.6. Rejuvenescimento de plantas adultas	19
2.7. Época de propagação	22
2.8. Status nutricional e hídrico da planta matriz	23
2.9. Tratamentos na planta fornecedora de propágulos	25
2.10. Desinfestação com produtos químicos	26
2.11. Técnicas de propagação	27
2.11.1. Estaquia	27
2.11.2. Micropropagação	29
2.11.3. Enxertia	31
3. Testes de Campo	33
4. Perspectivas e Tendências	35
5. Referências Bibliográficas	36

Propagação Vegetativa de Erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): Estado da Arte e Tendências Futuras

Ivar Wendling

1. INTRODUÇÃO

A produção de mudas de erva-mate via sementes apresenta uma série de limitações e dificuldades, podendo-se destacar: baixa qualidade genética e fisiológica das sementes (Sturion, 1988); dormência das sementes; longo tempo destinado à estratificação das mesmas (de quatro a seis meses); germinação demorada, desuniforme (de 100 a 360 dias) (Prat Krikun, 1993; Menna, 1995) e em baixo percentual (em geral, inferior a 20%) (Menna, 1995; Sturion, 1988); longo período de produção das mudas (Grigoletti Júnior et al., 1997; Sturion, 1988; Higa, 1983), necessidade de repicagem das mudas e dificuldade de obtenção de sementes com alto padrão genético. Todos estes fatores contribuem para elevar o custo de produção das mudas, além de limitar a seqüência dos programas de melhoramento genético da espécie. As sementes da erva-mate apresentam dormência em virtude do embrião se encontrar morfológicamente imaturo, requerendo determinado período de estratificação para que ocorra o seu desenvolvimento e germinação (Fowler & Sturion, 2000), além de apresentarem endocarpo lenhoso (Medeiros, 1998), ou seja, dormência tegumentar (Fowler & Sturion, 2000).

Os plantios de erva-mate provenientes de sementes coletadas sem critérios técnicos apresentam desenvolvimento heterogêneo, com reflexos negativos na produtividade e qualidade do produto final. Esses problemas podem ser minimizados ou até solucionados através da obtenção de mudas por propagação vegetativa de indivíduos geneticamente superiores.

O grau de sucesso obtido na propagação vegetativa é influenciado pela espécie/clone (Gonçalves, 1982; Menzies, 1992; Thompson, 1992; Eldridge et al., 1994), pela estação do ano, condições fisiológicas da planta-mãe, variações nas condições climáticas (Menzies, 1992), pela posição do propágulo na planta-mãe, pelo tamanho, tipo e hora de coleta do propágulo (Menzies, 1992; Thompson, 1992), pelo meio de enraizamento, pelas substâncias de crescimento, pelos produtos químicos aplicados (Thompson, 1992), entre outros.

Os protocolos de estaquia desenvolvidos para a propagação de erva-mate têm apresentado uma série de limitações para sua adoção em escala comercial, principalmente em relação a métodos eficientes de rejuvenescimento de material adulto, ao desenvolvimento das técnicas de manejo do ambiente de propagação (substratos, umidade na folha e no substrato, controle fúngico e hormonal), manejo das estacas pós enraizamento em relação a nutrição (tipos de adubos, dosagens, intensidade de aplicação, relações de nutrientes etc.), sistemas de enraizamento e condução que não necessitem de transplante para as estacas enraizadas, sombreamento, vigor do sistema radicular, bem como o estabelecimento de testes clonais, visando estudos de comparação do crescimento de mudas clonais com mudas originárias de sementes. Em relação a micropropagação, o desenvolvimento de técnicas de resgate de material adulto também é de extrema importância, aliado ao desenvolvimento de métodos eficientes de desinfestação de propágulos adultos e diminuição ou eliminação da oxidação fenólica no meio de cultura *in vitro*.

A necessidade de desenvolvimento de protocolos específicos de macro e micropropagação por clone selecionado é de extrema importância, uma vez que, segundo resultados de inúmeras pesquisas desenvolvidas, a variação da capacidade de propagação vegetativa entre indivíduos é extremamente alta (Prat Krikun et al., 1986; Sand, 1989; Tavares et al., 1992). Neste sentido, torna-se mister ressaltar a necessidade de os programas de melhoramento da erva-mate estarem em perfeita sincronia com o desenvolvimento de protocolos de propagação vegetativa específicos para cada clone selecionado.

Assim, este trabalho objetivou a revisão de aspectos relacionados a propagação vegetativa de erva-mate, com foco em seus problemas, dificuldades e possíveis caminhos e tendências para solução destes, baseado em pesquisas realizadas com a espécie, bem como nas técnicas mais avançadas desenvolvidas para outras espécies lenhosas.

2. FATORES IMPORTANTES NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE PLANTAS

2.1. Reguladores de crescimento

A aplicação de reguladores de crescimento tem uma importância particular para obtenção de raízes em propágulos de plantas de difícil enraizamento (Malavasi, 1994), aumentando a velocidade de formação de raízes, o número e a qualidade das raízes formadas, e a uniformidade de enraizamento.

As concentrações a serem aplicadas são muito variáveis em função da espécie (Wilson, 1994), do clone, do estado de maturação (Wilson, 1994; Kamlesh, et al., 1995), das condições ambientais, da forma de aplicação, da técnica de propagação usada etc. O tempo de aplicação dos reguladores de crescimento deve ser inversamente proporcional à sua concentração, sendo recomendados em torno de 5 segundos para as soluções concentradas e tempos mais prolongados para soluções menos concentradas (Hartmann et al., 1997).

De forma geral, em trabalhos de macropropagação o ácido indolbutírico (AIB) tem sido o regulador de crescimento mais aplicado, enquanto na micropropagação o ácido indolacético (AIA), o ácido naftaleno acético (ANA) e a benzil-amino-purina (BAP) têm sido os mais usados. Torna-se importante ressaltar que os reguladores de crescimento, quando aplicados em concentrações elevadas, podem induzir efeitos prejudiciais aos propágulos, como amarelecimento e perda de folhas, deformação de brotações e queima da parte tratada (Lopes & Barbosa, 1988).

Para a estaquia de erva-mate, Iritani & Soares (1981) estudaram a aplicação de AIA e AIB em concentrações de 0, 3.000 e 5.000 mg L⁻¹ em duas etapas de enraizamento (plantios), e concluíram pela influência positiva da aplicação destes na formação de calo, na iniciação radicial, aumentando o número de estacas enraizadas, o número de raízes por estaca e diminuindo o tempo requerido para o enraizamento em ambas as etapas de enraizamento. Em relação à concentração e ao tipo de regulador de crescimento para enraizamento, no primeiro plantio, os autores não encontraram diferenças

significativas entre AIA e AIB a 3.000 e 5.000 mg L⁻¹ no percentual de enraizamento e superioridade significativa no número de estacas com mais de 10 raízes para AIB, sem diferença entre 3.000 e 5.000 mg L⁻¹ deste regulador. No segundo plantio os autores não obtiveram diferenças significativas em relação a aplicação de AIA e AIB em ambas as concentrações (3.000 e 5.000 mg L⁻¹).

Para estudar o efeito de diferentes substâncias para incrementar o enraizamento de estacas de erva-mate Prat Krikum *et al.* (1986) montaram três experimentos. No primeiro experimento, testando a aplicação de dosagens de 0, 100, 200, 400 e 800 mg L⁻¹ de AIB obtiveram percentuais médios de plantas obtidas aos 12 meses variando de 22,2 a 34,2%, não observando variações significativas em termos de dosagens. No segundo experimento, em que foram testadas dosagens crescentes (0, 10, 20, 40 e 80 mg L⁻¹) de ácido 2-cloro etilfosfônico, observou-se uma tendência de diminuição do percentual de plantas obtidas aos 10-12 meses em função do aumento das dosagens. No terceiro experimento foi testada a aplicação de (OH)₂Ca (2%), KMnO₄ (0,75%), NO₃Ag (1,5%), Glucose (2,5%), Etanol (1,5%), comparada com o controle, obtendo-se médias de 5,5%, 21,1%, 13,3%, 21,1%, 21,1% e 15,5%, respectivamente, de plantas aos 12 meses.

Niklas (1988), em um primeiro experimento, testou o efeito de diferentes substâncias promotoras de enraizamento, via talco inerte: NaOH 2 N durante 1 minuto, AIA (200 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹ + NaOH, 1000 mg L⁻¹, 1000 mg L⁻¹ + NaOH 2 N), AIB (200 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹ + NaOH, 1000 mg L⁻¹, 1000 mg L⁻¹ + NaOH) e ANA (200 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹ + NaOH, 1000 mg L⁻¹, 1000 mg L⁻¹ + NaOH), utilizando estacas de 10 a 15 cm, com duas folhas e areia fina como substrato. Em um segundo experimento não efetuou o tratamento com NaOH porque o mesmo não mostrou efetividade na experiência anterior. Em ambos os experimentos, os tratamentos que continham ANA mostraram uma tendência de superioridade em relação aos demais; no entanto, o autor entendeu como prematuro determinar a maior efetividade de algum tratamento em face das variações observadas em um mesmo tratamento nos dois experimentos.

Graça *et al.* (1988) concluíram que concentrações de 5.000 a 8.000 mg L⁻¹ de AIB possibilitaram até 62% e 47% de enraizamento de estacas de brotações do ano de árvores adultas e de mudas, respectivamente. Em termos de

literatura, o fato de brotações de árvores adultas terem enraizado de forma superior àquelas de mudas neste trabalho parece ser isolado. Já Tavares et al. (1992) testaram AIB em concentrações variáveis de 0 a 10.000 mg L⁻¹, em solução alcoólica a 50%, durante 10 segundos. Segundo os autores, o maior número de estacas enraizadas foi obtido com 10.000 mg L⁻¹ (51%), embora não houvesse diferença significativa em relação à concentração de 8.000 mg L⁻¹, sendo assim a última recomendada para trabalhos de estaquia da espécie.

Em trabalho baseado na metodologia adotada por Graça et al. (1988), Tavares et al. (1992) e Correa (1995) para estaquia de árvores adultas de erva-mate, Picheth (1997) testou a aplicação de 7.000 mg L⁻¹, 9.000 mg L⁻¹, 11.000 mg L⁻¹, 13.000 mg L⁻¹ e 15.000 mg L⁻¹ de AIB em solução alcoólica a 60%. Em geral, o autor obteve enraizamento com variações significativas entre plantas (de 14,1 a 22,4%) e não significativas para as diferentes concentrações de regulador aplicadas, com percentuais médios em torno de 17%.

Em termos gerais, no momento nota-se a indicação de que a aplicação de 8.000 mg L⁻¹ de AIB, via solução alcoólica, durante 10 segundos, tem sido mais adotada. Porém, conforme resultados não conclusivos de Niklas (1988), por exemplo, a aplicação de outros reguladores de crescimento, como o ANA, deve ser mais bem avaliada. Para plantas de *Eucalyptus* a aplicação do regulador de crescimento AIB foi reduzida de 8.000 mg L⁻¹ para 0 a 2.000 mg L⁻¹ apenas mudando-se a técnica de propagação de estaquia para miniestaquia. Isto indica a necessidade de estudar, também em erva-mate, a técnica de miniestaquia, aliada a uma reavaliação da necessidade de aplicação de reguladores de crescimento nesta técnica.

2.2. Substratos

Os substratos indicados para a estaquia de plantas arbóreas têm sido intensivamente estudados. De forma geral tem-se recomendado que em trabalhos de estaquia os substratos devem ser suficientemente porosos para possibilitar uma boa aeração para a estaca, pois o oxigênio é indispensável à respiração resultante dos processos de emissão de raízes e ao mesmo tempo armazenar uma certa quantidade de água, suficiente para o desenvolvimento inicial da muda e sobrevivência a campo por um determinado tempo (Malavasi, 1994). Em espécies de plantas que apresentam dificuldade de propagação vegetativa, o meio pode influir muito na capacidade de enraizamento e na qualidade do sistema radicular (Paiva & Gomes, 1995).

Os elementos mais freqüentemente usados como substrato para promoção do enraizamento são: vermiculita, areia, casca de arroz carbonizada, moinha de carvão, turfa, serragem, terriço e diversas misturas destes constituintes. O mais indicado varia conforme a espécie e as condições de enraizamento em que se trabalha (Paiva & Gomes, 1995).

Em erva-mate, inúmeros substratos têm sido usados para o enraizamento de estacas: solo superficial de baixa fertilidade (Sand, 1989), areia média de construção peneirada e lavada (Iritani & Soares, 1981), areia fina (Niklas, 1988), areia e vermiculita em proporções iguais (Higa, 1983), terra roxa (Sand, 1989), vermiculita de granulometria média (Correa, 1995). Para avaliar o melhor substrato, Graça et al. (1988) testaram areia e vermiculita, concluindo que a areia não é um substrato adequado para o enraizamento, uma vez que o uso da vermiculita proporcionou o dobro de enraizamento (60 a 65%). Tavares et al. (1992) concluíram que a vermiculita média foi o substrato que propiciou maior enraizamento, ou seja, 56%, enquanto que a casca de arroz carbonizada resultou em 27,5%, a mistura de terra e areia (proporção de 3:1) em 4,4% e, por último, a mistura de terra e vermiculita média (proporção de 3:1) em 0,6%.

Buscando avaliar o melhor substrato para estaquia de erva-mate, Prat Krikum (1995) obteve enraizamento de 42,21% com areia fina, 23,33% com “solo pobre”, 5,55% com “solo rico” e 2,22% com areia grossa, sugerindo que os melhores índices de enraizamento dos dois primeiros substratos foram em vista de seu baixo ou nulo conteúdo de matéria orgânica, o que asseguraria maior sanidade, menor conteúdo de umidade, boa aeração e, conseqüentemente, enraizamento mais acelerado. Porém, o fato de a areia grossa ter propiciado menores índices de enraizamento não foi justificado no trabalho, uma vez que é um substrato com nulo conteúdo de matéria orgânica, menor conteúdo de umidade e de boa aeração, de forma similar a areia fina, a qual propiciou o maior enraizamento.

Para Gomes (1987) a temperatura na base da estaca deve ser mais elevada do que a temperatura ambiente, pois proporcionaria maior atividade na base da estaca, reduzindo a respiração e a perda de água pela parte aérea, prolongando assim, o seu bom estado fisiológico; contudo há controvérsias. Enquanto Martin et al. citado por Borba & Corrêa (1983) recomendam o aquecimento na base das estacas em regiões onde as temperaturas mínimas

noturnas atinjam valores inferiores a 18°C. Valle citado por Borba & Corrêa (1983), trabalhando com *Eucalyptus urophylla* concluiu que nas condições experimentais o aquecimento da base das estacas não afetou a sobrevivência das mesmas, embora tenha sido fundamental quanto à precocidade e percentagem de raízes formadas. Para a estaquia de erva-mate, Higa (1983) estudou o efeito do aquecimento do substrato a 20° e 25°C, em comparação ao não aquecimento e obteve índices de enraizamento de 60,4%, 43,7% e 12,5% com material juvenil, respectivamente, aos 64 dias. Para material adulto de rebrota, praticamente não foram encontradas diferenças entre as diferentes temperaturas do substrato.

Torna-se evidente a necessidade de pesquisas com outros substratos para melhoria do enraizamento de propágulos de erva-mate. Entre estes se pode destacar: vermiculita, serragem, areia, casca de arroz carbonizada, moinha de carvão, casca de pinus semidecomposta, composto orgânico e diversas misturas destes constituintes. Além disso, a condição de manejo, principalmente hídrico, a que os experimentos são submetidos, deve ser testada, uma vez que diferentes substratos apresentam diferentes capacidades de retenção de água e, conseqüentemente, mostram potencialidades variáveis de proporcionar enraizamento nas estacas.

2.3. Recipientes e ambiente de propagação

Pesquisas estudando a adequação de diferentes recipientes à propagação vegetativa de erva-mate são escassas. Tavares et al. (1992) testaram sacos plásticos de polietileno (15 x 7,5 cm), tubetes plásticos de 55 cm³ e caixas de madeira (50 cm x 40 cm x 10 cm) com fundo de sombrite, com capacidade para 100 estacas. Em torno de 60 dias após a estaquia, os autores verificaram que, apesar de o saco plástico ter resultado em maior enraizamento (25,4%) é de difícil acomodação e requer maior espaço na casa de vegetação do que as caixas de madeira (20% de enraizamento). No tubete obteve-se em torno de 10,8% de enraizamento.

De forma geral, em trabalhos de estaquia de erva-mate tem-se adotado os mais variados recipientes: tubetes (Graça et al., 1988; Corrêa, 1995), canteiros sob sombreamento (Niklas, 1988), sacos plásticos (Sand, 1989; Tavares et al., 1992), caixas (Tavares et al., 1992), caixas de madeira com fundo de tela plástica (Higa, 1983) e tubetes (Tavares et al., 1992).

Apesar dos resultados obtidos por Tavares et al. (1992) com o uso de tubetes haverem sido inferiores, torna-se necessário o desenvolvimento de experimentos para a adaptação dos tubetes plásticos ao enraizamento, uma vez que ocupam menor área dentro da casa de vegetação, são fáceis de ser transportados, evitam o envelhecimento do sistema radicular, possibilitam menor gasto de substrato, permitem boa ergonomia e produção de mudas sem a etapa do transplântio. Para tanto, é necessário o desenvolvimento de substratos que se mostrem adequados a este tipo de recipiente, que promovam boa agregação ao sistema radicular, boa capacidade de enraizamento das estacas, além de sistemas de umidificação do ambiente de propagação adequados a este recipiente.

Para a estaquia de erva-mate não se têm registros de pesquisas com diferentes ambientes de propagação, tendo sido utilizados os seguintes ambientes: cobertura com plástico transparente de 80 micras, sob meia sombra produzida por ramos de material vegetal (Niklas, 1988; Sand, 1989), nebulização intermitente com um ciclo de 10´´/10´ (Graça et al., 1988; Tavares et al., 1992) e de 5´´/10´ (Correa, 1995) em casa de vegetação, estufins de plástico (Higa, 1983), nebulização intermitente com um ciclo de 10´´/8´ e 16 horas de luz por dia (em torno de 2 klux), em condições de laboratório (Iritani & Soares, 1981); estufins de plástico (60 micras) com 70% de sombreamento (Prat Krikun, 1995).

Da mesma forma que para plantas do gênero *Eucalyptus*, experimentos em casa de vegetação, onde a nebulização seja controlada de modo a propiciar umidade do ar acima de 80% devem ser realizados para erva-mate. Sistemas que se baseiam no tempo entre uma e outra nebulização, além de produzirem excesso de umidade em dias nublados e chuvosos, necessitam ser desligados à noite, para evitar o excesso de umidade, que dificulta as trocas gasosas, impede o enraizamento, provoca morte dos tecidos e propicia o desenvolvimento de doenças fúngicas.

2.4. Tipo e tamanho dos propágulos

A redução da área foliar das estacas é uma prática usada para minimizar a perda de água. Isso é aplicado para várias espécies lenhosas como seringueira (Santos, 1986), podendo ser aplicado a todas as espécies que usam estacas com área foliar. Paiva et al. (1996) citam que estacas de espécies florestais

constituídas de duas a quatro gemas, nas quais são deixadas as folhas com área foliar reduzida em 50%, são as que proporcionam maior taxa de enraizamento.

Prat Krikun et al. (1986) realizaram uma série de estudos buscando definir o tipo de estaca ideal para o enraizamento de erva-mate. Em relação ao número de folhas, obtiveram médias (anos de 1983/84 e 1984/85) de 45,8%, 47,1%, 42,8%, 32,5%, 40,5% e 26,4% de plantas obtidas aos 10-12 meses, respectivamente, com 1, 2, 3, 4, 5 e 6 folhas por estaca, não chegando, portanto a uma conclusão definitiva; já em relação ao sexo das plantas matrizes, obtiveram médias (anos de 1982/83, 1983/84 e 1984/85) de 19,8% e 6,6% de plantas obtidas aos 10-12 meses, respectivamente, para estacas de plantas femininas e masculinas, chegando à conclusão de que as primeiras tem maior propensão ao enraizamento, o que também já havia sido concluído por experimento de Prat Krikun et al. (1983).

De forma geral, há uma grande variação em trabalhos de estaquia de erva-mate quanto ao propágulo adotado: estacas de ramos do ano, com redução da área foliar em 50% (Tavares et al., 1992); estacas com 12 cm de comprimento (Graça et al, 1988; Correa, 1995); estacas com duas folhas e 10 a 15 cm de comprimento (Higa, 1983; Niklas, 1988); estacas polifoliadas de 10-20 cm de comprimento e diâmetro entre 3 e 5 mm (Sand, 1989), estacas de 16 cm de comprimento e 4 folhas reduzidas a 1/3 do tamanho original (Iritani & Soares, 1981).

2.5. Juvenildade e maturidade dos propágulos

Na maioria das espécies, principalmente nas lenhosas, há um gradiente de juvenildade em direção à base da árvore (Zobel & Talbert, 1984; Eldridge et al., 1994), sendo este variável entre espécies (Hackett, 1987) o que promove um aumento da maturação em função da maior proximidade com o meristema apical (Greenwood & Hutchison, 1993). Similarmente, brotações laterais mais distantes do ramo ou caule central apresentam menores graus de juvenildade do que aquelas mais próximas (Huang et al., 1990).

A redução na capacidade de crescimento em diâmetro e altura com o aumento da maturação pode ser facilmente demonstrada pelo enraizamento de estacas ou pela enxertia de propágulos de diferentes idades. Mudanças provenientes de

enxertos e estacas juvenis não somente produzem maior crescimento do caule, mas também maior quantidade de folhas e biomassa, o que poderia ser função de um sistema radicular mais vigoroso (Greenwood e Hutchison, 1993).

Uma das mais consistentes expressões da maturação em plantas lenhosas tem sido a transição da alta para a baixa capacidade de enraizamento de estacas caulinares e foliares (Hackett, 1987; Eldridge et al., 1994). Para algumas espécies lenhosas, estacas de mudas juvenis, provenientes de sementes, enraízam facilmente, enquanto outras provenientes de plantas mais velhas enraízam esporadicamente, ou definitivamente não enraízam (Zobel & Talbert, 1984).

Propágulos coletados do ápice e dos ramos laterais de plantas geralmente apresentam um potencial de enraizamento menor do que aqueles coletados de regiões mais próximas à base da árvore (Hackett, 1987), embora ocorram grandes variações em termos de espécies. Para *Eucalyptus grandis*, por exemplo, trabalhos têm mostrado que estacas cotiledonares têm um alto potencial de enraizamento, enquanto que estacas coletadas acima do 15º nó, apresentam baixo enraizamento ou não enraízam (Hackett, 1987). Em *Eucalyptus viminalis* e *Eucalyptus pauciflora*, Paton, citado por Hackett (1987), relata que o alto potencial de enraizamento é perdido completamente após o 4º nó. Já em *Eucalyptus camaldulensis* o mesmo autor obteve de 40% a 50% de enraizamento em estacas do 100º nó e em *Eucalyptus deglupta*, 100% de enraizamento para estacas coletadas acima do 100º nó.

Em plantas de erva-mate, diversas pesquisas procurando estabelecer o local ideal de coleta de propágulos na planta foram desenvolvidas. Prat Krikum et al. (1983), obtiveram 50,6% e 48,6% de enraizamento, respectivamente, de propágulos oriundos das partes mediana e basal, respectivamente, em comparação a 21,2% da parte apical, sendo a mesma tendência encontrada por Prak Krikun (1986). Graça et al. (1988) concluíram que na estaquia a partir de mudas oriundas de sementes e mantidas em casa de vegetação podem ser utilizadas estacas de quaisquer seções dos ramos, embora haja tendência de maior sucesso com estacas nas seções basal e mediana. Para Tavares et al. (1992) estacas coletadas das seções mediana e basal apresentaram um maior enraizamento do que as retiradas da seção apical.

Com vistas a estudar a influência da idade fisiológica da planta matriz de erva-mate na capacidade de enraizamento, Sand (1989) obteve enraizamento de 91,7% e 39,4% em estacas caulinares e foliares, respectivamente, provenientes de plantas matrizes de um ano de idade, enquanto que apenas 6,8% e 2,6% para aquelas oriundas de plantas de 60 anos. Estes resultados, segundo conclusões do mesmo autor, indicam que o fator juvenildade se perde após três anos de idade das plantas de erva-mate, sem, no entanto, terem ainda alcançada a maturação reprodutiva, a qual iniciaria após o quinto e sexto ano de vida.

Além do aumento dos percentuais de enraizamento em propágulos mais juvenis, a melhor qualidade e a maior rapidez de formação do sistema radicular também têm sido citadas (Gomes, 1987), denotada pelo aumento no vigor radicular (número e comprimento de raízes) relatado por Schneck (1996). Sand (1989) avaliou o comprimento médio das maiores raízes de estacas oriundas de plantas de erva-mate com seis meses, 18 meses e 60 anos de idade em comparação com estacas de rebrotes oriundos de plantas de 60 anos. Obteve 11,5 cm, 10,6 cm, 8,4 cm e 5,8 cm, respectivamente, para os quatro tratamentos, ressaltando a importância do fator juvenildade dos propágulos no vigor do sistema radicular.

De maneira geral, sente-se a necessidade de estudos em erva-mate para esclarecer a influência do gradiente de maturidade e juvenildade dos propágulos na capacidade de propagação vegetativa, bem como o crescimento e desenvolvimento geral de mudas obtidas por via assexuada a campo.

2.6. Rejuvenescimento de plantas adultas

O rejuvenescimento pode ser considerado como uma forma de reverter as plantas do estágio maduro para o juvenil. Segundo Hackett & Murray (1993), procedimentos para obter propágulos juvenis de plantas maduras são de considerável importância para a propagação vegetativa de plantas lenhosas em vista da indução e estabelecimento de raízes e brotações adventícias ser grandemente influenciado pelo grau de maturação do tecido. Entre os principais métodos utilizados para o rejuvenescimento de plantas podem-se citar a micropropagação seriada, a enxertia seriada, a estaquia seriada e as podas drásticas.

Segundo Franclet et al. (1987), a técnica da micropropagação é eficiente no rejuvenescimento de propágulos maduros, embora muitas espécies arbóreas maduras não possam ser micropropagadas em escala comercial, provavelmente em função da falta de otimização das condições de cultura *in vitro* e pelo número insuficiente de subcultivos adotados. Uma aplicação direta do rejuvenescimento pela micropropagação seriada na área florestal é a técnica da microestaquia, a qual é baseada no máximo aproveitamento da juvenilidade dos tecidos vegetais, cujo desenvolvimento e aplicação em *Eucalyptus* teve como origem os trabalhos realizados por Assis et al. (1992).

No rejuvenescimento por enxertia seriada, propágulos maduros são enxertados em partes juvenis de um porta-enxerto, promovendo uma maior habilidade para o enraizamento das estacas provenientes destes brotos (Menzies, 1992; Kao & Huang, 1993). O grau de rejuvenescimento obtido depende do número de re-enxertias do enxerto no porta-enxerto juvenil, bem como do gênero envolvido (Huang et al., 1990). Resultados experimentais têm apontado que duas (Kim et al., 1993), quatro (Huang et al., 1990; Kao & Huang, 1993; Assis, 1996) ou de quatro a seis (Eldridge et al., 1994) re-enxertias são suficientes para rejuvenescer o material até o ponto deste enraizar facilmente, tendo-se variações em termos de espécies.

O efeito da confecção de estacas de brotações das estacas enraizadas (estaquia seriada) sobre o rejuvenescimento em *Eucalyptus* spp., resultando em efeitos positivos sobre o enraizamento, foi citado por Eldridge et al. (1994), embora ainda haja poucos relatos neste sentido. Em *Picea abies*, St-Clair et al. (1985), estudando o efeito de cinco gerações de estaquia seriada, não encontraram resultado significativo desta técnica no crescimento em diâmetro e altura das mudas resultantes, o que pode ser atribuído ao grande intervalo entre os subcultivos (em torno de cinco anos).

O rejuvenescimento pela miniestaquia seriada foi estudado por Wendling (2002). Segundo o autor, em *Eucalyptus* esta técnica mostrou efeito significativo sobre a sobrevivência de miniestacas, a altura e o diâmetro de colo das mudas, bem como no vigor radicular, para os clones com menor grau de juvenilidade.

A realização do corte raso de árvores adultas para induzir o crescimento de brotações juvenis e a manutenção da juvenilidade por podas sucessivas visa

aumentar a produção de propágulos e manter a juvenilidade dos mesmos (Hackett, 1987). Esse sistema tem sido usado com sucesso na produção de estacas de *Eucalyptus*, no Brasil (Campinhos Junior & Ikemori, 198-), sendo a base para a propagação clonal comercial (Hackett, 1987).

Em erva-mate os estudos em relação ao rejuvenescimento de plantas adultas têm se restringido às conseqüências do corte drástico e coleta de brotações da base das árvores sobre os índices de enraizamento. Prat Krikum *et al.* (1986) comparando o enraizamento de estacas oriundas de plantas podadas drasticamente e não podadas concluíram que nas primeiras o enraizamento médio foi de 63,8%, 27,2% e 55,0%, respectivamente nos anos de 1983, 1984 e 1985, enquanto naquelas coletadas de plantas não decapitadas a média foi de 64,8 %, 10,5% e 40,0% de enraizamento, respectivamente, nos anos de 1983, 1984 e 1985, sugerindo um possível efeito do corte raso nos dois últimos anos.

Sand (1989) estudou o enraizamento de estacas oriundas de plantas de um, três e 60 anos de idade em comparação com estacas de brotações de 5 meses oriundas de plantas de 60 anos de idade que foram decepadas. Obteve 84,1%, 18%, 20,4% e 38,6% de enraizamento, respectivamente, para os quatro tratamentos. No segundo experimento Sand (1989), comparou o enraizamento de estacas oriundas de plantas de seis meses, 18 meses e 60 anos de idade em comparação com estacas de rebrotes oriundos de plantas de 60 anos de idade. Obteve 95,8%, 96,5%, 39,8% e 39,0% de enraizamento, respectivamente, para os quatro tratamentos. Da mesma forma que o segundo experimento desenvolvido pelo autor, a menor capacidade de enraizamento de brotações oriundas de rebrotes de plantas em relação a plantas intactas de 60 anos não era de se esperar, porém não se pode fazer uma análise mais profunda em função da falta de informações acerca da metodologia do experimento desenvolvido, bem como das diferenças no potencial de enraizamento das diferentes árvores.

Em estudo comparativo com enraizamento de estacas oriundas de material adulto, juvenil (mudas) e de rebrota de árvores adultas, Higa (1983) obteve índices de enraizamento médios aos 64 dias, considerando três temperaturas do substrato, de 0%, 38,9% e 4,16%, respectivamente.

Pelo exposto, nota-se a necessidade de estudos buscando elucidar os efeitos

de diferentes métodos de rejuvenescimento no potencial de enraizamento e crescimento das mudas obtidas em nível de viveiro e campo. Em trabalhos realizados pelo Laboratório de Fisiologia Vegetal da *Embrapa Florestas*, ficou clara a influência positiva da enxertia de propágulos oriundos de árvores adultas (60 a 80 anos) previamente ao seu estabelecimento *in vitro*, resultando em redução das taxas de contaminação e oxidação. Da mesma forma, para a estaquia de propágulos oriundos de árvores adultas a enxertia tem mostrado resultados promissores para o seu pré-tratamento.

2.7. Época de propagação

Em alguns casos, a época do ano em que se procede a coleta dos propágulos é de grande importância sobre o enraizamento. Para as espécies de difícil enraizamento, a época indicada para a coleta é aquela que coincide com o repouso vegetativo ou com a estação de crescimento; já para as espécies de fácil enraizamento, os propágulos podem ser coletados em qualquer época do ano (Paiva & Gomes, 1995). É recomendado que para cada espécie se determine a época ideal para coleta, a qual está diretamente relacionada à condição fisiológica da planta-mãe (Hartmann et al., 1997).

Para a erva-mate, Prat Krikun et al. (1986) testaram diferentes épocas de estaquia de um mesmo clone, em diferentes anos. De maneira geral, observaram variações extremamente altas de um ano para o outro, porém, em média, os melhores índices de enraizamento foram obtidos na segunda quinzena de novembro e primeira quinzena de dezembro. Prat Krikun et al. (1983), testando o enraizamento em intervalos quinzenais (de 1/12/1982-83), obtiveram os maiores índices de plantas obtidas ao final de 12 meses na primeira quinzena de dezembro, primeira e segunda quinzena de fevereiro e primeira e segunda quinzena de maio. Porém, para efeitos comparativos e mais conclusivos, estes estudos deverão ser repetidos nas condições climáticas brasileiras. No Brasil, Tavares (1993)¹, testou o enraizamento entre o verão de 1991 e o inverno de 1993 e obteve média geral de 31,9% com variação média das plantas de 8,5% a 64,7% de enraizamento, com melhor rendimento na primavera e verão.

Prat Krikun et al. (1986), testando a influência da estaquia de erva-mate em diferentes fases lunares, obtiveram médias de 14,7%, 18,6%, 10,8% e

¹ Comunicação pessoal

17,8%, respectivamente de plantas aos 8-12 meses, para as fases crescente, cheia, minguante e nova. Variações de enraizamento de ano para ano, para o mesmo clone, também foram obtidas por Niklas (1988) e Prat Krikun et al. (1986).

2.8. *Status* nutricional e hídrico da planta matriz

O estado nutricional dos propágulos vegetativos tem sido correlacionado com o enraizamento (Blazich, 1987; Chalfun, 1989). De modo geral, qualquer nutriente envolvido nos diversos processos metabólicos associados à diferenciação e formação do meristema radicular é essencial para a iniciação radicular (Blazich, 1987; Malavasi, 1994).

Existem evidências de que estacas provenientes de plantas bem nutridas, porém com teores de nitrogênio (N) menores que plantas bem supridas deste nutriente, enraízam com maior facilidade (Fachinello, 1986; Menzies, 1992). Segundo citações de Moe & Andersen (1987) e Hartmann et al. (1997), geralmente o enraizamento é negativamente correlacionado com o conteúdo de N, o que pode ser confirmado pelos resultados obtidos por Rana & Chadha (1989). Nesta situação, o maior índice de enraizamento é atribuído ao maior acúmulo de carboidratos ou à redução dos níveis de citocininas na estaca (Fachinello, 1986).

Além dos carboidratos e nitrogênio, diversos outros elementos têm sido descritos como importantes para o processo de enraizamento. O boro (B) faz parte da síntese do Ácido Ribonucléico (RNA), atua no processo de divisão celular (Malavasi, 1994) e regula os níveis de auxinas pelo aumento da atividade da AIA oxidase (Blazich, 1987), sendo necessário para a emissão de novas raízes (Malavasi, 1994), embora o papel deste elemento no processo de formação de raízes em estacas seja ainda desconhecido (Ono et al., 1992). O zinco (Zn) participa da síntese do triptofano, que é o precursor do AIA (Blazich, 1987; Malavasi, 1994), auxina importante para o enraizamento. O manganês (Mn) atua como ativador da AIA oxidase, que destrói as auxinas endógenas (Blazich, 1987), afetando negativamente o enraizamento. O cálcio (Ca) é requerido para a elongação e divisão celular (Marschner, 1995), o que evidencia uma grande importância deste elemento na iniciação radicular (Blazich, 1987), embora os estudos de fertilização e imobilização tenham geralmente mostrado a não-necessidade deste elemento, principalmente por causa de sua natureza imóvel (Menguel & Kirkby, 1982). No entanto, segundo

os mesmos autores, a importância do Ca na promoção do crescimento e desenvolvimento radicular é claramente estabelecida.

Estudos que demonstram a necessidade do magnésio (Mg) durante a iniciação, o crescimento e o desenvolvimento radicular são extremamente limitados (Blazich, 1987). Em virtude deste elemento inibir a síntese protéica (Menguel & Kirkby, 1982), há suposições de sua importância no enraizamento (Blazich, 1987). O papel do fósforo (P), do potássio (K), do cálcio (Ca) e do magnésio (Mg) tem se mostrado conflitante e, em alguns casos, resultados contraditórios ocorrem (Menguel & Kirkby, 1982).

A fertilização da planta-mãe antes da coleta de estacas tem sido recomendada pelo fato dessa prática apresentar um efeito altamente significativo nos índices de enraizamento e na velocidade de formação das raízes (Assis, 1986; Blazich, 1987). Sistemas de hidroponia, que permitem um melhor controle da nutrição, têm sido desenvolvidos para o enraizamento de estacas (Phipps et al. e Wood & Hanover, citados por Thompson, 1992; Silva, 1998), porém em escala comercial, na maioria das grandes e médias empresas florestais brasileiras que trabalham com *Eucalyptus*, a utilização destes sistemas tem sido feita para condução de jardins clonais e produção de propágulos bem nutridos.

A importância do status hídrico da planta matriz antes da coleta dos propágulos de plantas lenhosas no enraizamento é de consenso, uma vez que influencia a turgidez dos tecidos. Segundo Assis & Teixeira (1998) o estresse hídrico provoca aumento nos conteúdos de ABA e etileno nas folhas, compostos considerados inibitórios no enraizamento. Além disso, conforme os mesmos autores, o estresse hídrico afeta também níveis endógenos de citocininas, mediante efeito direto na sua síntese e indireto pela redução do seu transporte para e dentro das folhas.

Até o momento, não há informação de estudos visando definir técnicas e metodologias de nutrição da planta matriz de erva-mate para implementação dos níveis de enraizamento dos propágulos, bem como estudos buscando avaliar os efeitos diretos e indiretos do *status* hídrico da planta matriz sobre o enraizamento. A importância deste último aspecto, porém, é destacada em trabalhos como os de Prat Krikum (1995), no qual o autor afirma que os baixos índices de enraizamento de estacas de erva-mate estão, em geral, associados a períodos de baixas precipitações e secas marcantes.

2.9. Tratamentos na planta fornecedora de propágulos

Algumas práticas como o anelamento, o estiolamento, torções e outras na planta matriz podem ser eficientes na promoção do enraizamento em propágulos de plantas lenhosas.

Ribeiro et al. (1994), estudando a regeneração de brotações em cepas de *Eucalyptus grandis* observaram que o anelamento parcial junto com a aplicação de 250 mg L⁻¹ de BAP (benzil-amino-purina) no local antes do corte das árvores proporcionou um aumento no número de cepas com brotações e também um maior número de brotações por cepa. A aplicação de BAP ou etileno apresentou resultados favoráveis sem a necessidade de incisões até o câmbio da árvore. As brotações provenientes desta forma de manejo podem ser usadas como propágulos para o processo de estaquia.

Para estaquia de *Arbutus andrachne*, Al-Salem & Karam (2001) concluíram que o anelamento parcial obtido por dois cortes opostos de 2 cm no sentido longitudinal na base da estaca resultou em incremento significativo no percentual de enraizamento, no comprimento e no peso de matéria verde e fresca de raízes.

Para Hansen (1987), a redução na intensidade de luz, além de influenciar no enraizamento, pode ter efeito no número de raízes, às vezes aumentando, e outras diminuindo, dependendo da espécie. Testando o efeito da redução de luz em 70% em jardim clonal de 24 clones híbridos de *Eucalyptus urophylla* com *E. grandis*, Assis et al. (1990) verificaram que 20 deles responderam positivamente a redução de luz, com acréscimo de 19,04% no enraizamento, ao passo que em três deles a resposta foi negativa (decréscimo de 11,22%) e um dos clones mostrou-se indiferente à redução de luz. Em termos médios, segundo os mesmos autores, houve um ganho de 14,47% no enraizamento pela utilização de estacas obtidas de plantas crescendo sob sombreamento.

Segundo Medrado (1992), o estiolamento total de estacas de clones de seringueira previamente à sua coleta aumentou as concentrações de N, K e Mg e diminuiu as de Ca e P, sendo que neste último apenas em estacas submetidas a estrangulamento. Já o estiolamento localizado da base da estaca (parcial) por 30 dias antes da sua coleta, segundo o mesmo autor, aumentou as concentrações de N, P, K e Mg em estacas submetidas a estrangulamento

e diminuiu as de P em estacas não estranguladas. Em vista destes resultados, o autor concluiu que a utilização conjunta de estiolamento localizado na base da estaca e estrangulamento apresenta características favoráveis que possibilitam sua indicação como tratamento para o pré-condicionamento de estacas de seringueira ao enraizamento.

Em plantas de erva-mate imagina-se que até o momento não se tenha pesquisas visando o estudo de diferentes práticas de pré-tratamento das plantas matrizes adultas selecionadas previamente a coleta de propágulos. Estas práticas, no entanto, poderão vir a ser de grande utilidade para a espécie, uma vez que a mesma é considerada de difícil propagação vegetativa.

2.10. Desinfestação com produtos químicos

Durante o período de enraizamento torna-se necessário promover certa proteção às estacas, pelo fato de as mesmas estarem expostas a diversos tipos de fungos, resultando esta proteção em maior sobrevivência e qualidade das raízes (Paiva & Gomes, 1995).

Para *Eucalyptus*, Paiva & Gomes (1995) recomendam a imersão das estacas em solução de Benomyl na concentração de 0,2%, por 20 minutos, logo após serem preparadas. A base da estaca é novamente tratada com o fungicida Captan (ou outro), a 2%, no momento da aplicação do regulador. Dentro da casa de vegetação, recomendam aplicações preventivas de fungicidas semanalmente, de preferência com alternância de produtos, para evitar o desenvolvimento de resistência por parte de fungos.

Ferreira (1997) recomenda o uso de materiais e equipamentos livres de patógenos na propagação de plantas, por meio da lavagem dos materiais em água corrente ou aspergida, seguida de imersão durante três minutos em 120 g de Captan veiculado em solução de 780 mg L⁻¹ de cloro + 0,05 % de espalhante adesivo, seguindo-se ou não, nova imersão ou enxágüe com água pura. Cita ainda como alternativa a desinfestação das caixas e recipientes com vapor ou água quente, a partir de 70^o C por três minutos.

Em relação à erva-mate, inúmeros tratamentos para desinfestação das estacas foram utilizados em trabalhos de estaquia: imersão das estacas em solução

fungicida Benlate por uma hora e a imersão da base das estacas em solução de NaOH 2 N durante 2 minutos (Iritani & Soares, 1981); imersão em solução de fungicida Benomyl a 0,4 g L⁻¹, durante 30 minutos e, após a estaquia, aplicações semanais com Benomyl a 0,4 g L⁻¹ (Higa, 1983); aplicações de fungicida (Zineb) e inseticida (Dimetoato) nas plantas matrizes antes da coleta de estacas e pulverização preventiva após o estaqueamento com Zineb (Sand, 1989); imersão das estacas em solução de NaOH 2 N durante um minuto (Niklas, 1988); imersão em hipoclorito de sódio a 1% v/v (5 minutos), lavagem em água corrente (5 minutos) e imersão em Benlate a 0,5% p/v (15 minutos) (Graça et al., 1988); desinfestação do substrato previamente à estaquia com água a 90°C e aplicações posteriores alternadas com Zineb, Maneb, Ferban e Captan (Prat Krikun, 1995).

Atualmente, o tratamento químico preventivo com fungicidas é questionado, sendo recomendadas práticas para evitar a contaminação das brotações nas árvores matrizes no campo ou no jardim clonal e aplicações curativas conforme necessidade no ambiente de propagação.

2.11. Técnicas de propagação

2.11.1. Estaquia

No que tange às espécies do gênero *Eucalyptus*, as técnicas de estaquia já estão bem estabelecidas; nelas, árvores selecionadas na fase adulta são podadas em sua base para emissão de brotações, que são posteriormente estaqueadas, micropropagadas e/ou, enxertadas. Em espécies onde não é possível o uso de podas drásticas na base das plantas o início do processo de clonagem das árvores selecionadas torna-se um grande desafio. Sendo assim, métodos diferenciados, como indução de brotações basais de caule e raiz, brotações epicórmicas, enxertia e alporquia necessitam ser desenvolvidos para o resgate de árvores nativas adultas selecionadas.

Segundo Prat Krikun (1995), desde a década de 30 a propagação de erva-mate por estaquia é um tema de interesse, sendo que vários autores fizeram menção à dificuldade de encontrar uma técnica adequada. Conforme o mesmo autor, Furnus (1930) realizou a primeira tentativa sem sucesso; posteriormente, Mutinelli (1943), Garese (1950) e Rodriguez (1959) também obtiveram resultados pouco animadores, sendo os primeiros resultados satisfatórios obtidos por Fernandez e Lasserre (1969).

Mais recentemente, inúmeras pesquisas têm sido desenvolvidas com a estaquia de erva-mate (Prat Kricun e Aranda, 1980; Iritani, 1981; Iritani & Soares, 1981; Higa, 1983; Prat Kricun et al., 1983 e 1986, Graça et al., 1988, Niklas, 1988; Sand, 1989; Tavares et al., 1992). Graça et al. (1988) afirmaram que os estudos têm sido inconclusivos quanto à sua viabilidade em escala comercial, sendo que a porcentagem média de enraizamento tem se situado em torno de 17%.

Sturion & Resende (1997) selecionaram fenotipicamente 30 árvores de erva-mate, das quais foram retiradas estacas para seu posterior enraizamento. Conforme os autores, somente 27 das 30 árvores selecionadas forneceram estacas que emitiram raízes, sendo que o percentual de enraizamento variou de 1,1 a 60,1%, com média de 17,6%. Destas constatações os mesmos autores concluíram que o aprimoramento das técnicas de propagação vegetativa é fundamental para o êxito de programas de melhoramento genético desta espécie, embasado em estratégias clonais. Além disso, fica claro o efeito marcante do material genético sobre o enraizamento, o que foi confirmado por trabalho de Correa (1995) no qual foi detectada variabilidade genética significativa para o caráter enraizamento de estacas entre procedências e entre indivíduos dentro de progênies. Segundo o mesmo autor, a herdabilidade do caráter estudado é de baixa magnitude (inferior a 30%) em nível de indivíduo, porém alta em nível de médias de família e médias de indivíduo dentro de família, levando à conclusão de que o enraizamento pode ser melhorado tanto geneticamente, pela seleção, como ambientalmente, através da metodologia de enraizamento.

Segundo pesquisas realizadas por Tavares et al. (1992), as procedências e progênies de erva-mate variaram de 0 a 100% de enraizamento. Em trabalho realizado por Prat Krikun e Aranda (1980), de um total de 106 clones selecionados de erva-mate, 22 foram eliminados por seus baixos índices de enraizamento. Os 84 clones restantes obtiveram uma média geral de 8,3% de enraizamento entre os anos de 1975 a 1978. Segundo Prat Krikun et al. (1983), o resumo dos resultados das principais investigações efetuadas pelo INTA (Argentina) entre os anos de 1958 e 1983 demonstrou que na técnica de estaquia o enraizamento médio de clones selecionados variou de 0 a 88%, não permitindo solucionar até o momento o problema de grandes variações existentes.

Em trabalho de estaquia com erva-mate, Correa (1995) avaliou o percentual de estacas enraizadas, bem como o respectivo percentual de estacas funcionais, de quantificação valorativa, que expressaria um julgamento de possibilidade de sobrevivência da estaca ao ser transplantada para o saco plástico e formar uma muda em condições de plantio, o que foi determinado com base no número e comprimento de suas raízes, prática de uso corrente no manejo de produção de mudas de erva-mate por estaquia, segundo o mesmo autor. Obteve um percentual médio de enraizamento de 38,6% e em torno de 17% de estacas funcionais, ou seja, uma perda de 21,6%.

Uma das possíveis causas da baixa porcentagem de enraizamento de estacas de erva-mate oriundas de árvores adultas é a baixa de juvenilidade do ramo. Portanto, a utilização de técnicas que visem resgatar a juvenilidade de estacas é de fundamental importância para o sucesso da propagação vegetativa. A técnica de miniestaquia promoveu um grande avanço na propagação vegetativa de *Eucalyptus* em nível comercial, uma vez que permite a obtenção de maiores índices de enraizamento, diminuição ou completa eliminação do uso de reguladores de crescimento para enraizamento (hormônios), além de um aumento considerável na taxa de multiplicação de genótipos selecionados. Neste sentido, em erva-mate a técnica de miniestaquia precisa ser desenvolvida e adaptada.

2.11.2. Micropropagação

A micropropagação é uma técnica que oferece excelentes possibilidades para propagação de plantas, possibilitando a obtenção de grande número de indivíduos a partir de poucas matrizes, em curto espaço de tempo e em reduzida área de laboratório (Bonga & Aderkas, 1992). Pode também auxiliar em programas de melhoramento, possibilitando a antecipação em décadas dos resultados finais (Paiva & Gomes, 1995; Xavier & Comério, 1997). Entretanto, segundo Bonga & Aderkas (1992) e Xavier & Wendling (1998), o uso da micropropagação na produção comercial de mudas de espécies florestais ainda não se justificou técnica e economicamente, embora Ratnieks & Assis (1993) tenham recomendado sua utilização, neste caso, para espécies e híbridos de *Eucalyptus* de alto valor comercial e de difícil propagação por outro método. Entre as desvantagens e limitações da técnica de micropropagação podem ser citadas a alta possibilidade de contaminação (Gomes, 1985); o alto custo; a variação das condições de cultura entre e

dentro de clones; a dificuldade de encontrar o meio adequado para a espécie desejada (Gomes, 1985), entre outros.

Com o avanço das técnicas de propagação vegetativa de plantas a micropropagação torna-se cada vez mais uma poderosa ferramenta para programas de melhoramento genético, por meio de técnicas como a embriogênese somática, cultura de órgãos, fusão de protoplastos e cultura de embriões (Ratnieks & Assis, 1993).

O sucesso na propagação de material adulto de várias espécies lenhosas indica que a micropropagação pode ser usada para o rejuvenescimento de material adulto (Bonga & Aderkas, 1992; Eldridge et al., 1994; Guimarães et al., 1997; Xavier et al., 1997). Atualmente, com o advento da microestaquia, esta técnica tem merecido especial atenção, visando a formação de jardins microclonais, os quais constituem a base para o processo de microestaquia de *Eucalyptus* (Xavier et al., 1997; Titon, 2001; Wendling, 2002).

Até o momento, a maioria dos trabalhos referentes ao cultivo *in vitro* de erva-mate tem se limitado ao cultivo de embriões (Hu et al., 1978; Ferreira et al., 1991; Ferreira & Silveira, 1992) e de segmentos nodais oriundos de mudas produzidas de materiais juvenis (Sansberro et al., 1999; Kryvenki, 1997; Mroginski et al., 1997; Sansberro et al., 1997(a); Sansberro et al., 1997(b); Kraemer et al., 2002).

Rey & Mroginski (1988) avaliaram a capacidade de regeneração *in vitro* de explantes obtidos de mudas de sementes e estacas de plantas jovens e adultas de erva-mate. Evidenciaram que explantes obtidos de mudas de árvores adultas não são adequados para culturas *in vitro*, uma vez que apresentaram altas taxas de contaminação e não multiplicavam (recalcitrância *in vitro*).

Em extensa revisão sobre o assunto, Mroginski et al. (1997) concluíram que é possível micropropagar plantas de erva-mate com menos de dois anos de idade mediante o cultivo de segmentos nodais em meio constituído pelos sais minerais e vitaminas de $\frac{1}{4}$ MS, 3% de sacarose e $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido nafatalenoacético (ANA). Os explantes assim obtidos são enraizados em $\frac{1}{4}$ MS, mais 1 mg L^{-1} de ácido indolbutírico (AIB). Porém, em termos de propágulos obtidos de árvores adultas (acima de 10 anos de idade) somente

podem ser estabelecidos *in vitro* caso os explantes provenham de plantas obtidas por estaquia, as quais são mantidas em condições de estufa e sejam cultivados em ¼ MS sem o emprego de reguladores de crescimento. Mesmo assim, o percentual de enraizamento dos propágulos obtidos é baixo. No caso do estabelecimento de explantes de plantas matrizes adultas diretamente *in vitro*, as únicas respostas que se obtém, segundo os mesmos autores, são o seu escurecimento e sua contaminação com fungos e bactérias, não sendo, portanto, possível induzir sua brotação.

Em função dos resultados obtidos com a micropropagação de erva-mate até o presente momento, evidencia-se a necessidade de um aperfeiçoamento desta técnica para a clonagem massal de indivíduos adultos geneticamente superiores. Estudos visando definir o potencial da micropropagação como método de rejuvenescimento e sua influência em função de vários subcultivos *in vitro*, necessitam ser desenvolvidos visando tornar possível ou aumentar a capacidade de propagação *ex vitro* de materiais adultos selecionados de erva-mate, resultando no desenvolvimento da técnica de microestaquia (enraizamento *ex vitro*), a qual, segundo Xavier & Comério (1997) é uma maximização da micropropagação. Aliado a isto torna-se necessário o desenvolvimento de outros métodos de resgate de indivíduos adultos selecionados previamente à sua introdução *in vitro*, como a enxertia, brotações epicórmicas, brotações basais, entre outras, uma vez que existem materiais genéticos de erva-mate nos quais não se consegue obter enraizamento pela técnica de estaquia convencional.

2.11.3. Enxertia

A propagação vegetativa por enxertia tem sido o método mais utilizado pelos melhoristas florestais para a reprodução e multiplicação de fenótipos superiores, na formação de pomares de sementes e de bancos clonais (Assis, 1982).

Os trabalhos pioneiros de propagação vegetativa por enxertia em espécies florestais são atribuídos a Muzik & Cruzado (1958) e Mcindoc (1959) para seringueira; a Gurgel Filho (1967), para *Pinus elliotti*; a Gurgel (1967), para *Araucaria angustifolia* e a Burgess, (1974) citado por Assis (1982), para *Eucalyptus grandis*. Para erva-mate, têm-se poucos registros de trabalhos desenvolvidos relativos à enxertia, sendo o primeiro realizado por Niklas

(1990). Segundo o mesmo autor, com a técnica de borbulhia (enxerto de gema) não se obtiveram sucessos; entretanto, a garfagem resultou em até 80% de pegamento quando, logo após a enxertia, o garfo era coberto com saco de polietileno, o qual era mantido durante um mês. A época indicada seria o mês de agosto.

Desde 1997, Oliszeski & Neiverth (2002) vêm testando a técnica da enxertia para a multiplicação de plantas nativas de erva-mate selecionadas da região de Ivaí-RS, consideradas de boa qualidade para o produto chimarrão. Foi testado o método de enxertia por garfagem e a técnica de mergulhia e, segundo os autores, o melhor resultado foi obtido com a enxertia, em que obtiveram 80% de pegamento em condições de viveiro. O método da mergulhia obteve 50% de pegamento em árvores de cinco anos e, ainda conforme os autores, foi descartado por causa da dificuldade de efetuá-lo em erva-mate nativas adultas.

Para genótipos selecionados que apresentam limitada capacidade de propagação vegetativa por qualquer outro método a enxertia poderá vir a ser implementada para obtenção de plantios comerciais. Entretanto, para tal objetivo necessitam ser desenvolvidos estudos buscando avaliar, além dos métodos de enxertia, os efeitos da origem do material propagativo dentro da planta matriz (efeito "C" e topófitise) no crescimento e desenvolvimento das plantas formadas.

Em trabalhos de pesquisa em desenvolvimento no município de Áurea - RS, a equipe da Embrapa Florestas vem buscando avaliar a influência do local de coleta do propágulo (enxerto) dentro da planta matriz, bem como o método de enxertia mais indicado diretamente a campo no pegamento e desenvolvimento das mudas enxertadas. Segundo resultados preliminares, o fator sombreamento está sendo decisivo no pegamento dos enxertos, além da indicação inicial de que a enxertia por borbulhia não se mostrou adequada nas condições experimentais.

De maneira geral, é perceptível a falta de estudos mais aprofundados no tocante às técnicas de enxertia em erva-mate. É imprescindível o desenvolvimento de metodologias de enxertia por borbulhia (visto seu maior rendimento em termos de aproveitamento do propágulo), enxertia seriada como método de rejuvenescimento e melhoria do enraizamento de propágulos adultos, minigarfagem, entre outros, para que o grande potencial da enxertia possa ser aproveitado para a cultura da erva-mate.

3. TESTES DE CAMPO

A avaliação da produtividade e qualidade comparativa de mudas produzidas por propagação sexuada e propagação vegetativa a campo é de fundamental importância para a validação da silvicultura clonal de qualquer espécie florestal.

As mudas originadas por propagação vegetativa podem apresentar um sistema radicular mais frágil, mais superficial, com ausência de raiz pivotante. Segundo Foster (1986) citado por Frampton & Foster (1993), em estudo com *Pinus taeda*, ocorreu a formação de um melhor sistema radicular em plantas propagadas vegetativamente e, conseqüentemente, um melhor desempenho de crescimento destas até os quatro primeiros anos em relação àquelas produzidas por sementes, principalmente quando foram usados propágulos mais juvenis.

Segundo Sasse & Sands (1997), o sistema radicular das mudas propagadas vegetativamente é fundamentalmente diferente daquele obtido a partir de sementes. No entanto, pode-se promover modificações no sistema de produção das mudas, pela manipulação das técnicas silviculturais, com o intuito de melhorar a qualidade do sistema radicular, evitando danos a futura performance no campo, ou mesmo através da adoção de diferentes métodos de propagação como a microestaquia, miniestaquia e/ou micropropagação.

A melhor qualidade e a maior rapidez de formação do sistema radicular têm sido correlacionadas com juvenilidade dos propágulos (Gomes, 1987), denotada pelo aumento no vigor radicular — número e comprimento de raízes — (Schneck, 1996). Frampton & Foster (1993) relatam que, em testes de campo com *Pinus radiata*, o crescimento em altura e diâmetro de mudas oriundas por propagação vegetativa geralmente é idêntico ou superior ao daqueles de propagação sexuada quando forem usados propágulos vegetativos com menos de 8 anos de idade. Já para propágulos vegetativos com maiores idades, as taxas de crescimento já demonstram decréscimo em relação ao de mudas oriundas de propagação sexuada.

Segundo Greenwood & Hutchison (1993), uma vez que a capacidade de

enraizamento decresce com o aumento da maturação, menores taxas de crescimento em altura e diâmetro de mudas oriundas de propágulos mais maduros podem ser função de um menor vigor do sistema radicular. Para erva-mate, Sand (1989) avaliou o comprimento médio das maiores raízes de estacas oriundas de plantas de seis meses, 18 meses e 60 anos de idade em comparação com estacas de rebrotes oriundos de plantas de 60 anos. Obteve 11,5 cm, 10,6 cm, 8,4 cm e 5,8 cm, respectivamente, para os quatro tratamentos, ressaltando a importância do fator juvenildade dos propágulos no vigor do sistema radicular.

Belingheri & Prat Krikun (1994) estudaram a produtividade e sobrevivência a campo de diferentes clones e progênies, entre os anos de 1987 e 1993, e concluíram pela superioridade das progênies em relação aos clones. Segundo Resende et al. (1997), pela base teórica, espera-se rendimento superior ou pelo menos igual do material propagado vegetativamente em relação ao propagado sexuadamente. Assim sendo, pode-se atribuir como possível causa da baixa performance dos clones a campo no estudo de Belingheri & Prat Krikun (1994) a problemas fisiológicos (como por exemplo, funcionabilidade do sistema radicular das mudas formadas) associados a técnica de propagação vegetativa, o que estaria de acordo com suposições de Resende et al. (1997), além daqueles de ordem genética, o que estaria de acordo com Correa (1995).

Na *Embrapa Florestas*, em Colombo-PR, um plantio comparativo de mudas produzidas via semente, estaquia e micropropagação com idade de 15 anos demonstra similar produção e vigor dos clones em relação às progênies.

Assim, em vista da grande escassez de estudos comparativos entre mudas produzidas por via sexuada e assexuada em erva-mate, tornam-se imprescindíveis estudos buscando avaliar comparativamente a produtividade em massa verde, bem como em qualidade de produto final obtido. Ressalta-se que nestes estudos, deverá ser levado em conta a metodologia utilizada na produção das mudas, as técnicas de propagação vegetativa, a juvenildade dos propágulos utilizados, a qualidade do sistema radicular e a presença de mudas clonais e via semente das mesmas árvores no teste.

4. PERSPECTIVAS E TENDÊNCIAS

Torna-se perceptível, em curto lapso de tempo, a necessidade de materiais genéticos de erva-mate específicos em função do tipo de produto exigido pelo mercado consumidor. Espera-se chegar ao ponto em que esse imenso potencial de subprodutos específicos e diferenciados (chimarrão, tereré, chás, xaropes, refrigerantes, balas, desinfetantes, óleos essenciais, xampus, entre outros), originados da matéria-prima erva-mate, seja aproveitado. Neste momento, a clonagem de materiais com características ou componentes específicos terá um grande papel no estabelecimento de plantios para objetivos específicos, permitindo parcerias de empresas compradoras do produto com produtores desta matéria-prima, em que se visualiza grandes chances de interação com maiores benefícios para ambos os lados, bem como para a sociedade em geral.

Para que estas perspectivas se tornem realidade é mister a definição exata de quais componentes da erva-mate dão o produto de interesse na indústria farmacológica, na química, na de bebidas e na de alimentação. Pois somente assim poder-se-á definir com clareza a demanda de matéria-prima e as estratégias para sua produção.

No que tange aos métodos de clonagem em escala comercial observa-se a necessidade urgente do desenvolvimento de técnicas que possibilitem a produção de mudas com sistema radicular vigoroso e de qualidade, assim como a técnica de miniestaquia. Para isto, o rejuvenescimento de propágulos de partes adultas das plantas matrizes selecionadas é ferramenta fundamental, podendo para tanto, se lançar mão, de forma isolada ou integrada, das técnicas de enxertia seriada, micropropagação, indução de brotações em partes juvenis das plantas, estaquia e miniestaquia seriada. Além disso, o manejo adequado da planta matriz doadora de propágulos em relação à nutrição, irrigação, condições de luz, anelamento, rejuvenescimento, podas, entre outros, é fundamental para o sucesso de qualquer método de propagação vegetativa.

Aliado aos métodos de clonagem, há carência de estudos no que tange ao manejo das estacas pós enraizamento em relação à nutrição (tipos de adubos, dosagens, intensidade de aplicação, relações de nutrientes etc.), sistemas de

condução, sombreamento, vigor do sistema radicular, estudos de comparação do crescimento de mudas clonais com mudas originárias de sementes (sistema radicular, produtividade, qualidade), ambiente de propagação (umidade, volume de água, substratos, tratamentos fúngicos e hormonais), entre outros.

A clonagem comercial em nível de famílias, via material juvenil de origem seminal, é uma ferramenta potencial para obtenção de melhorias da qualidade do produto final obtido, pois, mesmo que não se tenha certeza do genótipo a ser multiplicado, tem-se estimativas de superioridade dos progenitores e uma maior uniformidade dos plantios obtidos. Além disso, a clonagem de propágulos originários de mudas produzidas por semente é importante para o estabelecimento das metodologias básicas para a futura implementação da técnica de ministaquia visando a clonagem de material adulto selecionado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-SALEM, M. M.; KARAM, N. S. Auxin, wounding and propagation medium affect rooting response of stem cuttings of *Arbutus andrachne*. **Hortscience**, v. 5, n. 36, p. 976-978, 2001.

ASSIS, T. F. Melhoramento genético do eucalipto. **Informe Agropecuário**, v. 12, n. 141, p. 36-46, 1986.

ASSIS, T. F. Enxertia de *Eucalyptus* spp. **Silvicultura**, São Paulo, v. 7, n. 23, 1982, p. 45.

ASSIS, T. F. Melhoramento genético do eucalipto. **Informe Agropecuário**, v. 18, n. 185, p. 32-51, 1996.

ASSIS, T. F.; BAUER, J. F. S.; ROSA, O. P. Efeito da redução de luz em jardins clonais sobre o enraizamento de estacas de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis*. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6., 1990, Campos do Jordão. **Anais...** São Paulo: SBS, 1990. p. 454-455.

ASSIS, T. F.; ROSA, O. P.; GONÇALVES, S. I. Propagação por microestaquia. In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 7., 1992, Nova Prata. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 1992. p. 824-836.

ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa Serviço de Produção de Informação: Embrapa Hortaliças, 1998. p. 261-296.

BELINGHERI, L. D.; PRAT KRIKUN, S. D. **Evaluacion de los rendimientos de clones y progenies de yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. Cerro Azul: INTA, Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul, 1994. 17 p.

BLAZICH, F. A. Mineral nutrition and adventitious rooting. In: DAVIES, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1987. p. 61-69. (Advances in Plant Sciences Series, 2).

BONGA, J. M.; ADERKAS, P. von. **In vitro culture of trees**. Netherlands: Kluwer Academic Publ., 1992. 236 p.

BORBA, A. M.; CORRÊA, R. M. Controle ambiental para enraizamento de estacas em clima subtropical. **Silvicultura**, v. 8, n. 32, p. 760-761, 1983.

CAMPINHOS JUNIOR, E.; IKEMORI, Y. K. Mass production of *Eucalyptus* spp. by rooting cuttings. In: IUFRO SYMPOSIUM AND WORKSHOP ON GENETIC IMPROVEMENT AND PRODUCTIVITY OF FAST-GROWING TREE SPECIES, 1980, Águas de São Pedro. **Anais...** [S.l.]: IUFRO, [198-]. p. 2-17.

CHALFUN, N. N. J. **Fatores bioquímicos e fisiológicos no enraizamento de estacas de *Hibiscus rosa-sinensis* L.** 1989. 85 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

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

ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARDWIID, C.; WYK, G. van. **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford: Clarendon Press, 1994. p. 228-246.

FACHINELLO, J. C. **Efeitos morfo-fisiológicos do anelamento no enraizamento de estacas lenhosas de macieira cultivar malling-merton 106**. 1986. 93 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - ESALQ, Piracicaba.

FERREIRA, A. G.; CUNHA, G. G.; SILVEIRA, T. S.; HU, C. Y. In vitro germination of immature embryos of *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Phyton**, Buenos Aires, v. 52, n. 1, p. 27-32, 1991.

FERREIRA, A. G.; SILVEIRA, T. S. Crescimento in vitro de embriões de 4 espécies de *Ilex*. In: REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 1., 1992, Porto Alegre. **Programa e resumos**. Porto Alegre: FAPERGS: Secretaria de Ciência e Tecnologia, 1992. p. 2.

FERREIRA, F. A. Enfermidades do eucalipto no Brasil. **Informe Agropecuário**, v. 18, n. 186. p. 5-19, 1997.

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

FRAMPTON, L. J.; FOSTER, G. S. Field testing vegetative propagules. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J. **Clonal forestry I: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 110-134.

FRANCLET, A.; BOULAY, M.; BEKKAOUI, F.; FOURET, Y.; VERSCHOORE-MARTOUZET, B.; WALKER, N. Rejuvenation. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. (Ed.). **Cell and tissue culture in forestry**. Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1987. v. 1, p. 232-248.

GOMES, A. L. **Propagação clonal: princípios e particularidades**. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 1987. 69 p. (Série Didáctica, Ciências Aplicadas, 1).

GOMES, G. M. **Cultura de tecidos e suas potencialidades para a eucaliptocultura**. 1985. 16 f. Monografia (Bacharelado) – UFV, Viçosa.

GONÇALVES, A. N. **Reversão à juvenildade e clonagem de *Eucalyptus urophylla*. S. T. in vitro**. 1982. 97 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - ESALQ, Piracicaba.

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

GREENWOOD, M. S.; HUTCHISON, K. W. Maturation as a developmental process. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J. **Clonal forestry I: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 14-33.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; RODIGHERI, H. R.; MOSELE, S. H.; WIELEWSKI, P. **Estimativa de danos causados por doenças em viveiros de erva-mate, nos estados do Paraná e Rio Grande do Sul**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. 3 p. (EMBRAPA-CNPQ. Comunicado Técnico, 21).

GUIMARÃES, M. P.; CORREIA, F.; COUCEL, F. Integração de um laboratório de micropropagação de *Eucalyptus globulus* no viveiro de uma empresa do sector papelero português. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings... = Anais...** Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. v. 4, p. 79.

GURGEL, J. T. A. Métodos de enxertia para o pinheiro brasileiro, *Araucaria angustifolia*, visando-se à formação de pomares de sementes. **Silvicultura em São Paulo**, v. 6, 1967, p. 153-155.

GURGEL FILHO, O. do A. Propagação vegetativa do *Pinus elliotti* eng. var. *elliottii*. **Silvicultura em São Paulo**, v. 6, p. 127-139, 1967.

HACKETT, W. P. Donor plant maturation and adventitious root formation. In: DAVIES, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. (Ed.) **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1987. p. 11-28. (Advances in Plant Sciences Series, 2).

HACKETT, W. P.; MURRAY, J. R. Maturation and rejuvenation in woody species. In: AHUJA, M. R. **Micropropagation of woody plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1993. p. 93-105.

HANSEN, J. Stock plant lighting and adventitious root formation. **HortScience**, v. 22, n. 5, p. 746-749. 1987.

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

- HIGA, R. C. V. Estaquia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): resultados preliminares. **Silvicultura em São Paulo**, v. 8, n. 28, p. 304-305, 1983. Edição dos Anais do 4º Congresso Florestal Brasileiro, 4., 1982, Belo Horizonte.
- HU, C. Y.; OCHS, J. D.; MANCINI, F. M. Further observations on *Ilex* embryoid production. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, v. 89, p. 41-49, 1978.
- HUANG, L. C.; DOR, S. C.; MURASHIGE, T.; VAN GUNDY, R.; EL FATIH M.; NAGAI, K.; PLIEGO-ALFARRO, F. Rejuvenation of trees and other perennials for restoration of plant regeneration competence. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos em plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ: ABCTP, 1990. p. 252-264.
- IRITANI, C. **Ação de reguladores de crescimento na propagação vegetativa por estaquia de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire e *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze**. 1981. 163 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - UFPR, Curitiba.
- IRITANI, C.; SOARES, R. V. Ação de reguladores de crescimento em estacas de *Ilex paraguariensis* St. Hilaire. **Floresta**, v. 2, n. 12, p. 59-67, 1981.
- KAMLESH, K.; SWAMY, S. L.; SEHGAL, R. N.; KHOSLA, P. K. Effect of auxins and carbendazim on rooting of juvenile and mature stem cuttings of *Grewia optiva*. **Indian Journal of Forestry**, v. 18, n. 1, p. 61-65, 1995.
- KAO, Y. P.; HUANG, S. G. Cuttings propagation of *Cinnamomum kanehirae*. **Bulletin of the Taiwan Forestry Research Institute**, v. 53, n. 8, p. 371-388, 1993.
- KIM, Y. M.; KWON, H. M.; MIN, Y. Y. Grafting propagation for promoting juvenility in *Quercus* species. **Research Report of the Forest Genetics Research Institute**, n. 29, p. 113-120, 1993.
- KRAEMER, K. H.; SCHENKEL, E. P.; VERPOORTE, R. *Ilex paraguariensis* cell suspension culture characterization and response against ethanol. **Plant Cell and Organ Culture**, n. 68, p. 257-263, 2002.

KRYVENKI, M. A. **Micropropagación de la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**: efecto de la bencilaminopurina y la kinetina sobre el cultivo *in vitro* de segmentos nodales. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. **Anais**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. p. 424. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 33).

LOPES, L. C.; BARBOSA, J. G. **Propagação de plantas ornamentais**. Viçosa: UFV, 1988. 30 p. (Boletim, 267).

MALAVASI, U. C. Macropropagação vegetativa de coníferas: perspectivas biológicas e operacionais. **Floresta e Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 131-35, 1994.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MCINDOC, K. G. The development of clonal rootstocks in *Hevea*. **Journal Rubber Research Institute of Ceylon**, v. 3/4, n. 34, p. 39-57, 1959.

MEDEIROS, A. C. de S. **Dormência de sementes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1998. 25 p. (Embrapa-CNPQ. Documentos, 36).

MEDRADO, M. J. S. **Fatores relacionados ao processo de propagação da seringueira (*Hevea* spp), em Piracicaba, SP**. 1992. 178 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - ESALQ, Piracicaba.

MENGUEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. Switzerland: International Potash Institute, 1982. 654 p.

MENNA, A. B. Proposta para ação extensionista na cultura da erva-mate. In: WINGE, H.; FERREIRA, A. G.; MARIATH, J. E., de A.; TARASCONI, L. C. (Org.). **Erva-mate: biologia e cultura no cone sul**. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 1995. p. 235-239.

MENZIES, M. I. Management of stock plants for the production of cutting material. In: SYMPOSIUM MASS PRODUCTION TECHNOLOGY FOR GENETICALLY IMPROVED FAST GROWING FOREST TREE SPECIES, 1992, Bordeaux. **Syntheses...** Bordeaux: AFOCEL: IUFRO, 1992. p. 145-158. (Colloque AFOCEL-IUFRO).

MOE, R. M.; ANDERSEN, A. S. Stock plant environmental and subsequent adventitious rooting. In: DAVIES, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1987. p. 214-234. (Advances in Plant Sciences Series, 2).

MROGINSKI, L.; SANSBERRO, P.; REY, H.; COLLAVINO, M. Micropropagacion de la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): estado actual y perspectivas. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. **Anais**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. p. 141-151. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 33).

MUZIK, T. J.; CRUZADO, H. J. Transmission of juvenile rooting ability from seedlings to adults of *Hevea brasiliensis*. **Nature**, n. 181, p. 1288, 1958.

NIKLAS, C. O. Empleo de sustancias promotoras de enraizamiento en estacas de yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Citrusmisiones**, n. 18, p. 12-19, 1988.

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

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

ONO, E. O.; RODRIGUES, S. D.; RODRIGUES, J. D. Interações entre auxinas e boro no enraizamento de estacas de hortências (*Hydrangea macrophylla* Ser.) **Científica**, v. 20, n. 2, p. 413-422, 1992.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M.; COUTO, L.; SILVA, A. R. Propagação vegetativa de eucalipto por estaquia. **Informe Agropecuário**, v. 18, n. 185. p. 23-27, 1996.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: UFV, 1995. 40 p. (UFV. Boletim, 322).

PICHETH, J. A. T. F. Efeito de soluções alcoólicas do ácido indol-3-butírico no enraizamento de estacas adultas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Floresta**, v. 27, n. 1/2, p. 137-138, 1997.

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

PRAT KRIKUN, S. D. **Yerba mate**: técnicas actualizadas de cultivo. Cerro Azul: INTA, Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul, 1993. 14 p. (INTA. Publicación Miscelánea, 27).

PRAT KRIKUN, S. D.; ARANDA, D. **Plan de trabajo**: selección clonal de la yerba mate: progressos y resultados año 1979. [S.l.: s.n.], 1980. 2 p.

PRAT KRIKUN, S. D.; BELINGHERI, L. D.; PICCOLO, G. A.; FLORES, S. E. R.; FONTANA, H. P. **Yerba mate**: informe sobre investigaciones realizadas, período 1984-85. Cerro Azul: INTA, Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul, 1986. 32 p. (INTA. Publicación Miscelánea, 15).

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

RANA, H. S.; CHADHA, T. R. Studies on the clonal propagation of *Prunus* species and their relationship with some biochemical characters. **Progressive Horticulture**, v. 21, n. 3-4, p. 329-335, 1989.

RATNIEKS, E.; ASSIS, T. F. O que há adiante da árvore? **O papel**, v. 54, n. 1, p. 41-48, 1993.

RESENDE, M. D. V. de; STURION, J. A.; SIMEÃO, R. M. Estratégias para o melhoramento genético da erva-mate. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. **Anais**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. p. 243-266. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 33).

REY, H. Y.; MROGINSKI, L. A. Regeneración de plantas de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) por cultivo in vitro de ápices caulinares y de segmentos nodales. **Phyton**, v. 48, n. 1/2, p. 139-145, 1988.

RIBEIRO, F. de A.; COUTO, L.; GOMES, J. M.; BORJES, R. de C. G. Influência de anelagem e reguladores de crescimento na indução de brotação de cepas de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 16, n. 3, p. 473-485, 1994.

SAND, H. A. **Propagación agamica de la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. Cerro Azul: INTA. Estación Experimental Agropecuaria Misiones, 1989. 11 p. (INTA. Nota tecnica, 40).

SANSBERRO, P. A.; REY, H. Y.; MROGINSKI, L. A.; COLLAVINO, M. M. Obtención de plantas mediante el cultivo in vitro de embriones de yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In. CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. **Anais**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997a. p. 422. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 33).

SANSBERRO, P. A.; REY, H. Y.; MROGINSKI, L. A.; COLLAVINO, M. M. Regeneración de plantas de yerba mate por cultivo in vitro de segmentos uninodales de plantas juvenes. In. CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. **Anais**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997b. p. 423. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 33).

SANSBERRO, P.; REY, H. Y.; MROGINSKI, L.; COLLAVINO, M. In vitro plant regeneration of *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). **In vitro Cellular & Developmental Biology**, n. 35, n. 5, p. 401-402, Sept./Oct. 1999.

SANTOS, A. M. **Estudos de propagação de seringueira (*Hevea* spp)**. 1986. 47 f. Dissertação (Mestrado em.Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SASSE, J.; SANDS, R. Configuration and development of root systems of cuttings and seeding of *Eucalyptus globulus*. **New Forests**, n. 14, p. 85-105, 1997.

SCHNECK, V. Untersuchungen zur klonabhängigkeit dea bewurzelungsfähigkeit und der qualität er wurzelbildung bei der stecklingsvermehrung von 40 - bis 350 jährigen auslesebäumen der Eibe (*Taxus baccata*). **Silvae Genetica**, v. 45, n. 5-6, p. 246-249, 1996.

SILVA, A. R. **Enraizamento de estacas de *Eucalyptus grandis* via sistema hidropônico**. 1998. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ST. CLAIR, J. B.; KLEINSCHMIT, J.; SVOLBA, J. Juvenility and serial vegetative propagation in Norway spruce clones (*Picea abies*). **Silvae Genetica**, v. 34, n. 1, p. 42-48, 1985.

STURION, J. A. **Produção de mudas e implantação de povoamentos com erva-mate**. Curitiba, EMBRAPA-CNPQ, 1988. 10 p. (Circular Técnica, 17).

STURION, J. A.; RESENDE, M. D. Programa de melhoramento genético da erva-mate no Centro Nacional de Pesquisa de Florestas da Embrapa. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. **Anais**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. p. 285-297. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 33).

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

THOMPSON, D. G. Current state-of-the-art of rooting cuttings and a view to the future. In: SYMPOSIUM MASS PRODUCTION TECHNOLOGY FOR GENETICALLY IMPROVED FAST GROWING FOREST TREE SPECIES, 1992, Bordeaux. **Syntheses...** Bordeaux: AFOCEL: IUFRO, 1992. p. 159-172. (Colloque AFOCEL-IUFRO).

TITON, M. **Propagação clonal de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia e microestaquia**. 2001. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

WENDLING, I. **Rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus grandis* pela técnica de miniestaquia e micropropagação seriada**. 2002. 98 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

WILSON, P. J. Contributions of the leaves and axillary shoots to rooting in *Eucalyptus grandis* Hil a Maid. Stem cuttings. **Journal of Horticultural Science**, v. 69, n. 6, p. 999-1007, 1994.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Enraizamento "ex vitro" de gemas de *Eucalyptus* spp. multiplicadas e alongadas "in vitro". **Scientia Forestales**, n. 51, p. 29-36, 1997.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J.; IANNELLI, C. M. Eficiência da microestaquia e da micropropagação na clonagem de *Eucalyptus* spp. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings... = Anais...** Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. v. 4, p. 40-45.

XAVIER, A.; WENDLING, I. **Miniestaquia na clonagem de *Eucalyptus***. Viçosa: SIF, 1998. 10 p. (Informativo Técnico SIF, 11).

ZOBEL, B.; TALBERT, J. **Applied forest tree improvement**. New York: North Carolina State University, 1984. 505 p.