

Capítulo I

Produção de mudas de erva-mate

*Ivar Wendling
Gilvano Ebling Brondani*

1. Introdução

A formação de plantios de erva-mate depende, dentre outros fatores, da utilização de mudas com qualidade genética e fisiológica, o que proporcionará maiores índices de sobrevivência no plantio e resistência a estresses ambientais, resultando em ganhos em produtividade e em qualidade da matéria-prima.

A produção de mudas de erva-mate é comumente realizada por sementes, devido à maior facilidade de produção, ao maior domínio da tecnologia pelos produtores, à necessidade de estruturas mais baratas e ao menor custo de produção em relação à propagação vegetativa. Contudo, a ocorrência de plantas que produzem poucas ou não produzem sementes, a produção de mudas com características diferentes da planta matriz, além de uma série de dificuldades para a quebra de dormência e para a germinação e do longo período de produção das mudas têm constituído desvantagens à produção via sexuada.

Buscando superar as limitações da produção sexuada, estudos de propagação vegetativa da erva-mate por estaquia foram iniciados na década de 1930 e a maior dificuldade constatada relaciona-se ao enraizamento, inviabilizando o processo em escala comercial. Por sua vez, a técnica de miniestaquia, desenvolvida a partir de 2000, promoveu grande avanço na propagação vegetativa, pois maiores índices de enraizamento foram obtidos, com consequente diminuição

ou mesmo eliminação do uso de reguladores de crescimento para enraizamento (hormônios), além de um aumento considerável na taxa de multiplicação de genótipos selecionados.

As técnicas de produção de mudas a serem adotadas devem atender às necessidades de cada produtor, em termos de disponibilidade e localização da área do viveiro, da quantidade de mudas a serem produzidas, do grau de tecnologia e dos recursos financeiros disponíveis. Independentemente do método utilizado para produção das mudas de erva-mate, existem uma série de fatores e etapas que determinam o seu sucesso. Em vista da sua importância, o presente capítulo visa descrever os principais estudos desenvolvidos disponíveis na literatura, relacionados à produção de mudas de erva-mate. Além disso, sintetiza os resultados obtidos e em desenvolvimento durante os 10 anos de pesquisa dos autores com a espécie, objetivando dar detalhes sobre as tecnologias desenvolvidas para viveiristas, estudantes e pesquisadores do tema.

2. Produção de mudas de erva-mate por sementes

A propagação sexuada tem como base a utilização de sementes para a produção de mudas, permitindo que determinadas características genéticas da planta-mãe sejam herdadas para a próxima geração. Contudo, deve-se levar em consideração a presença de variabilidade genética entre as mudas produzidas por esse método (ocorrência de meiose durante as divisões celulares), o que pode conferir maior amplitude adaptativa a determinados genótipos da nova geração, porém menor qualidade e uniformidade das mudas produzidas (XAVIER et al., 2013).

A produção de mudas de erva-mate é comumente realizada por sementes (CARVALHO, 2003; WENDLING, 2004), devido às vantagens associadas a este tipo de multiplicação, tais como facilidade de produção, maior domínio da tecnologia pelos produtores, necessidade

de estruturas mais baratas em relação à propagação vegetativa, não ser necessária a aplicação de reguladores de crescimento, além de envolver menor custo de produção. Quanto às desvantagens, destacam-se: baixa qualidade genética e fisiológica das sementes (CUQUEL et al., 1994; STURION, 1988); dormência das sementes e longo tempo destinado à sua estratificação (de quatro a seis meses); germinação demorada, desuniforme (de 100 a 360 dias) e com baixo percentual (em geral, inferior a 20%) (CUQUEL et al., 1994; MENNA, 1995; PRAT KRIKUN, 1993; STURION, 1988); longo período de produção das mudas (GRIGOLETTI JÚNIOR et al., 1997; STURION, 1988), necessidade de repicagem das mudas (WENDLING, 2004), necessidade de produção em épocas específicas no ano, ocorrência de plantas que produzem poucas sementes ou não produzem, além de se promover a produção de mudas com características genéticas e fenotípicas diferentes da planta matriz.

Em termos de qualidade das sementes de erva-mate, devem-se priorizar as características fenotípicas da planta matriz, além de sua qualidade fitossanitária, e demais características de interesse (COSTA et al., 2009; STURION et al., 1999). Diversos autores ressaltam 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 (COSTA et al., 2009; RESENDE et al., 1995; 2000; STURION et al., 1999; ZANON, 1988), os quais estão relacionados com o interesse comercial do produto final, que é a folha.

2.1. Produção e coleta das sementes

O sucesso da colheita de sementes depende não apenas da técnica a ser adotada, mas também de uma série de fatores imprescindíveis ao bom desempenho, como conhecimento dos aspectos fenológicos da espécie de interesse. A erva-mate é uma espécie dióica, que apresenta flores díclinas com um dos sexos abortivo, gerando indivíduos com flores pistiladas (estaminódios) e outros com flores

estaminadas (pistilódios) (CARVALHO, 2003; CATAPAN, 1998). A reprodução sexual inicia-se normalmente aos cinco anos de idade, com a ocorrência de fecundação cruzada, sendo que a polinização é predominantemente entomófila. O florescimento ocorre durante os meses de setembro a dezembro na região de ocorrência natural (CARVALHO, 2003; LIEBSCH; MIKICH, 2009).

A permanência da semente na árvore após a maturidade corresponde a um armazenamento no campo, submetendo-a às variações climáticas, o que pode afetar sua qualidade. A colheita das sementes deve ser realizada somente quando estas atingirem o ponto de maturação fisiológica (um pouco antes de sua queda natural), que coincide com o máximo poder germinativo e vigor, ficando praticamente desligadas da planta-mãe (LIEBSCH; MIKICH, 2009). Recomenda-se coletar os frutos maduros de erva-mate com coloração violeta e separá-los das sementes, três dias após a coleta, por ruptura mecânica sob água corrente com o uso de peneira (MEDRADO et al., 2000; MEDRADO; MOSELE, 2004; ZANON, 1988). Naturalmente, as sementes desprendem-se da planta-mãe antes de estarem morfologicamente maduras, ocorrendo o término da maturação do embrião após a dispersão das mesmas, a qual é realizada principalmente por pássaros (ornitocoria).

A maturação dos frutos geralmente ocorre nos meses de janeiro a abril (CARVALHO, 2003; LIEBSCH; MIKICH, 2009), sendo que a coleta pode ser realizada no chão ou diretamente nas árvores selecionadas (ZANON, 1988).

2.2. Beneficiamento e armazenamento das sementes

O beneficiamento das sementes de erva-mate deve ser realizado após a coleta, priorizando os frutos de coloração violeta-escuro e desprezando os que apresentam coloração verde (ZANON, 1988). No caso do beneficiamento imediato após a colheita (no mesmo dia ou no dia seguinte), os frutos selecionados são, inicialmente, separados das sementes por meio da maceração em peneiras. Em seguida, faz-se a imersão, em recipiente, da massa constituída de sementes e restos de polpa; com água corrente, executa-se a lavagem até que as sementes apresentem um mínimo de impurezas. As sementes sobrenadantes devem ser eliminadas. Frutos colhidos há mais de três dias iniciam o processo de fermentação e secagem, sendo necessária a imersão em água por 24 h para facilitar as operações de extração das sementes. Imediatamente após o beneficiamento, deve ser preparada a estratificação ou mesmo a semeadura direta das sementes (ZANON, 1988). Segundo Backes e Irgang (2002), as sementes de erva-mate podem ser armazenadas por um período superior a um ano.

2.3. Dormência e sua quebra em sementes

As sementes da erva-mate apresentam dormência em virtude do embrião se encontrar morfológicamente imaturo (dormência embrionária), requerendo período de estratificação para que ocorra o seu desenvolvimento e germinação (CATAPAN, 1998; CUQUEL et al., 1994; FOWLER; STURION, 2000), além de apresentarem endocarpo lenhoso (MEDEIROS, 1998), ou seja, dormência tegumentar (FOWLER; STURION, 2000). Tal fato constitui-se no principal problema para a avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes e, conseqüentemente, da produção de mudas de erva-mate via sexuada (WENDLING, 2004). Geralmente, apenas 0,9% a 10% das sementes dessa espécie apresentam embrião maduro após

a coleta na planta matriz (CUQUEL et al., 1994; FOWLER; STURION, 2000), sendo necessária a realização de quebra de dormência a partir de procedimentos específicos, como o processo de estratificação.

No caso de se utilizar sementes de erva-mate que foram armazenadas, recomenda-se colocá-las de molho em água à temperatura ambiente por três dias, com a finalidade de promover a embebição do tegumento e facilitar o processo de estratificação (FOWLER; STURION, 2000). O processo de estratificação tem a função de evitar o dessecamento do tegumento das sementes e, ao mesmo tempo, promover a redução da tensão de oxigênio e aumentar a tensão de CO₂ no meio, proporcionando condições para a maturação ou para a superação de bloqueios mecânicos (como o tegumento muito duro) que impedem o embrião de completar a sua maturação fisiológica (CATAPAN, 1998; CUQUEL et al., 1994).

A técnica de estratificação de sementes de erva-mate consiste em alternar camadas de sementes imaturas com areia úmida por períodos de cinco a seis meses (CUQUEL et al., 1994; FOWLER et al., 2007; FOWLER; STURION, 2000; MEDEIROS, 1998; MEDRADO et al., 2000; MEDRADO; MOSELE, 2004). Este método consiste na distribuição de uma camada de sementes de até 2 cm, entre duas camadas de areia, com 8 cm a 10 cm cada uma, no recipiente de estratificação, que pode ser uma caixa de madeira ou uma lata com o fundo perfurado (ZANON, 1988). Cuquel et al. (1994) concluíram que dentre os métodos de estratificação, os que envolveram alternância de luz e temperatura e adição de nitrato de potássio foram os mais indicados para reduzir o período de dormência de sementes de erva-mate, sendo que outros substratos, como o composto de argila, solo orgânico e vermiculita também podem ser utilizados para a estratificação das sementes. Fowler e Sturion (2000) recomendaram como substrato para a estratificação das sementes um composto de argila, solo orgânico, esterco e areia, na proporção de 3:1:1:1.

2.4. Semeadura e germinação

Sturion (1988) recomenda sombreamento entre 50% a 70% (sombrite) da sementeira para a semeadura e germinação das sementes, com controle da umidade do substrato. Contudo, outros fatores podem interferir na emergência das plântulas após a semeadura. Catapan (1998) verificou que a temperatura alternada influenciou a germinação de sementes de erva-mate, sendo que a temperatura compreendida entre 20 °C a 30 °C foi a que apresentou os maiores percentuais de germinação.

O início da emergência das plântulas após a semeadura (sementes já estratificadas) geralmente ocorre entre 30 e 42 dias (CATAPAN, 1998), sendo que os maiores índices de germinação encontram-se ao redor dos 60 dias (CUQUEL et al., 1994) e estendem-se até os 120 dias (STURION, 1988). Porém, o tempo de germinação das sementes pode variar de acordo com a época de coleta, tempo de estratificação, temperatura, luminosidade, umidade e substrato utilizado para a germinação (CATAPAN, 1998; CUQUEL et al., 1994). Dessa forma, devem-se adequar as condições da sementeira para que essas estejam mais próximas das recomendadas, visando obter maiores índices de germinação em menor tempo.

2.5. Repicagem das mudas

A repicagem das mudas de erva-mate para os recipientes definitivos pode ser realizada quando essas atingirem altura entre 3 cm a 5 cm (STURION, 1988). As mudas são arrancadas individualmente e seguradas pelo colo, sendo selecionadas pelo vigor da parte aérea e do sistema radicular e colocadas em recipientes com água, à sombra, até serem repicadas (STURION, 1988). Medrado e Mosele (2004) salientam que a prática da repicagem tem prejudicado a qualidade das mudas de erva-mate, uma vez que muitas vezes não é executada de forma adequada, o que pode acarretar em aumento da mortalidade das mesmas. Os mesmos autores destacam a importância do

desenvolvimento de um protocolo de produção de mudas sem a etapa de repicagem, o que poderá reduzir significativamente as perdas no viveiro. Além disso, cabe destacar que a repicagem, quando mal feita, pode resultar em problemas com o sistema radicular das mudas formadas, uma vez que ocorre seu enovelamento.

2.6. Substratos e recipientes

O substrato para a produção de mudas deve apresentar boa textura e estrutura, a fim de permitir perfeita drenagem, arejamento e retenção de água para o adequado desenvolvimento radicular das mudas (KRATZ; WENDLING, 2013; STURION, 1988). Diversos substratos podem ser utilizados para a produção de mudas de erva-mate via sementes. A terra retirada das matas nativas não é recomendada, devido aos problemas ambientais que essa prática pode acarretar. Dessa forma, recomenda-se o uso de substratos comerciais florestais e demais formas de substratos alternativos, como misturas de compostos biodegradáveis e renováveis. Segundo Sturion (1988) e Lourenço et al. (2000), podem ser utilizadas misturas de esterco suíno, bovino e aviário com outros compostos orgânicos e/ou inorgânicos, visando aumentar a disponibilização de nutrientes para as mudas.

Wendling et al. (2007a) avaliaram diversos substratos em relação às características físicas e químicas para a produção de mudas de erva-mate em tubetes, testando substratos comerciais à base de casca de pinus, esterco bovino curtido de gado confinado, serragem semidecomposta, palito de erva-mate picado e peneirado de 1 mm a 3 mm, terra de subsolo e húmus de minhoca em diversas proporções e misturas. Os autores concluíram que os substratos contendo esterco bovino, serragem e palito de erva-mate se mostraram adequados para a produção de mudas de erva-mate, sendo que aquele formado por 40% de esterco bovino e 60% de serragem destacou-se, em vista da boa relação custo-benefício apresentada e da sua facilidade de preparo, embora necessite de ajustes na nutrição para maiores crescimentos.

Estudando diferentes substratos para o crescimento de mudas de erva-mate propagadas por sementes, Lourenço et al. (2000) verificaram que os formados pela mistura de esterco bovino favoreceram ao acúmulo de matéria seca da parte aérea e de raízes. Dentre os substratos avaliados, o formado pela mistura de terra de mata com esterco bovino (2:1) e terra de subsolo com esterco bovino (2:1) mostraram-se os mais adequados para o crescimento das mudas de erva-mate.

Uma série de outros materiais renováveis têm sido avaliados e recomendados para a produção de mudas de espécies florestais e deveriam ser avaliados para a erva-mate, tais como: fibra de coco, casca de arroz carbonizada, composto orgânico, entre outros. A melhor formulação de substrato será variável em função da disponibilidade de materiais passíveis de uso para composição dos mesmos, seu custo de produção e qualidade das mudas produzidas.

Os recipientes utilizados para produção de mudas de erva-mate podem variar em tamanho, formato e tipo de material constituinte. Historicamente, os sacos plásticos sempre foram os mais utilizados em vista, principalmente, de seu baixo custo, facilidade de produção das mudas, bem como, a possibilidade de uso em estruturas mais simples. No entanto, seu uso vem diminuindo gradualmente, devido à grande quantidade de substrato necessário ao seu enchimento, maior peso da muda pronta, menor produção de mudas por área de viveiro, maior necessidade de mão-de-obra, dificuldades de transporte, além de gerar resíduos no ato do plantio devido ao seu descarte. Em vista disso, cada vez mais tem-se avaliado e indicado os tubetes plásticos, com volume entre 75 cm³ e 110 cm³, acondicionados em bandejas próprias.

Os tubetes apresentam como vantagens o uso racional da área do viveiro, permitindo o acondicionamento de um maior número de mudas, automatização do sistema de produção, desde o seu enchimento até a semeadura e expedição das bandejas para a área de germinação.

Também podem ser reutilizados por vários anos, dependendo da qualidade do plástico utilizado na sua confecção e do armazenamento adequado. Uma limitação ao uso de tubetes, principalmente os de volumes menores, relaciona-se ao menor tempo que as mudas podem permanecer no viveiro, em vista do menor volume de substrato, o que pode ser resolvido com um cronograma mais refinado de produção e plantio em campo. Vale ressaltar que, quanto menor o volume do tubete ou de qualquer outro tipo de recipiente, mais sensíveis à falta de água as mudas serão no local de plantio definitivo.

Sistemas conjugados substrato/recipiente (blocos prensados, sacos biodegradáveis) são aqueles que funcionam como recipiente e substrato ao mesmo tempo. Esses são constituídos de materiais orgânicos (turfas ou outros) prensados, os quais, depois de umedecidos, se expandem. Quando a muda estiver no ponto de plantio definitivo, esta é levada ao campo onde é plantada com o material, não havendo necessidade de ser retirada da embalagem. Os sistemas conjugados reduzem o gasto com mão-de-obra, uma vez que não há necessidade de preparação do substrato, do enchimento das embalagens e da retirada da embalagem na hora do plantio. Além disso, segundo estudos realizados em eucalipto, as mudas produzidas nestes tipos de recipientes podem apresentar melhor desempenho de crescimento em campo, com menor deformação das raízes quando comparadas com mudas produzidas em tubetes plásticos (LELES et al., 2001). Para erva-mate, o sistema conjugado que vem sendo avaliado é o individualizado, envolto por tecido não tramado (TNT) (Figura 1), o qual permite que as raízes atravessem a parede do mesmo. No entanto, os primeiros resultados em campo indicam que o TNT apresenta dificuldades de decomposição, causando problemas nas plantas (Figura 1), demonstrando a necessidade de mais pesquisas para que este sistema seja eficiente em escala comercial.



Figura 1. Sistema conjugado substrato/recipiente: muda de erva-mate pronta para plantio definitivo com raízes atravessando o tecido não tramado (TNT) (à esquerda) e muda de erva-mate três anos após o plantio em campo, mostrando a não decomposição do TNT (à direita).

2.7. Adubação das mudas

A adubação das mudas em estágio inicial de desenvolvimento é muito importante e reflete diretamente na sua qualidade final, considerando o estado fisiológico da muda previamente ao plantio no campo. Em revisão realizada por Medrado et al. (2000) para a fertilização de mudas de erva-mate em viveiro, foi indicada a aplicação de 2 g de ureia por 100 litros de água, em aplicação a cada 20 dias, por meio de regadores, até a capacidade de campo. Em estudo realizado por Sturion (1988) foi observado melhor crescimento de mudas de erva-mate em terra de subsolo quando receberam adubação composta por 4 g de superfosfato triplo, NPK (6-15-6) ou NPK (14-10-5). Contudo, as mudas apresentaram coloração diferenciada quando adubadas com superfostato triplo, com uma coloração verde muito clara. As mudas adubadas com NPK (6-15-6) também apresentaram esses sintomas, embora em menor grau de expressão visual. As mudas

adubadas com NPK (14-10-5) apresentaram uma coloração verde-escura, característica da espécie. Doses desse adubo, iguais ou superiores a 4,0 g por recipiente tiveram influência negativa na sobrevivência.

Medrado et al. (2000) afirmam que viveiros de produção de mudas de erva-mate nos Estados do Paraná e Santa Catarina têm apresentado bons resultados com o uso de adubos formulados NPK, na dose de 3 kg de 4-14-8 ou de 4-30-10 ou 2 kg de 10-20-10 por m³ de terra de subsolo. Em estudo relacionado à exigência nutricional de N, P e K, Santin et al. (2008a) verificaram resposta positiva na produção de mudas de erva-mate ao P, apresentando o melhor crescimento na dose de 447,5 mg kg⁻¹ de P. Além disso, os autores verificaram que doses de N e K superiores a 100 mg kg⁻¹ de substrato, mostraram-se inviáveis para produção de mudas de erva-mate, demonstrando a sensibilidade dessa cultura a doses elevadas de N e K na fase de crescimento inicial das mudas. Baseado nesses resultados, Santin et al. (2013) estudaram a influência da adubação fosfatada quando combinada ao N e K em Latossolo Vermelho distrófico, constatando que o crescimento de mudas de erva-mate sob essas condições foi afetado pela interação entre os nutrientes P, N e K. Além disso, foi demonstrado que o P em concentrações variando de 18,5 mg dm⁻³ a 28,6 mg dm⁻³ resultou no melhor crescimento das mudas.

Na produção de mudas de erva-mate em tubetes, a adubação é muito variável em função do tipo de substrato utilizado, tipo de manejo do viveiro e sistema de produção, havendo uma limitação em relação a trabalhos técnico-científicos que avaliem as melhores adubações. Como recomendação prática geral, para cada m³ de substrato sem adubação de base (substrato formulado no viveiro), pode-se aplicar 4.000 g de super fosfato simples, 800 g de sulfato de amônia, 200 g de cloreto de potássio e 1.000 g de FTE BR 10 ou BR 12 (produto comercial que contém micronutrientes).

Para adubação de cobertura, recomenda-se aplicar, em cada fase de crescimento (plântula até a rustificação das mudas), solução nutritiva, com variação na composição e doses conforme a fase (Tabela 1).

Tabela 1. Recomendação de fontes de nutrientes e dose de solução nutritiva a ser aplicada em cada fase de crescimento de mudas de erva-mate.

Fonte	Dose (g L ⁻¹)
Fase de berçário¹	
Super fosfato simples	2,30
Sulfato de amônio	0,15
Cloreto de potássio ou nitrato de K	1,60
FTE BR 10 (ou BR 12)	0,25
Fase de crescimento²	
Ureia	4,00
Super fosfato simples	3,00
FTE BR 10	0,25
Cloreto potássio ou nitrato de K	3,00
Fase de rustificação³ (pleno sol)	
Sulfato de amônio	4,00
Super fosfato simples	10,00
Cloreto de potássio	4,00
FTE BR10	1,00

Aplicar: ¹6 L para cada 1.000 mudas; ²6 L para cada 1.000 mudas, a cada 7 dias; ³3 L para cada 1.000 mudas, a cada 7 dias. Para todas as fases, após 5 minutos a 10 minutos da aplicação da solução nutritiva, irrigar as mudas com água pura.

Os exemplos de adubações de substratos apresentados anteriormente apenas ilustram algumas possibilidades, devendo ser adaptados de acordo com as necessidades e especificidades de cada viveiro e sistema de produção. Uma alternativa eficiente se refere à utilização no substrato de fertilizantes de liberação controlada, eliminando-se a necessidade de adubações de cobertura. Caso o viveirista utilize substratos comerciais, estes em geral já vêm com adubação de base, devendo-se nestes casos reduzir os adubos aplicados. Estudos ainda deverão ser realizados, sobretudo em relação ao tipo de adubação para diferenciadas formulações de substratos, visando à produção de mudas de erva-mate com qualidade adequada.

3. Produção de mudas de erva-mate por propagação vegetativa

A produção sexuada de mudas de erva-mate apresenta uma série de limitações e dificuldades, conforme já destacado no item 2 deste capítulo. Todos estes fatores contribuem para elevar o custo de produção das mudas, além de limitar a sequência dos programas de melhoramento genético da espécie. Além disso, 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 (ELDRIDGE et al., 1994; THOMPSON, 1992; WENDLING; DUTRA, 2010), pela estação do ano, condições fisiológicas da planta-mãe, variações nas condições climáticas (BRONDANI et al., 2012a; XAVIER et al., 2013;), pela posição do propágulo na planta-mãe, pelo tamanho, tipo, armazenamento e hora de coleta do propágulo (BRONDANI et al., 2012a; FERREIRA et al., 2012; PIRES et al., 2013; THOMPSON, 1992), pelo meio de enraizamento, pelas substâncias de crescimento e pelos produtos químicos aplicados (DIAS et al., 2012; THOMPSON, 1992; WENDLING et al., 2010; XAVIER et al., 2013).

Os protocolos de estaquia desenvolvidos para a propagação de erva-mate têm apresentado uma série de limitações para sua adoção em escala comercial. Segundo Wendling (2004) estas limitações se referem 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 à nutrição (tipos de adubos, dosagens, intensidade de aplicação, relações de nutrientes), sistemas de enraizamento e condução que

não necessitem de repicagem das estacas enraizadas para outro recipiente, sombreamento, vigor do sistema radicial, bem como o estabelecimento de testes clonais, visando a estudos de comparação do crescimento de mudas clonais com mudas originárias de sementes.

A necessidade de desenvolvimento de protocolos específicos de macro e micropropagação por clone selecionado é fundamental, visto que 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 importante ressaltar a necessidade dos programas de melhoramento da erva-mate estarem em perfeita sincronia com o desenvolvimento de protocolos de propagação vegetativa, específicos para cada clone selecionado.

3.1. Estaquia

A técnica de estaquia consiste na produção de mudas a partir de propágulos (galho, caule, ramo, raiz ou folha) coletados de uma planta matriz, selecionada de acordo com suas características de produtividade e qualidade. As mudas assim obtidas apresentam as mesmas características genéticas da planta matriz.

A vantagem dessa técnica refere-se à homogeneidade das plantas produzidas, transmissão das características da planta que se deseja propagar, possibilidade de multiplicação de plantas híbridas e de indivíduos resistentes a pragas e doenças, além de se evitar a possibilidade de rejeição, quando comparada com a técnica de enxertia (WENDLING, 2004). A estaquia também permite a multiplicação de plantas que não produzem ou produzem poucas sementes; de plantas nas quais as sementes são muito caras; de mudas em menor tempo do que por meio de sementes e durante todo o ano, dependendo das condições climáticas e estruturais disponíveis (DIAS et al., 2012; WENDLING, 2004). Em termos de desvantagens, pode-se destacar o risco excessivo de estreitamento da base genética dos plantios clonais, quando da utilização de pequeno número de clones, dificuldade de

obtenção de enraizamento em algumas árvores, custo de produção das mudas em geral mais elevado e dificuldade de enraizamento em plantas não juvenis (WENDLING; DUTRA, 2010).

Segundo Prat Krikun (1995), desde a década de 1930 a propagação de erva-mate por estaquia é um tema de interesse, sendo que vários autores fizeram menção à dificuldade de se encontrar uma técnica adequada, sendo os primeiros resultados satisfatórios obtidos por Fernandez e Lasserre (1969) citado por Prat Krikun (1995). Inúmeras pesquisas têm sido desenvolvidas com a espécie, visando ao desenvolvimento e disponibilização de protocolos eficientes para produção de mudas por estaquia (BITENCOURT et al., 2009; BRONDANI et al., 2009; CORRÊA, 1995; GRAÇA et al., 1988; IRITANI; SOARES, 1981; NIKLAS, 1988; PRAT KRICUN; ARANDA, 1980; PRAT KRICUN et al., 1983, 1986; SAND, 1989; STURION; RESENDE, 1997; TARRAGÓ et al., 2005; TAVARES et al., 1992; WENDLING et al., 2006b). Porém, os baixos índices de enraizamento obtidos comprometem o uso da técnica em escala comercial.

3.1.1. Índices de enraizamento

O enraizamento de estacas de erva-mate, em geral, tem sido baixo e depende de uma série de fatores, dentre os quais destacam-se o material genético, a idade e o sexo das plantas matrizes.

Em estudo de Tavares et al. (1992) o enraizamento variou de 0 a 100% entre procedências e progênies e o resumo dos resultados das investigações efetuadas pelo INTA (Argentina) entre os anos de 1958 e 1983 demonstrou que o enraizamento médio de clones selecionados variou de 0 a 88% (PRAT KRICUN et al., 1983). Em estudo de Prat Krikun e Aranda (1980), de um total de 106 clones selecionados de erva-mate, 22 foram eliminados por seus baixos índices de enraizamento, e os 84 clones restantes apresentaram média geral de 8,3% de enraizamento entre os anos de 1975 a 1978. Santos (2011) avaliou a estaquia de 16 genótipos de erva-mate, observando enraizamento de 5,7% a 63,7%, variável entre genótipos, estações do ano e uso ou não uso de AIB.

Corrêa (1995) avaliou o percentual de estacas enraizadas de erva-mate, bem como o respectivo percentual de estacas funcionais, de quantificação valorativa e determinada com base no número e comprimento de suas raízes. Obteve um percentual médio de enraizamento de 38,6%, e em torno de 17% de estacas funcionais, comprovando efeito marcante do material genético sobre o enraizamento e detectando variabilidade genética significativa para o caráter enraizamento de estacas entre procedências e entre indivíduos dentro de progênies. A herdabilidade do caráter enraizamento foi de baixa magnitude (inferior a 30%) em nível de indivíduo, porém alta em nível de médias de famílias e médias de indivíduos dentro de família, levando à conclusão de que o enraizamento pode ser melhorado, tanto geneticamente, pela seleção, como ambientalmente, por meio de técnicas de enraizamento.

Sturion e Resende (1997) selecionaram fenotipicamente 30 árvores de erva-mate, das quais foram retiradas estacas para seu posterior enraizamento. Conforme os autores, 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%. Os 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.

Buscando avaliar a influência do sexo da planta matriz no enraizamento de estacas de erva-mate, Prat Krikun et al. (1986) realizaram uma série de estudos e obtiveram médias (anos de 1982 a 1985) de 19,8% e 6,6% de plantas obtidas aos 10-12 meses, respectivamente, para 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). Conclusão similar foi obtida por Wendling et al. (2006b) avaliando clones masculinos (média de 24% de enraizamento) e femininos (média de 40% de enraizamento) com 12 anos de idade. Entretanto, ressalta-se que o foco mais relevante

é a clonagem de indivíduos selecionados e não a maximização do enraizamento *per se*, como no caso do indivíduo selecionado para massa foliar e, ou alta cafeína ser masculino.

Estudando a influência da idade da planta matriz de erva-mate na capacidade de enraizamento, Sand (1989) obteve enraizamento de 91,7% e 6,8%, respectivamente, de estacas provenientes de plantas de um e 60 anos de idade. Segundo conclusões do mesmo autor, o fator juvenildade se perde após três anos de idade das plantas, sem, no entanto, (os indivíduos) terem ainda alcançado a maturação reprodutiva, a qual iniciaria após o quinto e sexto ano de vida.

3.1.2. Tipo de propágulo e tratamento asséptico

Uma série de estudos foram realizados para definir o tipo de propágulo ideal para a estaquia de erva-mate. Em relação ao número de folhas, Prat Krikun et al. (1986) obtiveram médias 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.

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 (CORRÊA, 1995; GRAÇA et al., 1988); estacas com duas folhas e 10 cm a 15 cm de comprimento (HIGA, 1982; NIKLAS, 1988); estacas polifoliadas com 10-20 cm de comprimento (SAND, 1989), estacas com 16 cm de comprimento e 4 folhas reduzidas a 1/3 do tamanho original (IRITANI; SOARES, 1981), estacas com 11 cm (± 2 cm) contendo um par de folhas reduzidas a 50% da área total, com um corte em bisel na porção basal da estaca (BITENCOURT et al., 2009; BRONDANI et al., 2009).

Uma das possíveis causas da baixa porcentagem de enraizamento de estacas de erva-mate oriundas de árvores adultas é a baixa juvenilidade das brotações que lhe deram origem. Portanto, a utilização de técnicas que visem resgatar a juvenilidade de estacas é de fundamental importância para o sucesso da propagação vegetativa. Nessa linha de pesquisa, pode-se relatar estudos desenvolvidos por Bitencourt et al. (2009) que avaliaram o enraizamento de estacas de brotações do ano, provenientes da copa de árvores com 13 anos de idade e estacas de rebrota, provenientes de rebrota de decepa realizada em árvores de 17 anos de idade.

Outra técnica utilizada para obter brotos viáveis para aplicação na estaquia, micropropagação ou até mesmo para a enxertia refere-se à indução de brotações epicórmicas a partir de galhos podados. Essa técnica é executada a partir da coleta de galhos (tamanho entre 50 cm e 100 cm, com diâmetro variável) em diferentes posições da copa das árvores, sendo, posteriormente, acondicionados em casa de vegetação com nebulização intermitente para indução de brotações (HARTMANN et al., 2011). A indução de brotos a partir de ramos podados tem como vantagens a não necessidade de abate da árvore matriz, maior facilidade de transporte (tanto dos galhos quanto dos brotos), maior qualidade das brotações induzidas e facilidade de manejo, coleta e preparo dos brotos. Resultados positivos foram relatados por Wendling et al. (2013) ao avaliarem o enraizamento de estacas obtidas a partir de brotos epicórmicos em galhos de árvores de erva-mate de 19 anos de idade. Os autores verificaram a viabilidade da utilização dessa técnica para obter brotos em quantidade e qualidade para emprego na estaquia (não havendo necessidade de tratamentos adicionais, como aplicação de sacarose ou ácido indolbutírico), inclusive configurando em uma estratégia para o resgate de matrizes adultas selecionadas. Contudo, esse método ainda não foi testado em outras condições de trabalhos e em diferentes plantios de erva-mate, sendo necessário o desenvolvimento de estudos posteriores.

O anelamento de árvores matrizes adultas também é uma prática utilizada para a indução de brotações com maior grau de juvenilidade, o que reflete em maiores índices de enraizamento dos propágulos em relação aos brotos do ano coletados diretamente da copa. A técnica de anelamento da região basal do tronco tem apresentado resultados satisfatórios para erva-mate (BITENCOURT, 2009; MEDRADO et al., 2002; SANTIN et al., 2006, 2008b; WENDLING, 2004), sendo recomendada em substituição ao corte raso da planta-matriz para a indução de brotos. Os brotos obtidos do anelamento apresentam características fisiológicas e ontogenéticas adequadas para serem utilizadas em diversas técnicas de propagação, como a estaquia, micropropagação e enxertia.

Santin et al. (2008b) verificaram que o anelamento foi eficiente para a indução de brotações basais de árvores adultas de erva-mate (plantas com idade estimada entre 30 a 50 anos), destacando a elevada capacidade de cicatrização do anel na região da casca removida durante o anelamento, o que denota a eficiência dessa técnica, por não ocasionar a mortalidade das árvores. Além disso, a técnica de anelamento pode ser utilizada para a recuperação e renovação de plantas de erva-mate debilitadas (BITENCOURT, 2009; SANTIN et al., 2006), sendo uma estratégia eficiente para a recuperação de plantios. Contudo, a eficiência do anelamento depende da idade da planta-matriz e estação do ano. Em árvores de erva-mate com mais de 80 anos de idade o inverno foi a estação mais favorável para a realização dessa prática, não sendo observada mortalidade dos indivíduos (BITENCOURT, 2009). Além disso, Santin et al. (2008b) recomendam a remoção de 70% da copa, para aumentar a eficiência do método.

Inúmeros tratamentos para desinfestação de estacas de erva-mate foram utilizados em trabalhos de estaquia: imersão das estacas em uma solução fúngica a base de Benlate por 1 hora e a imersão da base das estacas em solução de NaOH 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 $0,4 \text{ g L}^{-1}$ (HIGA, 1982); 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 durante 1 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); imersão das estacas durante 5 minutos em hipoclorito de sódio (20% em água), seguido de 5 minutos em água corrente e, por fim, 15 minutos em fungicida (BRONDANI et al., 2009).

3.1.3. Reguladores de crescimento e cofatores para o enraizamento

Na estaquia de erva-mate, as concentrações de reguladores de crescimento para promover o enraizamento em propágulos vegetativos geralmente são elevadas (acima de 5.000 mg L^{-1}), sendo que as auxinas são amplamente utilizadas. Iritani e Soares (1981) ao estudarem o efeito de reguladores de crescimento em estacas de erva-mate verificaram que o tratamento com auxinas induziu a formação de calos e iniciação de raízes adventícias nas estacas, sendo que o ácido indolbutírico (AIB) foi mais eficiente que o ácido indolacético (AIA). Embora os índices de enraizamento tenham sido considerados reduzidos, o uso desses reguladores de crescimento induziu a formação de raízes estruturalmente funcionais nas estacas com folhas de erva-mate.

Em outro estudo, Graça et al. (1988) concluíram que o tratamento basal com AIB foi necessário para o enraizamento de estacas de erva-mate e as concentrações entre 5.000 mg L^{-1} e 8.000 mg L^{-1} possibilitaram até 62% e 47% de enraizamento em estacas de brotações do ano de árvores adultas e de mudas, respectivamente. Brondani et al. (2009) utilizaram a concentração de 8.000 mg L^{-1} de AIB para o enraizamento de estacas de erva-mate coletadas de matrizes com 12 anos de idade.

Em 16 genótipos de erva-mate, Santos (2011) observou variações de enraizamento com ou sem uso de AIB (6000 mg L⁻¹), época do ano (primavera/verão e outono/inverno) e o genótipo, obtendo melhor resposta na primavera/verão, com o uso de AIB (17,5% a 63,6% de enraizamento).

Tarragó et al. (2005) verificaram elevada correlação entre a posição da folha e a regeneração de sítios de raízes adventícias em estacas de erva-mate coletadas de árvores de 20 anos de idade. A aplicação de quercetina (flavanóide natural) aumentou a porcentagem de enraizamento em mais de três vezes em comparação com o controle (isento de flavanóide). Todos os flavanóides testados melhoraram a distribuição de raízes em torno da haste, sem afetar o número de raízes regeneradas por estaca enraizada. Esses resultados sugerem a influência de inúmeros fatores nos processos de enraizamento adventício em estacas (não somente os níveis endógenos e exógenos de auxinas), sendo que as investigações devem ser mais aprofundadas para ampliar o conhecimento científico nesse campo de pesquisa.

Dependendo do grau de juvenilidade do tecido, a concentração de auxina pode ser reduzida, devido aos propágulos com maior grau de juvenilidade apresentarem maior competência para o enraizamento adventício. Essa observação é ressaltada por Bitencourt et al. (2009) que não verificaram efeito significativo em relação a aplicação do AIB para o enraizamento em estacas de erva-mate, porém ocorreu elevada correlação do tipo de estaca usada. Os propágulos mais juvenis pelo corte basal das matrizes apresentaram os melhores resultados quanto à porcentagem de enraizamento, assim como de número e comprimento de raízes.

3.1.4. Substratos e recipientes para o enraizamento

Quanto ao uso de substrato, a areia não foi adequada para o enraizamento de estacas de erva-mate, sendo que a vermiculita pode apresentar o dobro de enraizamento (GRAÇA et al., 1988). Tavares

et al. (1992) concluíram que a vermiculita média foi o substrato que propiciou maior enraizamento em bandejas de plástico, 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%.

Brondani et al. (2009) verificaram que os índices de enraizamento de erva-mate, além de dependerem significativamente do genótipo, também dependem do tipo de substrato empregado na estaquia. Segundo os mesmos autores, o uso da mistura de casca de arroz carbonizada com substrato para enraizamento à base de casca de pinus e vermiculita (1:1, v/v) em tubete cônico plástico (110 cm³) foi o mais aconselhado para estaquia de erva-mate. Bitencourt et al. (2009) recomendaram o uso de caixas plásticas contendo casca de arroz carbonizada e vermiculita de granulometria média como substrato (1:1, v/v).

Pesquisas sobre a adequação de diferentes recipientes à estaquia de erva-mate são escassas. Tavares et al. (1992) testaram sacos plásticos de polietileno (15 cm 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. 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). Em tubetes os autores obtiveram em torno de 10,8% de enraizamento.

3.1.5. Ambiente de enraizamento

Em relação ao ambiente inicial de enraizamento, o sistema de nebulização é o mais adequado para estacas de erva-mate. A nebulização mantém a umidade das folhas, reduzindo a pressão de vapor, a temperatura e a taxa de respiração, mantendo as folhas funcionais por mais tempo, o que pode ser decisivo para o enraizamento de muitas espécies.

Para erva-mate, Brondani et al. (2009) avaliaram o enraizamento de estacas em dois tipos de estruturas: casa de vegetação automatizada, com umidade relativa do ar igual ou superior a 80% e temperatura entre 20 °C e 30 °C (Figura 2) e casa de vegetação simples, onde somente a irrigação foi controlada, com microaspersões a cada 10 segundos em intervalos de 10 minutos, das 8h às 18h (Figura 2). Não foi verificada diferença significativa entre as estruturas. Segundo os autores, o uso da casa de vegetação simples pode baratear os custos de produção de mudas clonais de erva-mate via estaquia.

Fotos: Ivar Wendling



Figura 2. Casas de vegetação para enraizamento de estacas: automatizada (acima) e modelo rústico (à direita).

3.1.6. Aclimação, rustificação e adubação das mudas

Na literatura existem poucas informações a respeito da aclimação, rustificação e adubação das mudas de erva-mate produzidas pela técnica de estaquia. Geralmente, o manejo adotado depende da estrutura do viveiro, como casa de vegetação, casa de sombra e área de crescimento e rustificação, bem como o tipo de adubação adotada em sistemas de produção de mudas clonais (WENDLING, 2004).

Dentre as informações existentes, Brondani et al. (2009) consideraram o tempo de 110 dias para permanência de estacas de erva-mate no ambiente de enraizamento adventício, seguida de transferência das estacas para casa de sombra com sombrite de 50% para aclimação durante 20 dias e, posteriormente, para uma área em pleno sol por mais 20 dias, visando a rustificação e crescimento. Da fase de aclimação até a rustificação, os autores adotaram adubação semanal de cobertura com 6 ml por muda da seguinte formulação: sulfato de amônio (4 g L^{-1}), superfosfato triplo (10 g L^{-1}), cloreto de potássio (4 g L^{-1}) e solução de micronutrientes (10 ml L^{-1}), composta por: 9% de Zn, 1,8% de B, 0,8% de Cu, 3% de Fe, 2% de Mn e 0,12% de Mo.

Uma série de estudos relacionados aos sistemas de manejo para o adequado crescimento e rustificação das mudas de erva-mate ainda serão necessários, principalmente em termos de casa de vegetação, casa de sombra e área de pleno sol, pois em cada ambiente, pode ser adotado um tipo específico de adubação e tempo de permanência das mudas enraizadas (WENDLING, 2004).

3.1.7. Sequência esquemática da técnica de estaquia

Visando facilitar o entendimento das etapas operacionais envolvidas na técnica de estaquia em erva-mate, será descrita uma sequência lógica e operacional do processo, com base nos melhores tratamentos e resultados das pesquisas realizadas na Embrapa Florestas.

Seleção da planta matriz

A seleção correta das plantas matrizes que servirão de base para a formação dos plantios clonais é de suma importância para a qualidade dos futuros plantios. Deve-se atentar para o fato de que a seleção de árvores superiores em termos de produtividade e de qualidade em um povoamento é somente o primeiro passo para a sua indicação em plantios comerciais. As matrizes selecionadas deverão ser submetidas a testes clonais em áreas similares em termos de clima e solo aos locais de plantio futuro para avaliar o efeito do ambiente no seu comportamento geral.

Para a seleção de matrizes (Figura 3), devem ser levados em consideração aspectos básicos, como produtividade, resistência a pragas e doenças e específicos como produção de galho fino, sabor, tamanho de folha, queda de folhas, capacidade de enraizamento, composição química, etc. Os critérios de seleção a serem usados são variáveis, em função dos objetivos de produção e, uma vez selecionada uma planta de má qualidade, as mudas deste clone terão sempre a mesma qualidade em condições similares de clima, solo e manejo, perdendo-se todas as possíveis vantagens do processo de clonagem. É importante ressaltar que, quando possível, devem ser selecionadas plantas sujeitas à competição por outras da mesma espécie, condição similar ao plantio comercial clonal futuro, bem como, plantas que foram avaliadas por, pelo menos, duas safras.

Foto: Ivar Wendling



Figura 3. Árvore matriz de erva-mate selecionada para estaquia em plantio por sua alta produtividade, boa sanidade e tamanho de folhas (quatro anos).

Resgate da planta matriz

Quando a árvore matriz de erva-mate atinge a maturidade (em geral após o terceiro ano de idade), torna-se difícil ou, às vezes, impossível a sua propagação por estaquia ou qualquer outro método de propagação vegetativa. Para superar isto, é preciso utilizar tratamentos na planta matriz para a indução de brotações juvenis.

Para a erva-mate, o método mais recomendado para a produção de brotos juvenis é o corte raso da árvore a aproximadamente 15 cm do solo (Figura 4), de preferência um pouco inclinado, para evitar o apodrecimento da cepa (tronco) provocado pelo acúmulo de água na área de corte. É recomendado que este corte seja efetuado no

final do inverno, para que a rebrota ocorra na primavera. Quando as brotações forem coletadas (com altura de 25 cm a 45 cm em torno de 3 a 5 meses após a decepa), deverão ser mantidos de um a três brotos na cepa, para evitar sua morte. As desvantagens deste método são a necessidade do corte da árvore e a possível perda da matriz selecionada, caso ela não rebrote, apesar de ser pouco provável em erva-mate (BITENCOURT et al., 2009; DA CROCE; FLOSS, 1999).

Fotos: Ivar Wendling



Figura 4. Cepa de erva-mate cortada (à esquerda) e com brotações aptas a serem coletadas para estaquia (à direita).

O anelamento de árvores matrizes para indução de brotações basais pode ser utilizado nos casos em que não seja possível o corte raso da planta matriz, embora a produção de brotos seja bem menor em comparação ao corte raso. Para tanto, retira-se um anel de casca com 1,5 cm a 3,0 cm de largura, em praticamente toda a circunferência da árvore. Em torno de 30 a 90 dias após o anelamento, dependendo das condições climáticas do local, as brotações podem ser coletadas (Figura 5). No que se refere a época indicada para este procedimento, vale a mesma recomendação para o corte raso da árvore matriz. Para melhorar a emissão de brotações nas plantas aneladas, sugere-se a remoção de 70% da copa das mesmas (SANTIN et al., 2008b).

Foto: Ivar Wendling



Figura 5. Planta de erva-mate anelada, mostrando brotações juvenis na base, no ponto de coleta para estaquia.

Outro método que pode ser usado para o resgate da planta matriz é a enxertia de brotos coletados da árvore matriz selecionada sobre mudas formadas por semente. Após o pegamento do enxerto, as brotações que se originarem acima da união do enxerto com o porta-enxerto são coletadas para enraizamento ou novas enxertias subsequentes (enxertia em série) até que mostrem aptidão ao enraizamento. Em geral, quando se trabalha com enxertia de plantas de idade mais avançada, há maior necessidade de enxertias em série para se conseguir induzir o rejuvenescimento a ponto das brotações apresentarem capacidade de enraizamento e bom vigor das raízes formadas. Resultados preliminares tem indicado que são necessárias, no mínimo, quatro enxertias seriadas para a recuperação da juvenilidade em erva-mate.

Coleta e transporte das brotações e preparo das estacas

A época do ano em que se procede a coleta das estacas é de grande importância para o enraizamento. Geralmente, as melhores épocas para a coleta são primavera ou verão. A coleta é feita com tesouras de poda e, sempre que possível, deve ser realizada nas primeiras horas da manhã, devido à menor temperatura e insolação, o que reduz as perdas de água por transpiração das brotações coletadas (murchamento).

Após a coleta, deve-se procurar manter a turgescência dos brotos, acondicionando-os em recipientes com água (caixas de isopor, baldes etc.), ou então fazendo-se pulverizações constantes de água sobre os mesmos. O transporte dos brotos deve ser realizado logo após a coleta, mantendo-se os mesmos em local sombreado. Alternativa interessante para transporte em maiores distâncias é a colocação das brotações dentro de caixa de isopor tampada e com gelo no fundo, recoberto com folhas de jornal umedecidas. Este sistema forma um microclima com alta umidade e baixa temperatura.

As estacas com aproximadamente 7 cm a 12 cm de comprimento são preparadas próximo ao local da estaquia, deixando-se um a dois pares de folhas recortadas ao meio, para evitar excesso de transpiração e sobreposição na área de enraizamento (efeito guarda-chuva). A tesoura de poda a ser utilizada deve estar sempre bem afiada para evitar amassar os tecidos da estaca no local de corte.

Geralmente, o ponteiro dos ramos é muito tenro e fino, devendo neste caso ser eliminado durante o preparo das estacas. Caso isto não seja feito, poderão ocorrer grandes taxas de mortalidade das estacas. Outro detalhe importante é a eliminação da parte basal dos ramos que se apresentarem muito lenhosos (Figura 6).

Fotos: Ivar Wendling

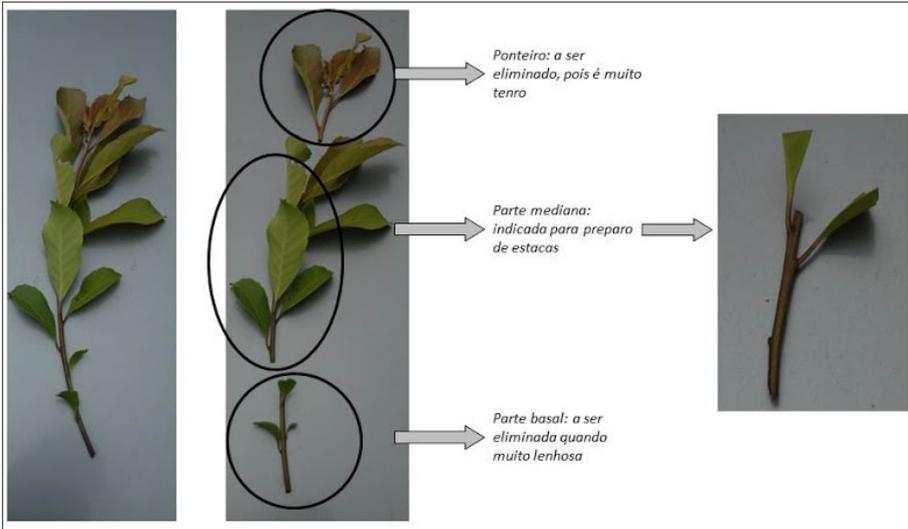


Figura 6. Parte da brotação recomendada para confecção de estacas quando da presença de ápice muito tenro e base muito lenhosa e estaca preparada.

A aplicação de indutores de enraizamento (hormônios) é importante para o aumento da velocidade de formação de raízes, aumento do número e melhoria da qualidade das raízes formadas, bem como, na maior uniformidade de enraizamento. O hormônio AIB (ácido indolbutírico) na forma líquida ou pó, na concentração de 6.000 mg por litro ou por kg (mg L^{-1} ou mg kg^{-1}), é o mais indicado para o uso no enraizamento de estacas de erva-mate. Na aplicação via líquida, as bases das estacas são imersas na solução do hormônio durante 10 segundos. Na aplicação via pó, as bases das estacas são introduzidas no pó, contendo o hormônio e levadas imediatamente para enraizamento (Figura 7).

Fotos: Ivar Wendling



Figura 7. Aplicação de hormônio em estacas de erva-mate: via líquida (à esquerda) e pó (à direita).

No mercado podem ser encontradas formulações de AIB preparadas em gel, embora ainda sejam necessários estudos para comprovar a sua eficiência técnica. Em termos gerais, a aplicação via gel tem como vantagens a maior facilidade de aplicação, pois não há necessidade de preparação, visto que já vem pronto para uso na concentração solicitada, e também pela maior durabilidade no armazenamento.

Desinfestação das estacas e equipamentos

Tendo em vista que as estacas são provenientes do campo e, conseqüentemente, estão expostas a diversos tipos de agentes patogênicos, antes e durante o período de enraizamento é importante promover sua proteção, resultando em maior sobrevivência. O método de desinfestação recomendado consiste em mergulhar as estacas durante 5 minutos em hipoclorito de sódio (20% em água) + 5 minutos em água corrente + 15 minutos em fungicida à base de Carbendazim 2 g L^{-1} , logo após as estacas serem preparadas.

Os materiais e equipamentos a serem utilizados no preparo das estacas devem estar totalmente livres de patógenos que podem prejudicar o enraizamento e o desenvolvimento das mesmas. Para isso, recomenda-se a desinfestação das caixas e recipientes com vapor ou água quente, a partir de 70 °C por 3 minutos ou a 80 °C por 1 minuto (ALFENAS et al., 2004).

Enraizamento, aclimação, crescimento e rustificação

Após os recipientes serem preenchidos e as estacas preparadas, as mesmas são inseridas no substrato (em torno de 1 cm a 2 cm de sua base), procurando-se fazer uma leve compactação ao seu redor. Tem-se obtido melhores resultados com bandejas de plástico (Figura 8), com posterior repicagem das estacas enraizadas para outros recipientes.

Os tubetes também podem ser utilizados para o enraizamento (Figura 8), apresentando a vantagem de não ser necessária repicagem após o enraizamento, embora, em geral, sejam obtidos menores percentuais de enraizamento.

Caso seja utilizado o hormônio via pó, é recomendável fazer furos na parte superior do substrato, para melhor acondicionamento da base da estaca, ou utilização de uma camada de substrato mais poroso, evitando-se a retirada do produto aplicado. Este procedimento não é necessário quando for utilizado o hormônio via líquida.

Como a erva-mate é uma espécie de difícil enraizamento, embora com exceções em termos de clones, suas estacas precisam ser enraizadas em casa de vegetação, com umidade acima de 80% e temperaturas relativamente constantes no seu interior, porém sempre inferiores a 30 °C. O tempo de permanência das estacas na casa de vegetação varia de 60 a 110 dias, dependendo da região, da época do ano e do clone. Quando forem usados tubetes como recipientes para enraizamento das estacas, uma indicação da hora de tirá-las da

casa de vegetação é a presença de raízes saindo no fundo desses recipientes e, no caso das bandejas, deve-se retirar algumas estacas para verificação da existência de raízes. Durante a permanência em casa de vegetação, devem ser realizadas operações que visem a retirada das folhas caídas e estacas contaminadas.

Fotos: Ivar Wendling



Figura 8. Estacas introduzidas no substrato para enraizamento: em bandeja (à esquerda) e em tubetes (abaixo).



Quando as estacas estiverem enraizadas em casa de vegetação, estas deverão ser levadas para aclimatação e crescimento em casa de sombra, com sombreamento em torno de 50% a 80%, obtido com o uso de sombrite ou outro material adequado. As estacas deverão permanecer nesta área por um período suficiente até que atinjam a altura ideal de plantio, variável em função do tipo e tamanho da embalagem utilizada. Na época de inverno é recomendada a colocação de cobertura plástica sobre a casa de sombra, com o intuito de evitar os efeitos adversos de geadas nas mudas em aclimatação.

Após a aclimatação, as mudas de estaquia são transferidas para uma área sob sol pleno, onde serão rustificadas, visando sua preparação para o plantio definitivo. Nesta fase, as mudas devem receber tratamentos de rustificação, diminuindo-se a irrigação e a concentração de nitrogênio das adubações. Caso estas mudas sejam utilizadas para formação do minijardim clonal (técnica de miniestaquia), as estacas poderão ser plantadas no sistema semi-hidropônico, quando tiverem raízes suficientes para possibilitar a sua retirada do recipiente (*ver item 3.2.8.*). Para facilitar a retirada das mudas dos recipientes sem danificar o sistema radicial, recomenda-se o plantio de 2 a 4 sementes de aveia nos mesmos, de 2 a 3 semanas antes, o que promove o crescimento de um vigoroso emaranhado de raízes, protegendo as raízes de erva-mate (Figura 9). Esta prática também é recomendada para facilitar a retirada de mudas produzidas via sementes em tubetes.

Foto: Ivar Wendling



Figura 9. Muda de erva-mate com aveia, para facilitar sua retirada do tubete.

Dentro da casa de vegetação onde as estacas serão enraizadas, e em todas as etapas subsequentes, é recomendável que sejam feitas pulverizações curativas, ou seja, quando ocorrer a presença de doenças. Para isso, pode-se usar uma série de fungicidas, variáveis em função do tipo de patógeno que esteja provocando o ataque, em aplicações alternadas, sendo recomendada a consulta a profissional habilitado para recomendações específicas.

3.1.8. Fluxograma geral da técnica de estaquia de erva-mate

Visando facilitar a compreensão das etapas envolvidas na produção de mudas de erva-mate por estaquia, a Figura 10 apresenta uma sequência esquemática resumida do processo.

Fotos: Ivar Wendling

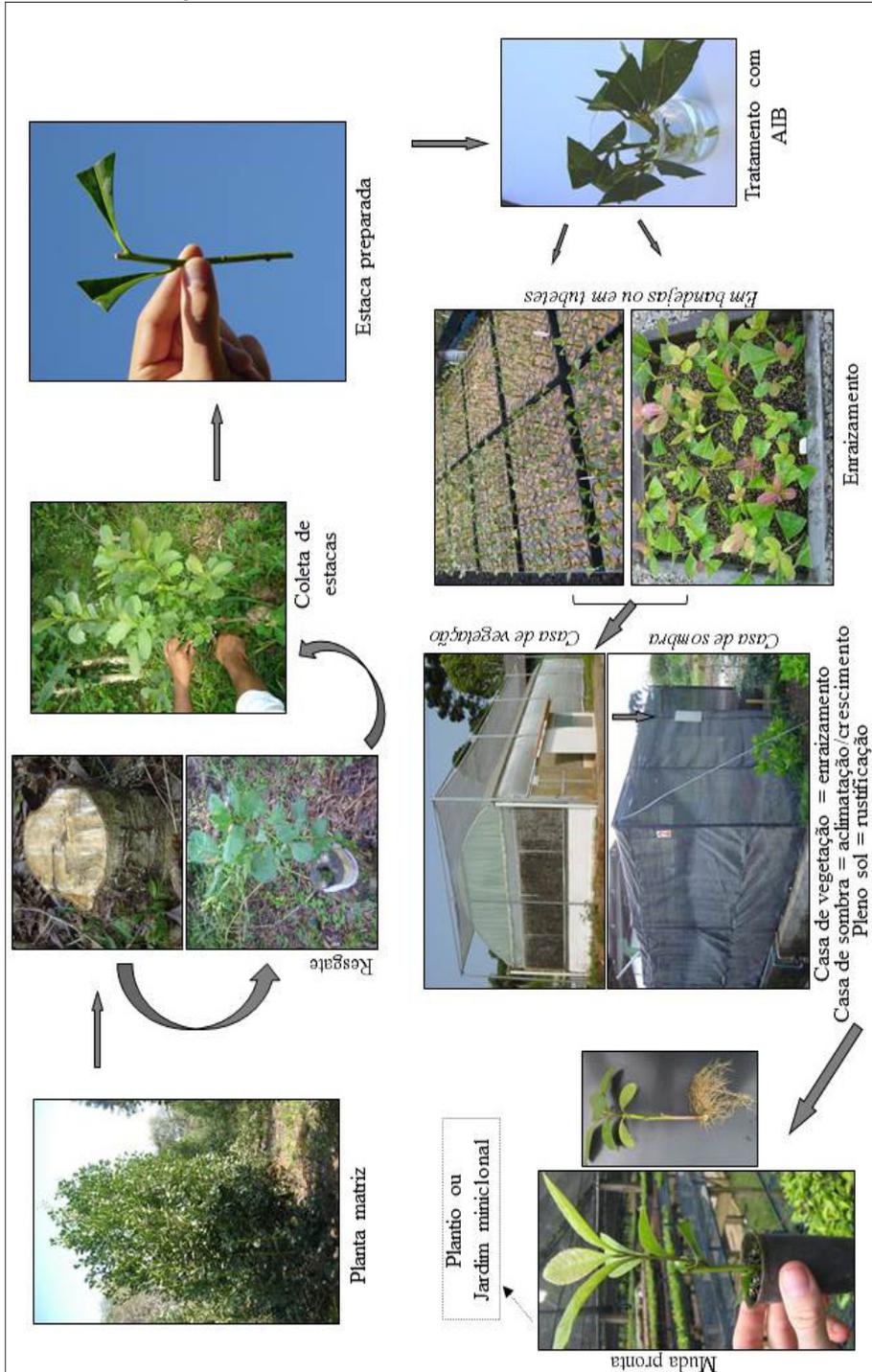


Figura 10. Fluxograma geral da técnica de estquia de erva-mate.

3.2. Miniestaquia

A técnica de miniestaquia consiste na utilização de brotações de mudas propagadas pelo método de estaquia ou de mudas produzidas por sementes como fonte de propágulos vegetativos (DIAS et al., 2012; WENDLING et al., 2010; XAVIER et al., 2013). Dentre as vantagens da miniestaquia em comparação à estaquia destaca-se o maior grau de juvenildade dos propágulos vegetativos, maior controle fitossanitário e da nutrição mineral das minicepas conduzidas em sistemas semi-hidropônicos automatizados, o que garante a obtenção de brotações com qualidade fisiológica mais adequada para o processo de enraizamento (FREITAS et al., 2013; PIRES et al., 2011; WENDLING; DUTRA, 2010; WENDLING et al., 2005, 2006a, 2006b; XAVIER et al., 2013).

A miniestaquia é a técnica de clonagem mais difundida entre as médias e grandes empresas florestais que trabalham com produção de mudas clonais de *Eucalyptus* sp. Para erva-mate, essa técnica de propagação apresentou aumento dos índices de enraizamento, ao comparar com a estaquia tradicional (BRONDANI et al., 2007, 2008; WENDLING et al., 2007b; WENDLING; DUTRA, 2008; WENDLING; SOUZA JUNIOR, 2003). O seu uso em larga escala é aconselhado para a multiplicação clonal de plantas matrizes de erva-mate, que apresentem características especiais de produção (produtividade e qualidade).

3.2.1. Minijardim clonal

O minijardim clonal ou área para produção de brotos pode ser definido como a área de multiplicação vegetativa formada por um conjunto de minicepas, objetivando fornecer brotações para o preparo de miniestacas para o processo de miniestaquia (XAVIER et al., 2013). Também tem sido encontrada na literatura a denominação jardim miniclinal (WENDLING, 1999; XAVIER, 2002).

Wendling e Souza Junior (2003) utilizaram sacos plásticos de 15,0 cm x 10,0 cm, com terra de subsolo, para formação e condução do minijardim clonal de erva-mate. Um ano após a primeira coleta obtiveram 100% de sobrevivência das minicepas e uma produção média de 2,2 miniestacas por minicepa a cada 35 dias, denotando estar em um patamar compatível com outras espécies, principalmente nativas.

Em erva-mate, Wendling et al. (2007b) recomendaram a condução de minicepas em sistema semi-hidropônico para a produção de brotações, sendo que o controle nutricional garante uma maior produção durante o ano para atender o enraizamento de miniestacas, bem como, maior facilidade de manejo. Segundo os autores, mudas com aproximadamente 15 cm de altura são transferidas para o sistema semi-hidropônico com areia média, sendo seus ápices podados à altura de 5 cm a 8 cm, após uma semana, para a conversão em minicepas.

A cada troca de solução (feita a cada três semanas), ou quando a condutividade elétrica da solução drenada se tornar maior que 3 mS cm^{-1} a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, deve ser realizada irrigação com água pura para lavar o excesso de sais, com aproximadamente 11 L m^{-2} . O pH das soluções iniciais deverá ser ajustado para $5,5 \pm 1$. Ao final de 11 coletas, os autores observaram sobrevivência superior a 90% das minicepas no jardim miniclinal e uma produção média de 291 miniestacas por m^2 de minijardim clonal por coleta (WENDLING et al., 2007b).

A adubação das minicepas no minijardim clonal de erva-mate deve ser a mais adequada possível, visando proporcionar quantidade de brotações para atender a produção de mudas e em condições fisiológicas adequadas para a rizogênese. Nesse sentido, Wendling e Dutra (2008) apresentam uma solução nutritiva para o manejo de minicepas de erva-mate em sistemas semi-hidropônicos do tipo canaletão com areia, ajustada visando aumento da produção de brotos (Tabela 2), sendo que a mesma foi adotada para uma série de estudos básicos de miniestaquia. A solução nutritiva apresentada ainda necessita de ajustes específicos, visando a formação de brotos menos tenros, evitando a necessidade

de descarte do ápice no momento do preparo das miniestacas, bem como, aumentos na produtividade de brotos. Cabe ressaltar que se houver a retirada de mais de 50% da área foliar na poda de brotações das minicepas, deve-se reduzir a concentração da solução à metade por, pelo menos, uma semana após a coleta, para evitar queima das folhas novas.

Tabela 2. Nutrientes utilizados na formulação da solução nutritiva para a condução de minicepas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em sistema semi-hidropônico.

Nutrientes	Quantidade a ser utilizada (mg L ⁻¹)	Nutrientes	Necessidade final da solução (ânion/cátion) (mg L ⁻¹)
N-NO ₃	156,00	N-NO ₃	156,00
N-NH ₄	50,00	N-NH ₄	50,00
P	25,00	P ₂ O ₅	39,09
K	200,00	K ₂ O	234,00
Ca	200,00	CaO	257,20
Mg	45,00	MgO	62,87
S	76,90	SO ₄	128,14
B	1,50	B	1,50
Cu	0,10	Cu	0,10
Fe	5,00	Fe	5,00
Mn	1,00	Mn	1,00
Zn	0,70	Zn	0,70
Mo	0,07	Mo	0,07

Fonte: Ajustado de Wendling e Dutra (2008).

Rosa et al. (2011) avaliaram a adubação nitrogenada na solução de fertirrigação em minijardim clonal de erva-mate conduzido em tubetes e concluíram que o manejo do minijardim clonal, principalmente do ponto de vista nutricional, é um fator fundamental para o sucesso da propagação por miniestaca.

3.2.2. Índices de enraizamento

Geralmente, os índices de enraizamento de miniestacas de erva-mate são superiores aos de estacas. Dentre os fatores que influenciam o enraizamento de miniestacas pode-se citar: controle nutricional da minicepa, condições ambientais (luminosidade, temperatura, fotoperíodo, umidade relativa do ar), controle fitopatológico, manejo do minijardim clonal, podas para coleta de propágulos e demais tratamentos culturais.

Diversos estudos foram conduzidos visando avaliar os índices de enraizamento de propágulos de erva-mate na técnica de miniestaquia. Wendling et al. (2006a) concluíram que tanto propágulos provenientes de minicepas produzidas por sementes (juvenis) quanto os provenientes de estacas de árvores adultas 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 e os propágulos provenientes de minicepas juvenis (enraizamento médio de 87,5%) apresentaram os melhores resultados em relação às adultas (enraizamento médio de 72,5%). Em outro estudo, desenvolvido por Pires et al. (2011), foi demonstrado que a idade das matrizes de erva-mate apresenta influência relevante no processo de miniestaquia, sendo que matrizes mais jovens resultam nos melhores índices de enraizamento.

Wendling et al. (2007b) empregaram a miniestaquia para a produção de mudas de erva-mate visando ao aumento dos índices de enraizamento adventício. Nesse estudo, os autores observaram elevada sobrevivência de minicepas de origem seminal (propágulos juvenis) em sistema semi-hidropônico, a qual foi de 95,6% após 11 coletas de brotações. Além disso, os altos índices de enraizamento de miniestacas, com média geral de 85,8%, repercutiram na viabilização do protocolo estabelecido como método de clonagem para a espécie.

Na mesma linha de pesquisa, Wendling e Souza Junior (2003) observaram média geral de 75% de enraizamento de miniestacas de erva-mate de origem seminal, com a condução das minicepas em sacos plásticos.

Quando se utilizam miniestacas provenientes de brotações de minicepas de matrizes adultas de erva-mate, os índices de enraizamento geralmente são inferiores aos de origem seminal, porém não inviabilizam a técnica de miniestaquia. Brondani et al. (2008) 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. Cabe ressaltar que dados operacionais têm demonstrado enraizamentos superiores a 85% em alguns clones de erva-mate.

3.2.3. Tipo de propágulo e tratamento asséptico

Na miniestaquia de erva-mate, os propágulos são menores em comparação à técnica de estaquia. Geralmente são utilizadas miniestacas com tamanho de 6 cm (± 2 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, 2008; WENDLING et al., 2007b; WENDLING; SOUZA JUNIOR, 2003). Um corte em bisel na porção basal também é aconselhado para facilitar a inserção da miniestaca no substrato de enraizamento. O tratamento asséptico geralmente não é necessário, devido ao maior controle de fitopatógenos no minijardim clonal e da nutrição mais adequada das minicepas, podendo-se inserir as miniestacas no substrato de cultivo logo após seu preparo e padronização.

3.2.4. Reguladores de crescimento

Devido ao grau de juvenilidade das miniestacas, o qual é maior que das estacas, as concentrações de reguladores de crescimento são menores, ou até mesmo desnecessárias em alguns materiais genéticos.

Wendling e Souza Junior (2003) concluíram que a miniestaquia de erva-mate com propágulos de origem seminal é tecnicamente viável na ausência de regulador de crescimento, tornando-se uma alternativa para a produção de mudas em menor tempo e durante todo o ano. Brondani et al. (2007) também não usaram regulador de crescimento na miniestaquia de erva-mate a partir de coleta de brotações de minicepas (produzidas por sementes) conduzidas em sistema de canaletão com areia (sistema semi-hidropônico).

Em outro estudo, Brondani et al. (2008) utilizaram 3.000 mg L⁻¹ de AIB durante 10 segundos para indução da rizogênese em miniestacas de erva-mate coletadas de minicepas conduzidas em sistema de canaletão com areia, as quais foram produzidas pela técnica de estaquia a partir de árvores matrizes com 12 anos de idade.

3.2.5. Recipientes e substratos para o enraizamento

Para a miniestaquia de erva-mate tem-se utilizado substratos compostos pela mistura de casca de arroz carbonizada, vermiculita fina e substrato comercial a base de casca de pinus decomposta (3,5:3,5:3,0 v/v/v) (WENDLING; SOUZA JUNIOR, 2003), vermiculita média, casca de arroz carbonizada e casca de pínus (1:1:1 v/v/v) (WENDLING et al., 2007b), casca de arroz carbonizada e vermiculita média (1:1 v/v) (BRONDANI et al., 2008). Em estudo avaliando diferentes tipos de substrato na miniestaquia de erva-mate, Brondani et al. (2007) recomendaram 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. Os recipientes de cultivo mais aconselhados para a miniestaquia de erva-mate, principalmente em termos de manejo no sistema de produção de mudas clonais, são os tubetes cônicos de 55 cm³ a 110 cm³.

3.2.6. Ambiente de enraizamento

Independente da técnica empregada ser a estaquia ou a miniestaquia, o ambiente para o enraizamento inicial deve permitir a sobrevivência dos propágulos vegetativos, principalmente pelo controle da umidade relativa do ar e da temperatura. Wendling e Brondani (2006) e Brondani et al. (2007) avaliaram o enraizamento de miniestacas de origem seminal em dois tipos de estruturas: casa de vegetação automatizada, com umidade relativa do ar igual ou superior a 80% e temperatura entre 20 °C e 30 °C e casa de vegetação simples, onde somente a irrigação foi controlada, com microaspersões de 10 segundos em intervalos de 10 minutos, das 8h às 18h (Figura 2). Os resultados indicaram que, independente das variáveis analisadas, a casa de vegetação com controle de umidade e temperatura foi superior à casa de vegetação sem controle. Além disso, foi constatado elevado enraizamento em ambos os ambientes, em torno de 75%.

Em outro estudo, Brondani et al. (2008) não verificaram diferença significativa entre os clones de erva-mate quanto ao enraizamento, sendo que as médias variaram de 46,4% a 49,1%. Contudo, ao considerar o ambiente de enraizamento os autores verificaram maior enraizamento adventício em casa de vegetação automatizada, a qual favoreceu tanto o número de folhas quanto o número e comprimento das brotações emitidas das miniestacas. A miniestaquia de erva-mate foi considerada tecnicamente viável em ambos os ambientes de enraizamento testados, apresentando resultados semelhantes.

3.2.7. Aclimação, rustificação e adubação das mudas

Em termos de adubação, Brondani et al. (2007, 2008) adotaram na fase de aclimação até a fase de rustificação de miniestacas de erva-mate, adubações semanais de cobertura com 6 ml por muda da seguinte formulação: sulfato de amônio (4 g L^{-1}), superfosfato triplo (10 g L^{-1}), cloreto de potássio (4 g L^{-1}), e solução de micronutrientes (10 ml L^{-1}), composta por: 9% de Zn; 1,8% de B; 0,8% de Cu; 3% de Fe; 2% de Mn e 0,12% de Mo.

Apesar de todos os avanços proporcionados pela miniestaquia em termos de clonagem de matrizes de erva-mate selecionadas, alguns problemas relacionados com a dificuldade de enraizamento adventício e vigor radicial em determinados materiais genéticos ainda persistem. Para estes casos, quando se tratar de material genético de grande importância, torna-se necessário investigar alternativas relacionadas ao rejuvenescimento via miniestaquia e/ou enxertia seriada, bem como o rejuvenescimento *in vitro* via micropropagação, embora esta última técnica ainda não se encontre desenvolvida para erva-mate.

3.2.8. Sequência esquemática da técnica de miniestaquia

Visando facilitar o entendimento das etapas operacionais envolvidas na técnica de miniestaquia em erva-mate, será descrito uma sequência lógica e operacional do processo. Cabe reforçar que a técnica da miniestaquia pode ser iniciada com a utilização de brotações de mudas propagadas pelo método de estaquia ou de mudas produzidas por sementes como fonte de propágulos vegetativos. No entanto, para que se aproveitem todas as vantagens da propagação vegetativa, mudas oriundas de estaquia de matrizes selecionadas devem ser utilizadas para o início do processo e, conseqüentemente, a qualidade dos genótipos a serem multiplicados via miniestaquia depende da qualidade da seleção realizada na etapa da estaquia (ver item 3.1.7., subitem *Seleção da planta matriz*).

Formação do minijardim clonal

A etapa inicial de formação do minijardim consiste em podar o ápice da brotação da estaca enraizada, após esta ter passado pelo processo de aclimação em casa de sombra. Em intervalos de 20 a 50 dias haverá emissão de novas brotações, que são coletadas e postas para enraizar. Assim, a parte basal da brotação da estaca podada constitui uma minicepa, que fornecerá as brotações (miniestacas) para a formação das futuras mudas. O conjunto das minicepas forma um minijardim clonal. Após a obtenção das primeiras mudas, aplicando a técnica

de miniestaquia, é recomendável o plantio destas no minijardim, em substituição àquelas produzidas por estaquia, o que resultará em maiores índices de enraizamento e vigor de raízes das novas mudas a serem formadas por miniestaquia.

O minijardim clonal pode ser implantado em tubetes, vasos, sistema semi-hidropônico em areia (canaletão) ou bandejas no viveiro (Figura 11), dentro de estufas. Pelos resultados experimentais obtidos, o sistema semi-hidropônico é o mais indicado, pois apresenta maior produtividade, qualidade dos brotos e facilidade de manejo (Tabela 3).

Fotos: Ivar Wendling

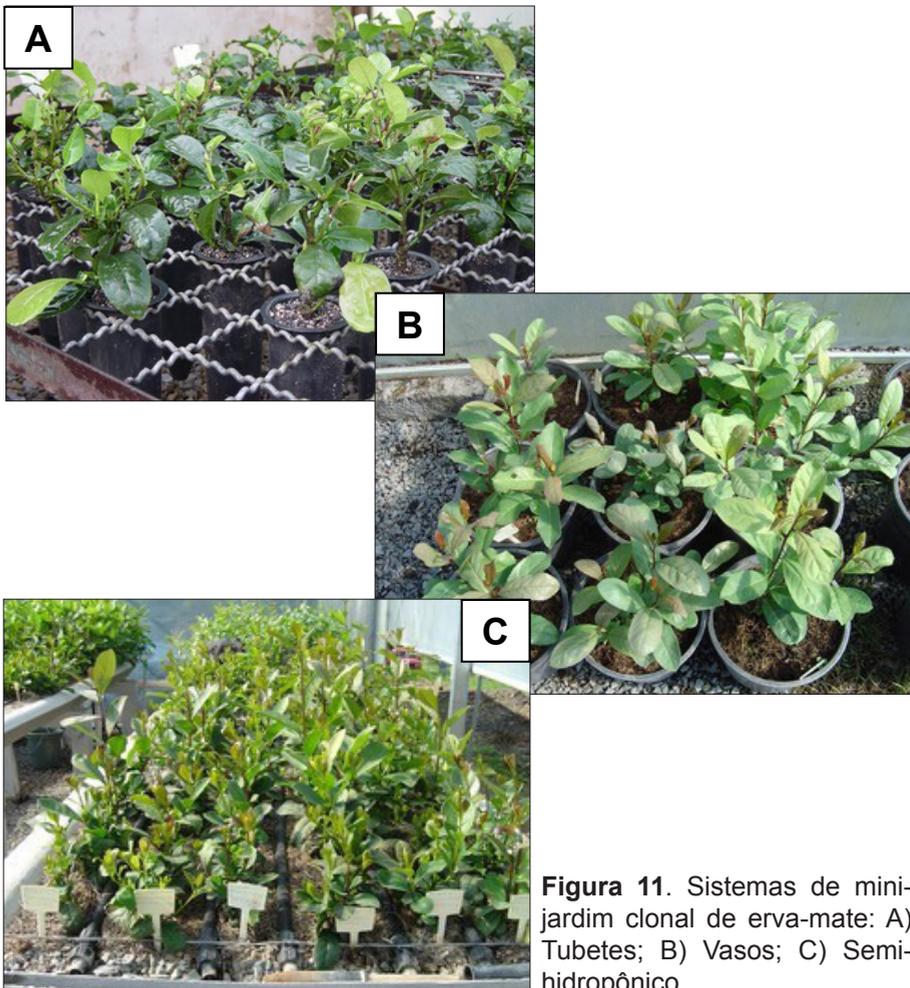


Figura 11. Sistemas de minijardim clonal de erva-mate: A) Tubetes; B) Vasos; C) Semi-hidropônico.

Tabela 3. Minijardim clonal: minicepas por metro quadrado (MC m⁻²), miniestacas produzidas por metro quadrado por mês (ME m⁻² mês⁻¹) e sobrevivência das minicepas após um ano de coletas (SOBMC).

Sistema de manejo	MC m ⁻²	ME m ⁻² mês ⁻¹	SOBMC (%)
Tubete médio ¹	125	150 a 200	98
Tubete grande ²	58	200 a 250	100
Saco plástico grande ³	100	150 a 200	100
Canaletão ⁴	70	300 a 750	98

¹Tubete de 110 cm³, substrato plantmax: vermiculita média (1:1); ²tubete de 310 cm³, substrato plantmax: vermiculita média (1:1); ³sacos plásticos de 15,0 cm x 10,0 cm, com terra de subsolo;

⁴areia média.

Coleta e transporte das brotações e preparo das miniestacas

A coleta de miniestacas no minijardim clonal é realizada de forma seletiva, em períodos a serem definidos conforme o vigor das brotações, colhendo-se todas aquelas que tenham, no mínimo, 5 cm de comprimento (Figura 12) e não se apresentem muito tenras.

As miniestacas são preparadas com 5 cm a 8 cm, contendo de um a três pares de folhas, as quais devem ser recortadas ao meio. Após preparadas, as miniestacas devem ser acondicionadas em recipientes com água, para que possam chegar ao local de enraizamento em perfeitas condições de turgor. O período entre o preparo e o estaqueamento das miniestacas no substrato, dentro da casa de vegetação, deverá ser o mais reduzido possível, sendo recomendados períodos inferiores a 15 minutos.

Fotos: Ivar Wendling



Figura 12. Coleta de miniestacas de erva-mate (acima) e miniestaca preparada (à direita).

Desinfestação das miniestacas e equipamentos

Tendo em vista a origem das miniestacas ser de ambiente razoavelmente protegido (estufa) e não do campo, como no caso da estaquia, não tem sido recomendada a sua desinfestação. Outro fator que contribui com a não necessidade de tratamentos de desinfestação das miniestacas é o fato das folhas das minicepas não serem molhadas durante as irrigações de gotejamento, dificultando o estabelecimento dos patógenos. A recomendação na miniestaquia é o acompanhamento pormenorizado das miniestacas na casa de vegetação, bem como, das minicepas no minijardim clonal, fazendo-se tratamentos curativos caso ocorra alguma doença.

Enraizamento, aclimação, crescimento e rustificação

As miniestacas são colocadas para enraizamento em casa de vegetação (permanência de 40 a 120 dias), seguindo, posteriormente, para a casa de sombra (permanência de 30 a 60 dias), para crescimento e aclimação, e, finalmente, para pleno sol, onde serão rustificadas para posterior plantio comercial. Os períodos de permanência das miniestacas em casa de vegetação e de sombra, conforme descrito anteriormente, dependem da época do ano, das condições climáticas no ambiente de propagação, do clone envolvido e do estado nutricional das miniestacas. Como a função da casa de sombra também é de acelerar o crescimento das mudas formadas, o tempo de permanência daquelas neste ambiente deve ser regulado com base na altura final das mudas para plantio definitivo, o que, em geral, não deve ultrapassar 1,5 vezes a altura do recipiente (Figura 13). Além disso, o sistema radicular deve ser vigoroso, tomando conta de todo substrato do recipiente. Em pleno sol o objetivo não é mais proporcionar o crescimento das mudas, porém somente sua rustificação, preparando-as para as condições ambientais adversas que irão encontrar no local de plantio definitivo.

Fotos: Ivar Wendling



Figura 13. Muda de erva-mate com padrão de altura (à esquerda) e sistema radicular (à direita) bom para plantio a campo.



Quanto a aplicação de hormônios promotores de enraizamento, recomenda-se concentrações de 0 (não aplicação) a 3.000 mg L⁻¹, variáveis em função do clone e da idade da planta matriz. Porém, essas concentrações devem ser avaliadas para cada clone, condição climática e manejo.

A miniestaquia a partir de brotações de mudas produzidas por sementes ao invés de mudas obtidas por estaquia (clonagem em nível de famílias) é uma ferramenta com potencial para melhoria da qualidade do produto final obtido, pois, mesmo que não se tenha certeza do genótipo a ser multiplicado, têm-se estimativas de superioridade das plantas matrizes, bem como, uma maior uniformidade dos plantios obtidos. Além disso, a clonagem de propágulos originários de mudas produzidas por sementes é importante no caso de se ter sementes caras, de qualidade genética superior e em pequena quantidade, além de possibilitar a produção de mudas durante todo o ano, sem dependência da semente.

Para facilitar a retirada das mudas dos recipientes sem danificar o sistema radicial, recomenda-se o plantio de 2 a 4 sementes de aveia nos mesmos, de 2 a 3 semanas antes, o que promove o crescimento de um vigoroso emaranhado de raízes, protegendo as raízes de erva-mate (Figura 9).

3.2.9. Fluxograma geral da técnica de miniestaquia de erva-mate

Visando facilitar a compreensão das etapas envolvidas na produção de mudas de erva-mate por miniestaquia, a Figura 14 apresenta uma sequência esquemática resumida do processo.

Fotos: Ivar Wendling

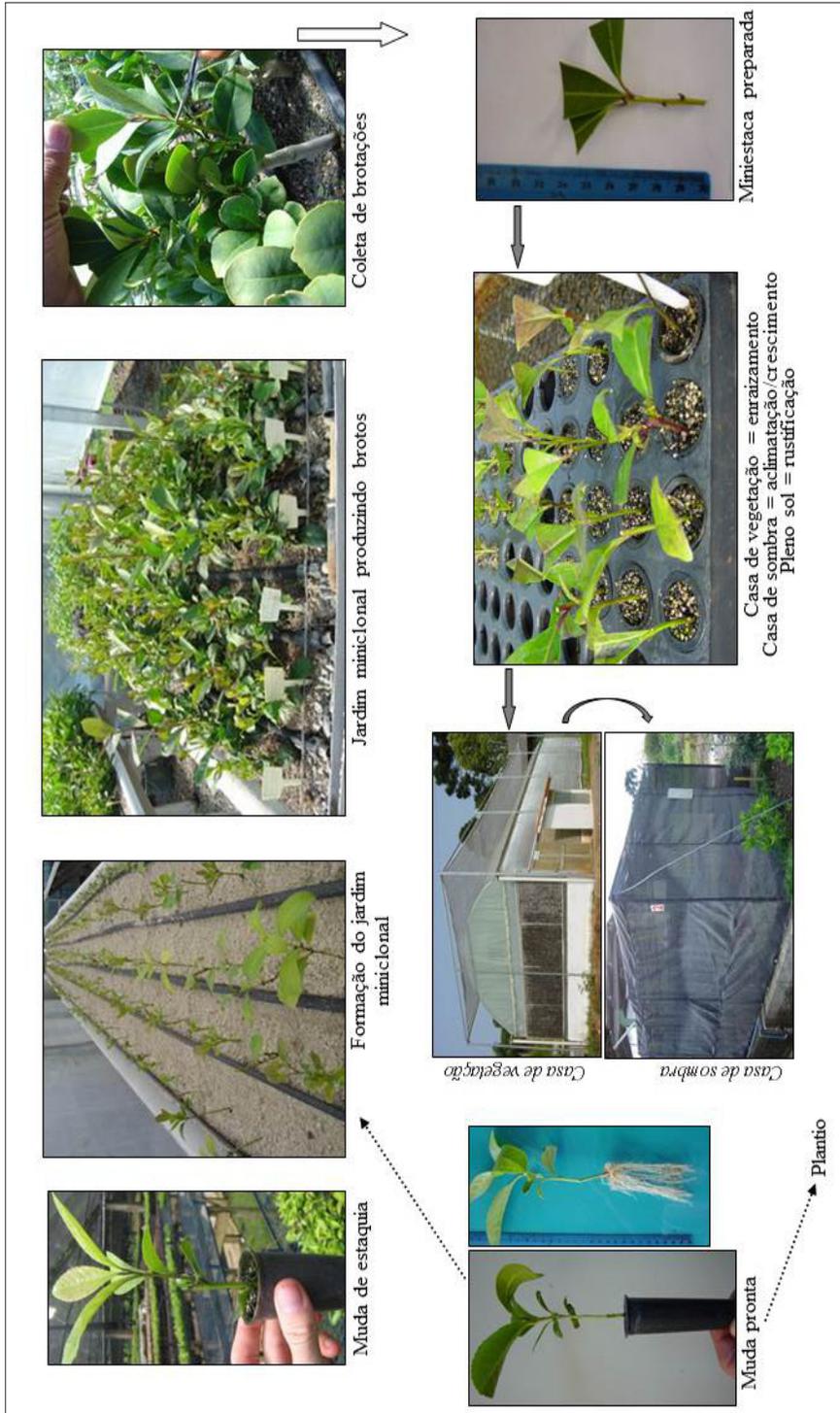


Figura 14. Fluxograma geral da técnica de miniestaqueia de erva-mate.

3.3. 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, de forma que as duas partes vegetativas passem a constituir apenas uma, embora em nível genotípico, cada uma delas mantenha sua individualidade (HARTMANN et al., 2011; ROCHA et al., 2002; XAVIER et al., 2013).

A porção vegetativa localizada abaixo da união, que representa o sistema radicial da planta enxertada, é denominada de porta-enxerto, cavalo ou hipobioto. A porção superior, a qual representa a parte aérea, é chamada de enxerto, cavaleiro ou epibioto (SIMÃO, 1971). O enxerto é a parte da planta que se pretende multiplicar (planta selecionada), ao passo que o porta-enxerto é, geralmente, representado por uma planta jovem vigorosa, proveniente de sementes ou de estacas e que apresente boa adaptabilidade e sistema radicial funcional (CÉSAR, 1975; HARTMANN et al., 2011).

Dentre as várias aplicações da enxertia na área florestal, Xavier et al. (2013) destacam: 1) perpetuação de clones que não podem ser propagados economicamente ou mantidos por outros métodos assexuados; 2) manutenção das características genéticas da planta que se quer multiplicar; 3) pode propiciar floração e frutificação precoces; 4) resistência a certas doenças e pragas em função do porta-enxerto; 5) formação de pomares de produção de sementes; 6) obtenção de formas especiais no crescimento da planta; 7) restauração de plantas, substituindo a copa; 8) possibilidade de fixação de híbridos; 9) possibilidade de transformar plantas estéreis em produtivas, inoculando-lhes ramos ou gemas frutíferas; 10) como técnica de resgate vegetativo de genótipos selecionados, visando atender aos objetivos de clonagem, principalmente para aqueles que não possuem a capacidade de emitir brotações basais ou que não podem ser podados drasticamente; 11) como técnica de rejuvenescimento de clones.

3.3.1. Estudos com enxertia de erva-mate

Os primeiros trabalhos com enxertia de erva-mate foram realizados por Niklas (1990), o qual não obteve sucesso com a técnica de borbulhia (enxerto de gema). Entretanto, a garfagem em agosto resultou em até 80% de pegamento quando, logo após a enxertia, o garfo era coberto com saco de polietileno. Oliszeski e Neiverth (2002) avaliaram o método de garfagem e a mergulhia. Segundo os autores, o melhor resultado foi obtido com a garfagem, onde obtiveram 80% de pegamento em condições de viveiro. Além disso, o método da mergulhia obteve 50% de pegamento em árvores de cinco anos e foi descartado devido à dificuldade de efetuá-lo em erveiras nativas adultas. Outros estudos também concluíram que a enxertia por garfagem é a que apresenta melhores resultados em erva-mate. Inúmeros fatores podem influenciar para o sucesso da cicatrização, como a juvenilidade dos propágulos, temperatura, luminosidade, época do ano, compatibilidade entre os tecidos e a aplicação de substâncias antioxidantes (BITENCOURT, 2009; DOMINGOS; WENDLING, 2006; FERRARI; WENDLING, 2004; WENDLING, 2004; WENDLING et al., 2004, 2009; WENDLING; HOFFMANN et al., 2005).

A enxertia por garfagem em fenda cheia apresentou os melhores resultados em campo, não sendo evidenciadas diferenças significativas em relação ao local de origem do propágulo dentro da planta matriz (WENDLING et al., 2004). Contudo, apesar da técnica ser viável para aplicação em campo, pode apresentar comportamento distinto quanto à porcentagem de sobrevivência dos enxertos após 90 dias e quanto ao crescimento dos brotos das plantas enxertadas (DOMINGOS; WENDLING, 2006). Em outro estudo, Wendling et al. (2009) reforçaram a aplicabilidade da enxertia em árvores adultas decepadas no campo, indicando que tanto a idade das plantas matrizes quanto o local de coleta dos enxertos dentro das mesmas são importantes fatores no pegamento da enxertia. Tratamentos adicionais com o uso de substâncias antioxidantes, como o ácido cítrico, também podem

apresentar efeitos positivos na cicatrização dos tecidos, aumentando inclusive a taxa de sobrevivência dos enxertos (FERRARI; WENDLING, 2004).

Santin et al. (2014b) avaliaram a enxertia seriada de erva-mate em viveiro e campo e concluíram que dois subcultivos resultam em maiores taxas de sobrevivência e vigor na enxertia de erva-mate. Além disso, a sobrevivência e o vigor dos enxertos são favorecidos quando a enxertia é realizada em campo (32% superior ao viveiro) e, principalmente, quando os propágulos são oriundos de matrizes fêmeas.

3.3.2. Sequência esquemática da técnica de enxertia por garfagem

Visando facilitar o entendimento das etapas operacionais envolvidas na técnica de enxertia por garfagem em erva-mate, será descrito a seguir uma sequência operacional do processo. A enxertia recomendada para erva-mate é a de garfagem em fenda cheia no topo do cavalo.

Seleção da planta matriz e formação dos porta-enxertos

A seleção correta das plantas matrizes que servirão de base para a formação das plantas enxertadas é de suma importância para a qualidade das mudas produzidas. Os critérios e cuidados para a seleção de uma planta matriz para obtenção de propágulos para a enxertia são os mesmos daqueles descritos para estaquia (ver subitem “*Seleção da planta matriz*”, do item 3.1.7. *Sequência esquemática da técnica de estaquia*).

Os porta-enxertos normalmente são formados a partir de mudas propagadas via sementes, embora o uso de mudas propagadas por estaquia ou miniestaquia também seja recomendado.

Coleta e transporte das brotações

Se a enxertia objetiva a formação de plantas aptas à produção precoce de sementes, deve-se retirar os brotos (enxertos) da parte mais alta da copa da planta matriz (Figura 15) e, caso o objetivo for o de resgate para a posterior produção de mudas por estaquia e/ou miniestaquia, deve-se preferir brotações mais próximas à base da planta, utilizando-se procedimentos e cuidados similares aos apresentados para a técnica de estaquia, item 3.1.7. *Sequência esquemática da técnica de estaquia*, subitem *Resgate da planta matriz*.

As brotações devem ser coletadas pela manhã ou em dias chuvosos / nublados, sendo acondicionadas em local protegido para seu transporte até o local da enxertia. A forma mais recomendada de transporte é em caixa de isopor com gelo ao fundo, recoberto com jornal umedecido (Figura 15), situação em que se consegue armazenar as brotações por até dois dias sem efeitos negativos sobre a enxertia. É importante observar que não deverá haver contato das brotações diretamente com o gelo, evitando queima das mesmas. O envolvimento das brotações em panos úmidos, dentro de sacos plásticos, também pode ser adotado.

Foto: Delmar Santin



Foto: Ivar Wendling



Figura 15. Coleta (acima) e transporte (à direita) de brotações de erva-mate para enxertia.

Locais e estruturas para realização da enxertia

A enxertia de erva-mate pode ser realizada em viveiro ou diretamente em campo em porta-enxertos previamente estabelecidos para este fim. A enxertia em campo é a mais recomendada, visto que tem resultado em maiores índices de pegamento e maior rapidez e vigor de crescimento dos enxertos após seu pegamento.

No caso da enxertia de viveiro, os enxertos devem ser colocados em casa de sombra ou outro ambiente sombreado para seu pegamento, com sombreamento em torno de 50% a 80%, obtido com o uso de sombrite ou outro material adequado (Figura 16). É recomendada a colocação de cobertura plástica sobre a casa de sombra com o intuito de evitar os efeitos adversos das baixas temperaturas nos enxertos em formação. Após o pegamento dos enxertos, a sombra deverá ser gradativamente removida, visando à aclimação das plantas enxertadas.

Antes de os enxertos serem plantados no local definitivo, deverão sofrer um processo de rustificação a pleno sol, visando sua preparação para o plantio definitivo. Nesta fase, as mudas devem ser rustificadas, diminuindo-se a irrigação.

Foto: Ivar Wendling



Figura 16. Enxertos em ambiente sombreado após a enxertia.

O processo da enxertia por garfagem

A enxertia por garfagem em fenda cheia no topo do cavalo consiste em decepar o porta-enxerto (altura variável conforme o vigor e lignificação) e neste fazer uma fenda central de 3 cm a 5 cm no sentido longitudinal, para encaixe do enxerto (Figura 17A), o qual deve ser preparado em forma de cunha (Figura 17B). O enxerto deve ter, no mínimo, três gemas (tamanho ao redor de 10 cm) e pelo menos um par de folhas, recortadas pela metade (Figura 17C). A época mais indicada para a enxertia é o inverno, embora resultados significativos também possam ser obtidos na primavera, desde que se tenham cuidados redobrados contra o excesso de calor.

Fotos: Ivar Wendling

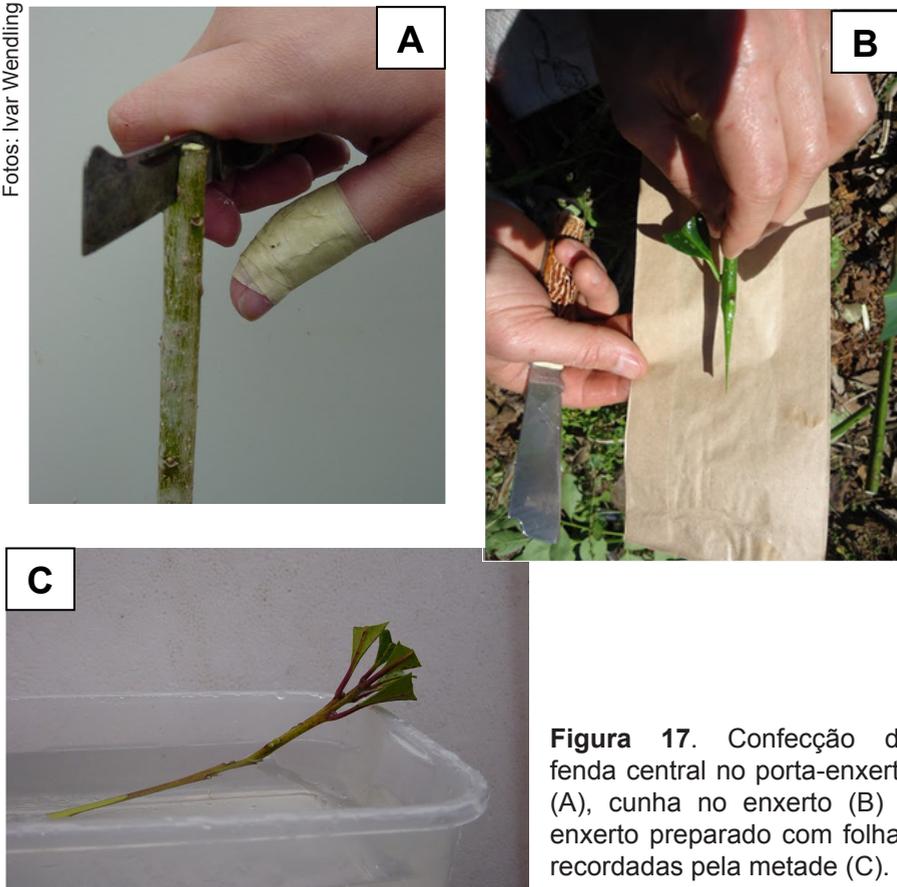


Figura 17. Confeção da fenda central no porta-enxerto (A), cunha no enxerto (B) e enxerto preparado com folhas recordadas pela metade (C).

Após a preparação das duas partes, deve-se inserir o enxerto dentro da cunha do porta-enxerto (Figura 18A), tomando-se o cuidado de haver coincidência das cascas (câmbio) de pelo menos um dos lados. A união deve ser firmemente amarrada, para garantir a soldadura e calejamento de ambas as partes, garantindo o sucesso da técnica. Para a amarração podem ser usados diversos materiais, sendo o mais recomendado o fitilho de plástico de 1,2 cm de largura (Figuras 18B e C), que permite certa expansão com o aumento do diâmetro do enxerto, evitando a ocorrência de “enforcamento”. É também recomendado o uso de fitilhos biodegradáveis, uma vez que não necessitam ser removidos do enxerto.

Fotos: Ivar Wendling

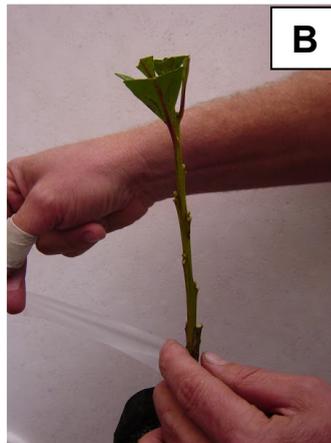


Figura 18. Cunha inserida dentro do porta-enxerto (A) e amarração com fitilho (B e C).

Após a enxertia deve-se cobrir o enxerto com um saco plástico (Figura 19) para minimizar a perda excessiva de umidade do enxerto. Caso a enxertia seja realizada diretamente em porta-enxertos estabelecidos em campo, além do saco plástico, deve ser colocado também um saco de papel pardo (Figura 19), visando propiciar melhor pegamento em vista do sombreamento proporcionado.

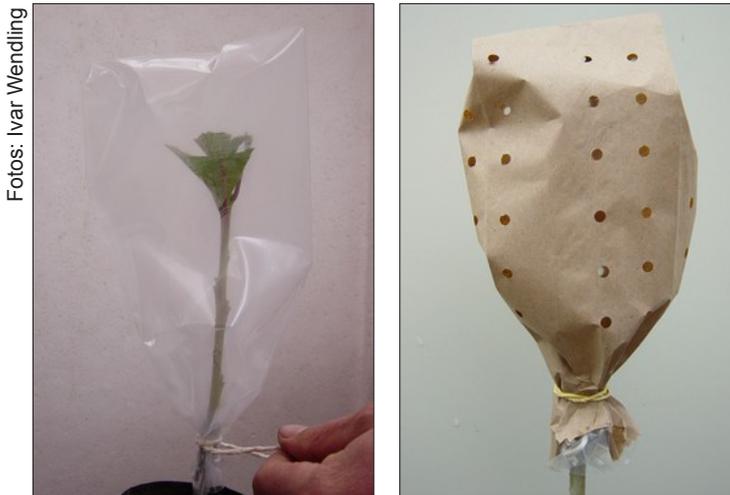


Figura 19. Enxerto coberto com um saco plástico, para minimizar a perda de umidade (à esquerda) e coberto também com um saco de papel para proporcionar sombreamento na enxertia em campo (à direita).

Cuidados e tratamentos culturais pós-enxertia

No caso da enxertia em campo, os sacos de papel devem ser parcialmente retirados quando os enxertos apresentarem brotações de, no mínimo, 3 cm de comprimento, ou seja, ao redor de 50 a 70 dias após a enxertia. No momento da retirada parcial dos sacos de papel, deverá ser feita uma abertura dos sacos plásticos visando a aclimação. Os dois tipos de sacos deverão ser completamente retirados 10 a 20 dias após. Durante todo o processo de enxertia deve ser realizada a retirada das brotações dos porta-enxertos. Os filhotes devem ser retirados quando se perceber o crescimento da união enxerto e porta-enxerto, ou seja, ao redor de 90 a 120 dias após a enxertia.

Fatores que influenciam o sucesso da enxertia

Para que a enxertia tenha sucesso, alguns requisitos básicos devem ser observados. Deve ser respeitada certa semelhança em relação à morfologia e consistência dos tecidos entre enxerto e porta-enxerto. Plantas com tecidos lenhosos são incompatíveis com as de tecidos herbáceos e as plantas devem ser, tanto quanto possível, semelhantes morfológicamente e vigorosas, para melhor harmonizar o desenvolvimento. De modo geral, a enxertia é mais bem sucedida em plantas vigorosas, onde a cicatrização (soldadura) torna-se mais fácil.

A época do ano, temperatura, umidade, ventos e outros fatores ambientais influenciam o sucesso da enxertia e são básicos para a escolha da melhor época para a sua realização. Para erva-mate, a melhor época tem sido durante o inverno até o momento em que as gemas iniciam o processo de brotação. Os materiais (fitilho, sacolas plásticas, etc.) e instrumentos (canivetes, tesoura de poda, etc.) utilizados na execução da enxertia devem ser os mais adequados possível, sempre bem limpos e afiados. A habilidade do enxertador constitui-se em um dos principais fatores de sucesso da enxertia. O enxertador deve ser muito cuidadoso, trabalhar sempre com ferramentas bem afiadas, executar os cortes com firmeza, para deixá-los lisos e sem dilaceração dos tecidos, praticar a operação com rapidez para evitar exposição dos cortes e apertar o amarrilho firme e uniformemente.

3.3.3. Fluxograma geral da enxertia por garfagem em erva-mate

Visando facilitar a compreensão das etapas envolvidas na produção de mudas de erva-mate por enxertia por garfagem em fenda cheia no topo do cavalo diretamente em campo, a Figura 20 apresenta uma sequência esquemática resumida do processo.

Fotos: Ivar Wendling e Delmar Santin

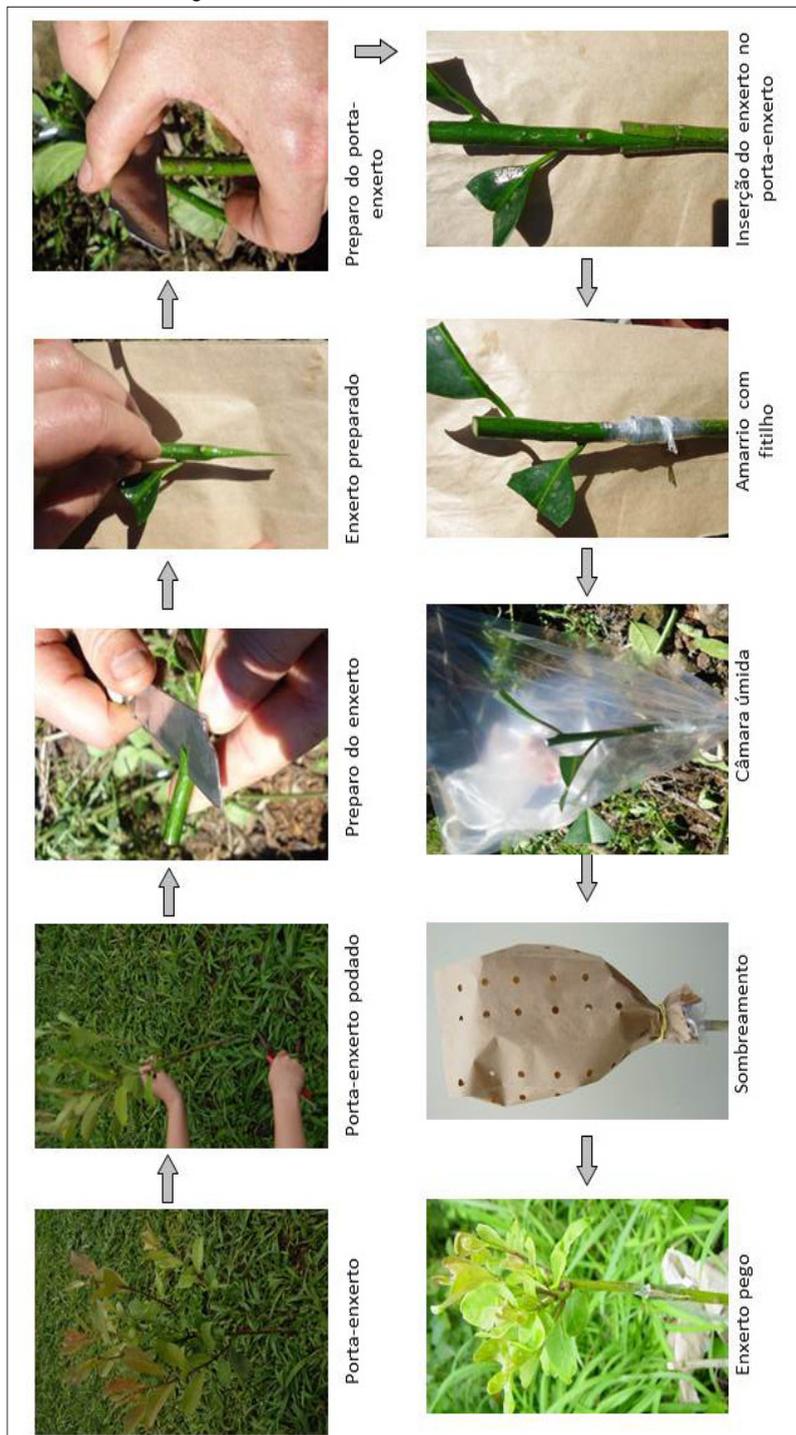


Figura 20. Fluxograma geral da técnica de enxertia por garfagem em fenda cheia no topo do cavalo diretamente em campo para erva-mate.

3.3.4. Enxertia de substituição de copa

A enxertia de substituição de copa, também conhecida por sobre-enxertia ou substituição da parte aérea é a operação que tem por finalidade o aproveitamento de plantas já formadas, com alteração da variedade da copa (PINHEIRO et al., 1988). O seu emprego mostra-se indicado para plantas de idade não muito avançada e sadias ou para plantas com problemas na parte aérea ou parte aérea sem interesse. Com a substituição de copa se ganha tempo, pois o porta-enxerto se encontra perfeitamente implantado, e as produções se tornam mais precoces. É uma técnica também muito importante no resgate de plantas matrizes adultas, visto que o crescimento dos enxertos resultantes é muito rápido.

Em erva-mate a enxertia de substituição de copa foi desenvolvida por Wendling et al. (2009), com enxertos coletados de árvores matrizes com idade de 10 anos até acima de 80 anos, observando-se a posição apical, mediana e basal dos enxertos dentro da planta matriz. Os autores concluíram que a enxertia de substituição de copa de erva-mate diretamente em campo é tecnicamente viável e que melhores taxas de pegamento são obtidas em árvores mais novas e com brotações apicais. Além disso, observaram que as matrizes apresentam respostas diferenciadas quanto ao pegamento.

Para a formação dos porta-enxertos, decepa-se a copa da árvore indesejável a 10-15 cm do solo com corte inclinado, deixando-se brotar de 3 a 4 ramos, sobre os quais, de 3 a 5 meses após, se fará a enxertia do material desejado (Figura 21). No caso de haver plantas indesejáveis com brotações de base aptas para serem porta-enxertos, pode-se realizar a enxertia logo após a decepa. Outra opção no caso de não haver brotações basais prévias é o uso do anelamento visando uma indução de brotações da base das plantas, previamente ao seu corte raso (SANTIN et al., 2008b).

Fotos: Ivar Wendling



Figura 21. Decepa da árvore indesejável (à esquerda) e com brotação apta para enxertia de substituição de copa em erva-mate após o corte (à direita).

Sugere-se que o procedimento de decepa seja realizado durante o inverno, época de dormência das plantas, resultando em maior percentual de brotações, embora outras épocas também possam ser utilizadas, caso haja necessidade. Os procedimentos de enxertia são os mesmos apresentados no item 3.3.2. *Seqüência esquemática da técnica de enxertia por garfagem* (Figura 22).



Figura 22. Enxerto realizado sobre brotação da árvore indesejável decepada (à esquerda) e protegido contra insolação com papel pardo (à direita).

3.3.5. Mini enxertia

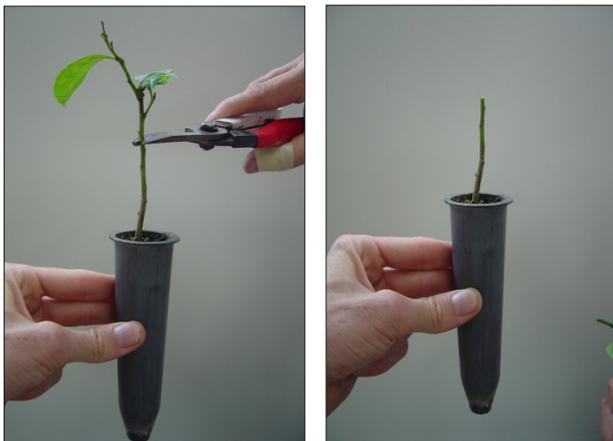
A mini enxertia é uma variação da enxertia tradicional por garfagem, variando desta pelo fato de ser feita com porta-enxertos mais novos e a fase inicial do processo ser realizada em casa de vegetação (HORBACH et al., 2006; WENDLING; HOFFMAN, 2005). O processo de mini enxertia ora apresentado foi desenvolvido e está descrito em Wendling e Hoffman (2005).

Os porta-enxertos, com diâmetros variando de 2 mm a 6 mm, podem ser produzidos em sacos ou tubetes de plástico a partir de sementes. As brotações da planta matriz são coletadas, de preferência, pela manhã, e transportadas em caixa de isopor sobre uma camada de gelo recoberto por papel umedecido. Outra alternativa é o transporte em baldes com água, onde as brotações deverão ter suas bases imersas. As brotações deverão ficar armazenadas em local sombreado, com as folhas mantidas úmidas por irrigações finas e frequentes. As brotações não devem ser armazenadas por mais de 24h.

Para melhores resultados de sobrevivência, a minienxertia deve ser realizada em local sombreado e protegido de ventos. O sucesso da técnica depende em muito da qualidade dos materiais, do seu estado de limpeza e da sua conservação geral. A fixação dos enxertos nos porta-enxertos pode ser feita usando-se canudinhos de plástico ou grampos de cabelo.

Para o uso de canudinhos, os procedimentos são descritos e ilustrados a seguir:

Fotos: Ivar Wendling



a) Poda do porta-enxerto: a poda deverá ser realizada entre 5 cm a 15 cm de altura do porta-enxerto, dependendo da grossura do enxerto. É aconselhável que os diâmetros do enxerto e porta-enxerto sejam similares.

Foto: Ivar Wendling



b) Colocação do canudinho: deverá ser colocado sobre o porta-enxerto, englobando o mesmo. O diâmetro do canudinho deverá ser variável em função do diâmetro do porta-enxerto, para que faça uma leve pressão, visando melhor fixação do enxerto com o porta-enxerto.

Foto: Ivar Wendling



c) Fenda no porta-enxerto: é aberta uma fenda de cima para baixo, com aproximadamente 1 cm de profundidade, a partir do centro do caule do porta-enxerto.

Foto: Ivar Wendling



d) Preparação do enxerto: deverá ser recortado em forma de cunha, ou seja, com cortes nos dois lados. Caso não seja inserido no porta-enxerto imediatamente após seu preparo, deverá ser mantido em água pura para que não oxide.

Fotos: Ivar Wendling



e) Fixação: após a colocação do enxerto no porta-enxerto, o canudinho deverá ser puxado para cima, cobrindo firmemente a união.



Fotos: Ivar Wendling



f) Acondicionamento: os minienxertos preparados deverão ser mantidos em casa de vegetação, ou seja, em ambiente com alta umidade relativa do ar. Neste ambiente os enxertos deverão permanecer até que se verifique a indução de brotações, com, no mínimo, 1 cm de comprimento, e um bom calejamento da união do enxerto com o porta-enxerto.



Foto: Ivar Wendling



g) Aclimação: depois de verificada a indução de brotações e um bom calejamento da união do enxerto com o porta-enxerto, os minienxertos deverão ser aclimatados em casa de sombra. Nesta, deverão permanecer durante, no mínimo, duas semanas, sendo posteriormente repassados para uma área a pleno sol, onde completarão seu crescimento e rustificação final.

Fotos: Ivar Wendling



h) Manejo dos minienxertos: durante toda fase de pegamento e aclimação dos minienxertos deverão ser retiradas as brotações do porta-enxerto. Após sua saída da casa de vegetação, poderão receber adubações de cobertura. O canudinho de fixação deverá ser retirado quando iniciar o estrangulamento.

No caso da fixação dos enxertos com os porta-enxertos utilizando grampo de cabelo todos os procedimentos são similares aos descritos anteriormente, com exceção feita para a colocação do canudinho que é substituído pelo grampo, sendo este colocado após a inserção do enxerto sobre o porta-enxerto.

3.4. Micropropagação

A micropropagação consiste basicamente no cultivo de células de plantas, tecidos ou órgãos diferenciados (caule, broto, gema ou raiz) em meio nutritivo apropriado e em condições controladas de laboratório (GEORGE et al., 2008). 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). Entretanto, segundo Bonga e Aderkas (1992) e Xavier e Wendling (1998), o uso da micropropagação na produção comercial de mudas de espécies florestais ainda não se justificou técnica e economicamente, embora Ratnieks e 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, o alto custo, a variação das condições de cultura entre e dentro de clones e a dificuldade de encontrar o meio adequado para a espécie desejada (GEORGE et al., 2008). 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). Para erva-mate, esta técnica tem merecido especial atenção, visando ao seu desenvolvimento, de forma semelhante aos resultados obtidos para *Eucalyptus* (TITON, 2001; WENDLING, 2002).

3.4.1. Estabelecimento *in vitro*

O desenvolvimento de técnicas de resgate de material adulto de erva-mate 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* (LUNA et al., 2013; WENDLING, 2004). Contudo, um dos principais entraves ao desenvolvimento de protocolos eficientes de propagação clonal *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. Esse efeito pode ser verificado em estudo realizado por Dutra e Silva (2009), onde os autores não verificaram diferença significativa entre diferentes meios de cultura utilizados para o estabelecimento de segmentos nodais *in vitro*, porém, ocorreu elevada taxa de contaminação (bacteriana e fúngica) e a porcentagem máxima de estabelecimento foi de apenas 5,25%.

Devido a essa dificuldade de estabelecimento, a maioria dos trabalhos referentes ao cultivo *in vitro* de erva-mate tem se limitado ao cultivo de embriões zigóticos (FERREIRA et al., 1991; FERREIRA; SILVEIRA, 1992; HORBACH et al., 2011; HU et al., 1978; REY et al., 2002), cultura de suspensão de células (KRAEMER et al., 2002) e de segmentos nodais oriundos de mudas produzidas por semente, ou seja, materiais juvenis (KRYVENKI, 1997; MROGINSKI et al., 1997; SANSBERRO et al., 1997a, 1997b, 1998, 1999, 2001; ZANIOLO; ZANETTE, 2001).

Rey e 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 multiplicaram (recalcitrância *in vitro*). Contudo, Stachevski et al. (2013) estabeleceram explantes foliares *in vitro* coletados de plantas de erva-

mate cultivadas em vasos sob condições de casa de vegetação. O protocolo de assepsia consistiu na imersão das folhas em solução de fungicida tiofanato-metílico a 1g L^{-1} por 10 minutos, seguida de imersão em 0,05% de HgCl_2 por 5 minutos e 5% de NaClO por 20 minutos, sendo então lavadas três vezes em água destilada e autoclavada. Os explantes foliares apresentaram resposta organogênica quanto ao meio de cultura, sendo que o meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) foi o mais eficiente para a indução de calos e o WPM (LLOYD; MCCOWN, 1981), para a rizogênese. Apesar do HgCl_2 ter sido utilizado como composto químico, visando eliminar microorganismos para a introdução *in vitro*, o seu uso não é aconselhado, devido à natureza tóxica, sendo possível substituir por outros compostos químicos com efeitos semelhantes para a desinfestação de explantes (BRONDANI et al., 2012b, 2013; LUNA et al., 2013).

3.4.2. Meio de cultura e regulador de crescimento

Os meios de cultura mais utilizados para o cultivo *in vitro* de erva-mate tem sido o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e o WPM (Wood Plant Medium, LLOYD; MCCOWN, 1981), os quais são suplementados com diferentes reguladores de crescimento vegetais e variam em relação à concentração de sais minerais e vitaminas (DUTRA; SILVA, 2009; HORBACH et al., 2011; MROGINSKI et al., 1997; REY; MROGINSKI, 1988; SANSBERRO et al., 1998, 1999; ZANIOLO; ZANETTE, 2001;).

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 naftalenoacético (ANA). Porém, 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, mantidas em condições de estufa, e sejam cultivados em $\frac{1}{4}$ MS sem o emprego de reguladores de crescimento. 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 possível, portanto, induzir sua brotação.

Sansberro et al. (1998) verificaram que concentrações reduzidas de BAP ($4,4 \cdot 10^{-8}$ M), KIN ($4,6 \cdot 10^{-8}$ M), ZEA ($4,5 \cdot 10^{-8}$ M) e 2iP ($4,9 \cdot 10^{-8}$ M) promoveram o crescimento embrionário. O TDZ ($9,9 \cdot 10^{-9}$ M; $9,9 \cdot 10^{-8}$ M ou $9,9 \cdot 10^{-7}$ M) induziu taxas de crescimento embrionário similares. Apesar das taxas de crescimento obtidas, a percentagem máxima de embriões convertidos em plantas foi alcançada quando o meio foi suplementado com ZEA ($4,5 \cdot 10^{-7}$ M). No entanto, devido aos baixos índices de regeneração, serão necessários novos estudos para aumentar a frequência de regeneração de plantas completas a partir de embriões imaturos de erva-mate.

Em outro estudo, Sansberro et al. (1999) demonstraram que as técnicas de cultivo *in vitro* podem ser usadas para propagar plantas de erva-mate. Os autores recomendaram o meio de cultura $\frac{1}{4}$ MS suplementado com $4,4 \mu\text{M}$ de BA seguido de seis semanas de subcultivo para obtenção de brotações múltiplas. Zaniolo e Zanette (2001) registraram as maiores taxas de multiplicação de gemas em explantes de erva-mate durante três subcultivos em meio WPM suplementado com $8,87 \mu\text{M}$ de BAP. Recentemente, Horbach et al. (2011) definiram protocolo de micropropagação de erva-mate a partir de embriões zigóticos com o uso do meio $\frac{1}{4}$ MS suplementado com $8,88 \mu\text{M}$ de BAP, promovendo o maior número e comprimento de brotações adventícias.

3.4.3. Enraizamento e aclimatização

A fase de enraizamento e aclimatização das mudas micropropagadas (microplântulas) pode limitar o sucesso da micropropagação de uma espécie florestal, por serem consideradas as fases finais e de maior dificuldade (GEORGE et al., 2008).

Os protocolos de enraizamento e aclimatização para erva-mate diferem em termos de operacionalidade. Mroginski et al. (1997) salientam que explantes juvenis de erva-mate podem ser enraizados em $\frac{1}{4}$ MS, mais 1 mg L^{-1} de ácido indolbutírico (AIB). Quando os explantes são oriundos de plantas adultas o percentual de enraizamento geralmente é reduzido. Sansberro et al. (1999) enraizaram microplântulas de erva-mate em $\frac{1}{4}$ MS suplementado com $7,4 \text{ }\mu\text{M}$ de AIB, seguido de transferência em 10 dias para $\frac{1}{4}$ MS isento de reguladores de crescimento. As microplântulas enraizadas foram transferidas para potes contendo perlita, turfa e areia (1:1:1 v/v/v) onde observaram 70% de aclimatização. Zaniolo e Zanete (2001) enraizaram brotações de erva-mate em $\frac{1}{2}$ WPM suplementado com $14,7 \text{ }\mu\text{M}$ de AIB em 12 dias, seguindo para outro meio de cultura com $\frac{1}{2}$ WPM isento de regulador de crescimento e contendo 1 g L^{-1} de carvão ativo. Horbach et al. (2011) enraizaram *in vitro* ápices caulinares de erva-mate em 30 dias de cultivo em meio $\frac{1}{4}$ MS, acrescido de $7,38 \text{ }\mu\text{M}$ de AIB. As microplântulas apresentaram alta porcentagem de sobrevivência durante a aclimatização, obtendo plantas com elevado vigor.

Contudo, esses protocolos tem 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, uma vez que poderiam maximizar a micropropagação de erva-mate, principalmente por realizar o enraizamento e aclimatização ao mesmo tempo, com redução de custos, além da necessidade de menor número de repicagens das mudas.

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 a propagação *ex vitro* de materiais adultos da

espécie e resultando no desenvolvimento da técnica de microestaquia (enraizamento *ex vitro*), a qual, segundo Xavier e Comério (1997), é uma maximização da micropropagação. Aliado a isto, torna-se necessário avaliar outros métodos de resgate de indivíduos adultos selecionados previamente à sua introdução *in vitro*, como a enxertia (DOMINGOS; WENDLING, 2006; OLISZESKI; NEIVERTH, 2002; WENDLING et al., 2009), brotações epicórmicas, brotações basais (ROSA et al., 2003; SANTIN et al., 2008b; WENDLING et al., 2013), entre outras, uma vez que existem materiais genéticos de erva-mate nos quais não se consegue obter enraizamento pela técnica de estaquia convencional.

3.5. Avaliação em campo de mudas produzidas por propagação vegetativa

Para qualquer tecnologia de propagação, um dos passos mais importantes é a avaliação do crescimento e desenvolvimento das mudas em campo. No caso da erva-mate, a avaliação da produtividade e qualidade comparativa de mudas produzidas por propagação sexuada e vegetativa é de fundamental importância para a validação da silvicultura clonal da espécie.

Um dos primeiros estudos neste sentido foi realizado por Belingheri e Prat Krikun (1994), que avaliaram a produtividade e sobrevivência em 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 sexualmente. Assim sendo, pode-se atribuir como possível causa da baixa performance dos clones em campo no estudo de Belingheri e Prat Krikun (1994) a problemas fisiológicos (como por exemplo, vigor do sistema radicular das mudas formadas) associados à 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).

Segundo Greenwood e 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 radicial. 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 juvenilidade dos propágulos no vigor do sistema radicial.

Resende et al. (2000) foram os primeiros a avaliar clones de erva-mate em campo no Brasil, com experimento instalado em 1995, em Colombo, PR. Os autores avaliaram a produção de massa verde de 7 clones masculinos e 6 femininos na primeira poda de produção (55 meses). A produção de massa verde variou de 7.000 kg ha⁻¹ a 13.500 kg ha⁻¹, o que pode ser considerado bom em termos de produtividade para a espécie.

Santin et al. (2014a) avaliaram a produtividade comercial de duas colheitas (2008 e 2010) de teste estabelecido em 2005 com clones propagados por miniestaquia de material juvenil (procedências) em comparação com sementes, no Município de São Mateus do Sul, PR (Tabela 4). Os autores concluíram que os métodos de propagação não influenciaram a sobrevivência e as plantas propagadas por miniestaquia produziram mais erva-mate comercial na segunda colheita (em média 13,4 t ha⁻¹), quando comparadas às mudas propagadas por sementes (em média 10,7 t ha⁻¹). Neste mesmo experimento, na terceira avaliação (2012), concluiu-se que não houve diferença entre os métodos de propagação e, na quarta avaliação (2013), plantas propagadas por miniestaquia novamente produziram mais erva-mate comercial (em média 21,6 t ha⁻¹), quando comparadas às mudas propagadas por sementes (em média 17,6 t ha⁻¹) (dados não publicados).

Tabela 4. Produtividade de massa verde de erva-mate comercial em erval estabelecido com mudas propagadas por miniestaquia e por sementes.

Procedência/ material ¹	Produtividade de erva-mate comercial verde ²			
	2008 ³	2010 ³	2012 ⁴	2013 ⁴
	----- t ha ⁻¹ -----			
Semente	1,5 A	10,7 C	15,6 AB	17,6 C
ME-BI	1,6 A	12,8 B	14,5 B	20,4 B
ME-PI	1,8 A	13,3 AB	15,1 B	21,6 AB
ME-SMS	1,8 A	14,0 A	16,5 A	22,9 A

¹Mudas propagadas por miniestaquia (ME) em nível de progênies oriundas de três procedências, sendo: BI = Bituruna, PI = Pinhalão e SMS = São Mateus do Sul; ²colheita de 2008 realizada 36 meses após o plantio, colheitas de 2010, 2012 e 2013 realizadas, respectivamente, com intervalos de 24, 18 e 18 meses. ³Santin et al., (2014a) e ⁴dados não publicados. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre procedências para o mesmo ano de colheita ao nível de 5% de probabilidade.

Em agosto de 2012 foi estabelecido um teste clonal em São Mateus do Sul, PR, com 5 clones machos, 11 clones fêmeas e mudas de vários clones na forma de mistura (misto clones), obtidos de árvores adultas de mais de 80 anos, selecionadas em campo com base em produtividade e qualidade. Estas matrizes foram resgatadas via enxertia de campo e estaquia e multiplicadas em escala comercial via miniestaquia. Como testemunha, foram plantadas mudas de sementes de 5 materiais genéticos diferentes. Na primeira poda (poda de formação), realizada aos dois anos após o plantio (agosto de 2014), o teste mostrou desempenho excepcional, comparado com mudas produzidas por semente (testemunha), com alta sobrevivência e excelente crescimento (Figura 23). Avaliações de produção de massa foliar, embora ainda precoces, indicam um bom comportamento dos clones avaliados, principalmente, dos clones fêmeas (Tabela 5).

Foto: Ivar Wendling



Figura 23. Teste clonal de erva-mate estabelecido em São Mateus do Sul, PR, dois anos após o plantio (agosto de 2013).

Tabela 5. Produtividade de massa verde de erva-mate comercial em teste clonal estabelecido em São Mateus do Sul, PR, com mudas propagadas por miniestaquia e por sementes, aos 24 meses após o plantio.

Material genético	Produção média (kg planta ⁻¹) ¹	Produção média (kg ha ⁻¹) ¹
Clone fêmea 1	0,5209	992,2
Clone fêmea 2	0,4606	877,3
Clone fêmea 3	0,4517	860,4
Média de clones fêmeas	0,4777	910,0
Clone macho 1	0,3988	759,6
Clone macho 2	0,3923	747,2
Clone macho 3	0,3617	689,0
Média de clones machos	0,3843	731,9
Misto de clones	0,3834	730,3
Mudas de semente 1	0,3778	719,6
Mudas de semente 2	0,3688	702,5
Mudas de semente 3	0,3672	699,4
Média de mudas de sementes	0,3713	707,2

¹Média dos três melhores materiais genéticos (clones fêmeas, clones machos e mudas de sementes) e mistura de clones (misto de clones).

4. Considerações finais

A produção de mudas de erva-mate é um tema que tem sido alvo de uma série de pesquisas e desenvolvimentos científicos e tecnológicos. No entanto, uma série de questões ainda carecem de maiores estudos, visando o pleno aproveitamento do potencial desta importante espécie florestal.

Em relação à produção de mudas por via sexuada, o grande desafio ainda é o desenvolvimento de métodos mais eficientes de quebra de dormência, que acelerem e uniformizem a germinação das sementes, bem como de sistemas de produção eficientes que dispensem o uso da repicagem em vista dos problemas associados a esta técnica, quando não realizada de maneira adequada. A viabilidade de produção de mudas em tubetes plásticos e recipientes biodegradáveis também precisa ser avaliada, tanto em nível de viveiro quanto em campo.

Quanto à produção de mudas por propagação vegetativa, pode-se afirmar que a técnica de estaquia encontra-se desenvolvida como ferramenta para o resgate de árvores selecionadas, embora com problemas para alguns clones de difícil enraizamento (baixo enraizamento e alta variação de matriz para matriz). A miniestaquia, como técnica de multiplicação massal também já foi desenvolvida, embora ainda esteja em fase inicial de implementação em viveiros comerciais, o que pode ser considerado um grande desafio e oportunidade no momento. A micropropagação, por outro lado, apresenta-se como uma técnica de grande potencial para uso futuro, quando alguns gargalos tecnológicos forem suplantados, como os relacionados a fase de introdução e multiplicação *in vitro* de propágulos adultos. É uma técnica que poderá ser usada para o rejuvenescimento de propágulos de erva-mate de materiais de grande valor nos quais outras técnicas de propagação vegetativa não sejam eficientes.

Agradecimentos

Às empresas Baldo e Bitumirim, pelas contribuições no desenvolvimento dos estudos relativos à propagação de erva-mate.

Referências

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2004. 442 p.
- BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do sul**: guia de identificação e interesse ecológico. Rio Grande do Sul: Pallotti, 2002. 326 p.
- 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.
- BITENCOURT, J. **Otimização do enraizamento de estacas de plantas adultas de erva-mate**. 2009. 162 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 3, p. 277-281, 2009.
- BONGA, J. M.; ADERKAS, P. von. **In vitro culture of trees**. Dordrecht: Kluwer Academic Public, 1992. 236 p. (Forestry science, 38).
- 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.; STAPA, J. L.; 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, 2012a.
- BRONDANI, G. E.; OLIVEIRA, L. S.; BERGONCI, T.; BRONDANI, A. E.; FRANÇA, F. A. M.; SILVA, A. L. L.; GONÇALVES, A. N. Chemical sterilization of culture medium: a low cost alternative to in vitro establishment of plants. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 41, n. 98, p. 257-264, 2013.
- BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; ARAUJO, M. A.; SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; ROVEDA, L. F. Composições de substratos e ambiente de enraizamento na estaquia de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. **Floresta**, Curitiba, v. 39, n. 1, p. 41-49, 2009.

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.

BRONDANI, G. E.; WIT ONDAS, H. W.; BACCARIN, F. J. B.; GONÇALVES, A. N.; ALMEIDA, M. Micropropagation of *Eucalyptus benthamii* to form a clonal micro-garden. **In Vitro Cellular and Developmental Biology. Plant**, Columbia, v. 48, n. 5, p. 478-487, 2012b.

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

CATAPAN, M. I. S. **Influência da temperatura, substrato e luz na germinação de sementes de *Ilex paraguariensis* St. Hil.** 1998. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CÉSAR, H. P. **Manual prático do enxertador e criador de mudas de árvores frutíferas e dos arbustos ornamentais**. 7. ed. São Paulo: Nobel, 1975. 158 p.

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

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 do Mato Grosso do Sul. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 3, p. 611-619, 2009.

CUQUEL, F. L.; CARVALHO, M. L. M.; CHAMMA, H. M. C. P. Avaliação de métodos de estratificação para a quebra de dormência de sementes de erva-mate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 51, n. 3, p. 415-421, 1994.

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

DIAS, P. C.; 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

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

DUTRA, L. F.; SILVA, N. D. G. **Estabelecimento *in vitro* de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 7 p. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado técnico, 215).

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

FERRARI, M. P.; WENDLING, I. **Influência da utilização de antioxidantes na enxertia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire)**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 3 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 109).

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, 1992. p. 2.

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.

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

FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Variação do desenvolvimento embrionário das sementes de erva-mate. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 54, p. 105-108, 2007.

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.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. J. **Plant propagation by tissue culture**. 3rd ed. Netherlands: Springer, 2008. v. 1. 551 p.

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

GREENWOOD, M. S.; HUTCHISON, K. W. Maturation as an developmental process. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J. **Clonal forestry: 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-CNPf, 1997. 3 p. (EMBRAPA-CNPf. 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...** Colombo: EMBRAPA-CNPf, 1997. v. 4. p. 79.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 8th ed. Boston: Prentice-Hall, 2011.

HIGA, R. C. V. Estaquia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): resultados preliminares. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4, 1982, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 1982. p. 304-305.

HORBACH, M. A.; BISOGNIN, D. A.; KIELSE, P.; QUADROS, K. M.; FICK, T. A. Micropropagação de plântulas de erva-mate obtidas de embriões zigóticos. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 41, n. 1, p. 113-119, 2011.

HORBACH, M.; WENDLING, I.; BISOGNIN, D. A.; HOFFMANN, H. A. Sistemas de fixação de minienxertos de erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) 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. 167-171.

HU, C. Y.; OCHS, J. D.; MANCINI, F. M. Further observations on *Ilex* embryoid production. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, v. 89, p. 41-49, 1978.

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

KRAEMER, K. H.; SCHENKEL, E. P.; VERPOORTE, R. *Ilex paraguariensis* cell suspension culture characterization and response against ethanol. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 68, p. 257-263, 2002.

KRATZ, D.; WENDLING, I. Produção de mudas de *Eucalyptus dunnii* em substratos renováveis. **Floresta**, Curitiba, v. 43, n. 1, p. 125-136, 2013.

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. (EMBRAPACNPQ. Documentos, 33).

LELES, P. S. S.; CARNEIRO, J. G. A.; NOVAES, A. B.; BARROSO, D. G. Crescimento e arquitetura radicial de plantas de eucalipto oriundas de mudas produzidas em blocos prensados e em tubetes, após o plantio. **Cerne**, Lavras, v. 7, n. 1, p. 10-19, 2001.

LIEBSCH, D.; MIKICH, S. Fenologia reprodutiva de espécies vegetais da Floresta Ombrófila Mista do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 375-391, 2009.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of montain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society**, v. 30, p. 421-327, 1981.

LOURENÇO, R. S.; MEDRADO, M. J. S.; FOWLER, J. A. P.; MOSELE, S. H. Influência do substrato no desenvolvimento de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Perspectiva**, Erechim, v. 24, n. 88, p. 81-99, 2000.

LUNA, C.; ACEVEDO, R.; COLLAVINO, M.; GONZÁLEZ, A.; MROGINSKI, L.; SANSBERRO, P. Endophytic bacteria from *Ilex paraguariensis* shoot cultures: localization, characterization, and response to isothiazolone biocides. **In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant**, Columbia, v. 49, n. 3, p. 326-332, 2013.

MEDEIROS, A. C. S. **Dormência de sementes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1998. 24 p. (Embrapa-CNPQ. Documentos, 36).

MEDRADO, M. J. S.; DALZOTO, D. N.; OLIZESKI, A.; MOSELE, S. H. **Recuperação de ervais degradados**. Colombo: Embrapa Florestas, 2002. 6 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 86).

MEDRADO, M. J. S.; LOURENÇO, R. S.; RODIGHERI, H. R.; DEDECEK, R. A.; PHILIPPOVSKY, J. F.; CORREA, G. **Implantação de ervais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 26 p. (Embrapa Florestas. Circular técnica, 41).

MEDRADO, M. J. S.; MOSELE, S. H. **O futuro da investigação científica em erva-mate**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 64 p. (Embrapa Florestas. Documentos, 92).

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

MROGINSKI, L.; SANSBERRO, P.; REY, H.; COLLAVINO, M. Micropropagacion de la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): estado actual y perspectivas. In: CONGRESO 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).

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

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**, Colombo, n. 44, p. 133-134, 2002.

PINHEIRO, E.; LIBONATI, V. F.; CASTRO, C. de; PINHEIRO, F. S. V. **A enxertia de copa na formação de seringais de cultivo nos trópicos úmidos da Amazônia**. Belém: FCAP, 1988. 27 p. (Informe técnico, 13).

PIRES, P. P.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Ácido indolbutírico e ortotropismo na miniestaquia de Araucaria angustifolia. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 37, n. 3, p. 393-399, 2013.

PIRES, P. P.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E.; KRATZ, D. Miniestaquia de erva-mate em relação a matrizes com diferentes idades. In: CONGRESO SUDAMERICANO DE LA YERBA MATE, 5., 2011, Posadas. **Actas...** Posadas: Instituto Nacional de la Yerba Mate, 2011. p. 49-54. CD-ROM.

PRAT KRIKUN, S. D.; ARANDA, D. **Plan de trabajo: selección clonal de la yerba mate: progresos 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).

PRAT KRIKUN, S. D. Propagación vegetativa de plantas adultas de yerba mate. In: WINGE, H.; FERREIRA, A. G.; MARIÍTA, J. E. A.; TARASCONI, L. C. (Org.). **Erva-mate**: biología 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).

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).

RESENDE, M. D. V.; STURION, J. A.; CARVALHO, A. P.; SIMEÃO, R. M.; FERNANDES, J. S. C. **Programa de melhoramento da erva-mate coordenado pela Embrapa**: resultados da avaliação genética de populações, progênies, indivíduos e clones. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 65 p. (Embrapa Florestas. Circular técnica, 43).

RESENDE, M. D.V.; STURION, J. A.; MENDES, S. **Genética e melhoramento da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. Colombo: Embrapa-CNPQ, 1995. 33 p. (Embrapa-CNPQ. Documentos, 25).

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**, Buenos Aires, v. 48, n. 1/2, p.139-145, 1988.

REY, H. Y.; SANSBERRO, P. A.; COLLAVINO, M. M.; DAVIÑA, J. R.; GONZÁLEZ, A. M.; MROGINSKI, L. A. Colchicine, trifluralin, and oryzalin promoted development of somatic embryos in *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). **Euphytica**, Wageningen, v. 123, p. 49-56, 2002.

ROCHA, M. das G. de B. **Melhoramento de espécies arbóreas nativas**. Belo Horizonte: Instituto Estadual de Florestas, Diretoria de Desenvolvimento Florestal Sustentável, 2002. 173 p.

ROSA, L. S.; GROSSI, F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Adubação nitrogenada na fertirrigação de minicepas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. In: CONGRESSO SUDAMERICANO DE LA YERBA MATE, 5., 2011, Posadas. **Actas**. Posadas: Instituto Nacional de la Yerba Mate, 2011. p. 77-82.

ROSA, L. S., WENDLING, I., SOUZA JUNIOR, L. Brotações epicórmicas no resgate vegetativo de árvores selecionadas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 3., 2003, Chapecó. **Anais...** [Chapecó]: EPAGRI, 2003. s. 3-2. CD-ROM.

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.; MROGINSKI, L. A.; BOTTINI, R. In vitro morphogenetic responses of *Ilex paraguariensis* nodal segments treated with different gibberellins and Prohexadione-Ca. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v. 34, n. 2, p. 209-214, 2001.

SANSBERRO, P. A.; REY, H. Y.; MROGINSKI, L. A.; COLLAVINO, M. M. In vitro culture of rudimentary embryos of *Ilex paraguariensis*: responses to exogenous cytokinins. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 17, p. 101-105, 1998.

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 ERVAMATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVAMATE, 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 jóvenes. In. CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVAMATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVAMATE, 2., 1997, Curitiba. **Anais...** Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997b. p. 423. (EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 33).

SANSBERRO, P.; REY, L.; MROGINSKI, L.; COLLAVINO, M. In vitro plant regeneration of *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). **In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant**, Columbia, v. 35, n. 5, p. 401-402, 1999.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. E.; 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, 2008a.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BASTOS, M. C.; KASEKER, J. F.; REISSMANN, C. B.; BRONDANI, G. E.; BARROS, N. F. Crescimento e nutrição de erva-mate influenciados pela adubação nitrogenada, fosfatada e potássica. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 23, n. 2, p. 363-375, 2013.

SANTIN, D.; WENDLING, I.; BENEDETTI, E. L.; BRONDANI, G. E.; REISSMANN, C. B.; MORANDI, D.; ROVEDA, L. F. Poda e anelamento em erva-mate (*Ilex paraguariensis*) visando à indução de brotações basais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 56, p. 97-104, 2008b.

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**, Santa Maria, RS, 2014a. No prelo.

SANTIN, D.; WENDLING, I.; BENEDETTI, E. L.; MORANDI, D. Enxertia seriada de erva-mate em viveiro e campo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, 2014b. No prelo.

SANTIN, D.; WENDLING, I.; MORANDI, D.; BRONDANI, G. E. Anelamento e intensidade de poda em *Ilex paraguariensis* St. Hil. visando a recuperação de erveiras debilitadas. 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. 290-294.

SANTOS, S. R. F. **Multiplicação de genótipos de erva-mate pelo processo de estaquia**. Dissertação. 2011. 86 f. (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.

SIMÃO, S. **Manual de fruticultura**. São Paulo: Ceres, 1971. 530 p.

STACHEVSKI, T. W.; FRANCISCON, L.; GOLDBACH, J. D. Efeito do meio de cultura na calogênese in vitro a partir de folhas de erva-mate. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 33, n. 75, p. 339-342, 2013. doi: 10.4336/2013.pfb.33.75.441

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

STURION, J. A.; RESENDE, M. D. V.; NEIVERTH, D. D.; OLISZESKI, A.; BASTOS, R. **Métodos de produção de sementes melhoradas de erva-mate**. Colombo: Embrapa Florestas, 1999. 17 p. (Embrapa Florestas. Circular técnica, 34).

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

TAVARES, F. R.; PICHET, J. A.; MASCHIO, L. M. A. Alguns fatores relacionados com a estaquia da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 7., 1992, Nova Prata. **Florestas: desenvolvimento e conservação: anais**. Santa Maria, RS: 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, MG.

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Ambiente inicial e composição de substratos no enraizamento de miniestacas juvenis de *Ilex paraguariensis* St. Hil. 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. 200-206.

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

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E.; 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.

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, DF, v. 42, n. 2, p. 289-292, 2007a.

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

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

WENDLING, I.; FERRIANI, A. P.; BIASIO, A.; HEBERLE, M. Miniestaquia de propágulos juvenis e adultos de erva-mate sob diferentes concentrações de ácido indol butírico. 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, 2006a. p. 189-193.

WENDLING, I.; GUASTALA, D.; DEDECEK, R. Características físicas e químicas de substratos para produção de mudas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 31, n. 2, p. 209-220, 2007b.

WENDLING, I.; HOFFMANN, H. A. **Minienxertia em casa de vegetação: nova metodologia para propagação vegetativa de erva-mate**: resultados preliminares. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. 6 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 132).

WENDLING, I.; HOFFMANN, H.; LIRA, A. Influência da técnica e da origem do propágulo na enxertia de campo em erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire). **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 49, p. 47-60, 2004.

WENDLING, I.; LAVORANTI, O.; RESENDE, M. D. V.; HOFFMANN, 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.

WENDLING, I.; PAIVA, H. N.; GONÇALVES, W. **Técnicas 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. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. 1999. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

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

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, MG.

WENDLING, I.; ROSA, L. S.; DUTRA, L. F. Estaquia da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): efeito da planta matriz e da dioícia. 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, 2006b. p. 156-160.

WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) 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.; COMÉRIO, J. Enraizamento “ex vitro” de gemas de *Eucalyptus* spp. multiplicadas e alongadas “in vitro”. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 51, p. 29-36, 1997.

XAVIER, A. **Silvicultura clonal I**: princípios e técnicas de propagação vegetativa. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2002. 64 p. (Cadernos didáticos; 92).

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

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

ZANIOLO, S. R.; ZANETTE, F. Micropropagação de erva-mate a partir de segmentos nodais. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 2, n. 1/2, p. 39-44, 2001.

ZANON, A. **Produção de sementes de erva-mate**. Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, 1988. 7 p. (EMBRAPA-CNPQ. Circular técnica, 16).