

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LEANDRO MARCOLINO VIEIRA

Ilex paraguariensis A. St.-Hil.: MINIESTAQUIA, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E
PRODUTIVA DE DIFERENTES GENÓTIPOS EM SISTEMA SEMI-HIDROPÔNICO

CURITIBA

2022

LEANDRO MARCOLINO VIEIRA

Ilex paraguariensis A. St.-Hil.: MINIESTAQUIA, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E
PRODUTIVA DE DIFERENTES GENÓTIPOS EM SISTEMA SEMI-HIDROPÔNICO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, Área de Concentração em Produção
Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo,
Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do
Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof^a. Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas

Coorientadores: Dr. Ivar Wendling
Dra. Cristiane Vieira Helm
Prof. Dr. Henrique Soares Koehler

CURITIBA

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA

Vieira, Leandro Marcolino

Ilex paraguariensis A. St.-Hil.: miniestaquia, caracterização química e produtiva de diferentes genótipos em sistema semi-hidropônico. / Leandro Marcolino Vieira. – Curitiba, 2022.

1 recurso online: PDF.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação Agronomia (Produção Vegetal).

Orientadora: Profa. Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas.

Coorientador: Dr. Ivar Wendling.

Coorientadora: Dra. Cristiane Vieira Helm.

Coorientador: Prof. Dr. Henrique Soares Koehle.

1. Erva-mate. 2. Propagação vegetativa. 3. Mudas – Produção. I. Zuffellato-Ribas, Katia Christina. II. Wendling, Ivar. III. Helm, Cristiane Vieira. IV. Koehler, Henrique Soares. V. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação Agronomia (Produção Vegetal). VI. Título.

Bibliotecário: Douglas Alex Jankoski CRB-9/1167

TERMO DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **LEANDRO MARCOLINO VIEIRA** intitulada: *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.: **MINIESTAQUIA, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E PRODUTIVA DE DIFERENTES GENÓTIPOS EM SISTEMA SEMI-HIDROPÔNICO**, sob orientação da Profa. Dra. **KATIA CHRISTINA ZUFFELLATO-RIBAS**, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 14 de Março de 2022.

KATIA CHRISTINA ZUFFELLATO-RIBAS
Presidente da Banca Examinadora

GIOVANA BOMFIM DE ALCANTARA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

WAR WENDLING
Avaliador Externo (EMBRAPA/UFPR)

LUCIANA LOPES FORTES RIBAS
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

CRISTIANE VIEIRA HELM
Avaliador Externo (EMBRAPA FLORESTAS)

Ao velho índio Guarani, que deu origem à cultura do nosso bom chimarrão!

Aos meus professores, eternos mestres da minha formação! E a todos que
lutam pelo direito e acesso à educação!

À minha família, por sempre me apoiarem nessa jornada!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de dizer que sou grato pela vida e todos os ensinamentos que ela tem me proporcionado. E que o agradecer de cada dia seja a semente da humildade e do reconhecimento de que sozinho não é possível chegar a lugar algum. Assim, a ciência e a gratidão andam lado a lado!

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa;

À UFPR, por todo o apoio institucional e financeiro na realização desse estudo;

À Embrapa Florestas, pela disponibilização de insumos, equipamentos e estruturas utilizadas para a realização dos experimentos;

Agradeço imensamente à minha adorável orientadora, Katia Christina Zuffellato-Ribas, por todo apoio, pelo exemplo, pela confiança, paciência, exigência, amizade, e toda orientação e dedicação ao longo desses quatro anos. Obrigado por fazer toda a diferença na minha formação e ser essa pessoa inspiradora, profissional e humana, que sempre coloca a formação dos seus orientados em primeiro lugar. Serei sempre grato!

À minha querida coorientadora, Dra. Cristiane Vieira Helm, pela parceria, confiança, paciência e toda disposição. Obrigado por disponibilizar o laboratório e por todos os ensinamentos das técnicas laboratoriais;

Ao meu coorientador Dr. Ivar Wendling, pela excelente coorientação e por todo apoio e ensinamentos sobre a cultura da erva-mate;

Ao meu coorientador, professor Dr. Henrique Soares Koehler, pelo apoio no delineamento estatístico e na interpretação dos dados experimentais;

Agradeço às professoras: Dra. Giovana Bomfim de Alcantara e Dra. Luciana Fortes Ribas, por aceitarem fazer parte da minha banca de defesa e, assim, trazerem contribuições ao trabalho;

Ao professor Dr. Cícero Deschamps, por disponibilizar o laboratório e equipamentos para as análises químicas;

Aos Departamentos de Química e Farmácia da UFPR, por disponibilizar o liofilizador durante o preparo das amostras;

Ao professor Dr. Roberson Dibax, pelas importantes sugestões dadas na fase de qualificação do doutorado;

Ao professor Dr. Flávio Zanette, pela amizade e parcerias desde o mestrado;
A todos os meus professores do PGAPV e também do IFC-Araquari, por fazerem parte dessa minha trajetória e contribuírem muito na minha formação;

Às amigas: Renata Maggioni, Jéssica Tomasi, Manoela Duarte, Natália de Aguiar e Mônica Gabira. Muito obrigado por todo apoio na execução e avaliação dos experimentos. E também por fazerem a minha vida mais alegre, com muitas conversas e risadas. Obrigado pelas parcerias acadêmicas e pelas valiosas discussões, conversas que sem dúvidas fizeram toda a diferença na minha vida.

À Francielen Paola de Sá, pela amizade, pelas parcerias acadêmicas e por ser esse exemplo de pessoa e profissional.

Aos funcionários da Embrapa: Décio Adams, Vero dos Santos, Joel Veiga, Leonides Tanner, Paulino e Mieceslau, por toda ajuda e contribuição durante as instalações dos experimentos. Obrigado por estarem sempre dispostos a ajudar. Foram inúmeros momentos de muito trabalho, mas também de muita felicidade e risadas ao lado de vocês!

À Dayanne Mendes e Tiélidy de Lima, pela amizade, por todo apoio durante as análises laboratoriais e por sempre estarem dispostas a ajudar, excelentes profissionais;

Ao analista Dr. Fabrício Hansel, pela disposição, profissionalismo, e todo o apoio com as análises químicas e análises estatística em parte da tese.

Ao técnico do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, Roger Cipriano, pela amizade e auxílio acadêmico;

À secretária, Lucimara Antunes, por todo profissionalismo, atenção e disposição diante as questões acadêmicas no PGAPV;

Às funcionárias da Embrapa: Simone, Mariana e Janaína, pelo auxílio no uso dos laboratórios e equipamentos;

Aos colegas de pós-graduação: Felipe Francisco, Emilio Romanini, Bia, Maíra, Cíntia, Juliana, Juliane, Michele, Mireli, Evelyn, Mariana, Leandro, Dáryan, Valdeci e Carlos, pela amizade, pela amizade e pelas trocas de experiências;

Aos amigos e amigas: Gju Nim, Jeung Nam, Gleicy, Lorival e Bruno Guilherme, pela amizade e o bom convívio durante essa fase;

Ao GEPE (Grupo de Estudo e Pesquisa em Estaquia), por toda amizade e parceria ao longo desses anos, e por fazer parte desse grupo, o qual tenho muito orgulho;

Ao velho amigo e “irmão”, Erik Nunes Gomes, um dos grandes parceiros acadêmicos desde a graduação, e também, um dos protagonistas dessa minha trajetória. Amigo a quem admiro muito pelo exemplo e profissionalismo;

À minha maravilhosa família, especialmente meus pais, José e Santina, pela base, pelos princípios, pelo carinho, pelo amor e todo o imprescindível apoio no decorrer dessa caminhada. Amo vocês!

Diante tudo a agradecer, agradeço principalmente a Deus, nosso criador, por permitir essa importante caminhada, carregada de experiências e desafios, onde cada momento foi essencial para a minha formação humana e profissional;

A todos que de alguma forma contribuíram para a minha formação pessoal e profissional,

MUITO OBRIGADO!

“O importante é não parar de questionar.”

Albert Einstein

Quando a essência da felicidade é alcançável com a aquisição de novos conhecimentos, de alguma forma ela sempre poderá estar presente.

O autor

RESUMO

Ilex paraguariensis A. St.-Hil., é uma espécie arbórea, pertencente à família Aquifoliaceae, nativa do sul do Brasil, Argentina e Paraguai. Possui grande importância ecológica, econômica, social e cultural. Tradicionalmente, os cultivos comerciais de erva-mate são, na grande maioria, formados por ervais estabelecidos a partir de mudas seminais, muitos deles sem critério de seleção de matrizes, resultando em plantios com crescimento desuniforme, baixa produtividade, alta heterogeneidade e baixa qualidade da erva-mate. Além disso, sementes de erva-mate apresentam uma germinação baixa, lenta e desuniforme. Diante disso, uma das alternativas é a utilização de mudas propagadas vegetativamente a partir de genótipos selecionados. Apesar de haver estudos com propagação vegetativa da erva-mate, ainda existem limitações no estabelecimento de um protocolo eficiente de propagação. O presente estudo objetivou avaliar a influência da aplicação do ácido indol butírico (IBA) e a época do ano no enraizamento de miniestacas de 15 diferentes genótipos de erva-mate, a partir de minicepas já instaladas em sistema de minijardim, e verificar a correlação da composição química e caracteres produtivos de plantas matrizes com a capacidade rizogênica de seus propágulos, bem como avaliar a produção de massa verde em sistema semi-hidropônico nas diferentes épocas do ano. Os experimentos foram conduzidos em esquema fatorial 4x15x2 [4 épocas do ano x 15 genótipos x 2 concentrações de IBA: 0 mg L⁻¹ e 3000 mg L⁻¹], num delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições e 10 miniestacas por unidade experimental. As miniestacas foram preparadas com 5 ± 1 cm de comprimento, com corte reto no ápice e corte em bisel na porção basal, mantendo-se um par de folhas. O material foi mantido em casa de vegetação e após 120 dias foram avaliadas as variáveis relacionadas ao enraizamento e sobrevivência. Ainda foram avaliadas a produtividade de miniestacas/minicepa e massa verde total dos 15 genótipos, bem como realizadas análises bioquímicas (teores de cafeína, teobromina, compostos fenólicos, açúcares, proteínas totais e metabólica). Para as análises bioquímicas, foram coletadas amostras de cada genótipo nos dias da implantação dos experimentos de miniestaquia. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey ou Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Constatou-se que o enraizamento adventício (0 a 90% de enraizamento) e o perfil fitoquímico de miniestacas de erva-mate são dependentes do genótipo. A retenção foliar é um fator relevante no enraizamento de miniestacas de erva-mate e os teores de compostos fenólicos totais (até 111,5 mg g⁻¹), atividade antioxidante (até 2790,41 μmol g⁻¹) e teobromina (até 5,89 mg g⁻¹) presentes nas miniestacas são componentes negativos correlacionados ao seu enraizamento adventício. A necessidade de aplicação de IBA e a produtividade de miniestacas e massa verde são variáveis dependentes do genótipo e da estação do ano de coleta dos propágulos, sendo que outono é a estação com maior necessidade de aplicação deste regulador vegetal para o enraizamento adventício. Maiores porcentagens de enraizamento podem estar associadas com as maiores concentrações dos aminoácidos glutamina e asparagina. O genótipo EC21 proporcionou maior produtividade de miniestacas (961,7 miniestacas m⁻²) e massa verde em cultivo semi-hidropônico, possibilitando a produtividade de 96,16 t ha⁻¹ ano⁻¹ de massa verde de erva-mate.

Palavras-chave: Erva-mate. Propagação vegetativa. Produção de mudas. Metabólitos secundários. Produtividade. Auxina. Cafeína.

ABSTRACT

Ilex paraguariensis A. St.-Hil., is a tree species, belonging to the Aquifoliaceae family, native to Southern Brazil, Argentina and Paraguay. It has great ecological, economic, social and cultural importance. Traditionally, commercial yerba mate stands are, in the vast majority, formed by plants established from seedlings, many of them from parental plants without clearly defined selection criteria, resulting in plantations with uneven growth, low productivity, high heterogeneity and low yerba mate quality. In addition, yerba mate seeds present low, slow and uneven germination. Therefore, one of the alternatives is the use of vegetatively propagated saplings from selected genotypes. Although there are studies on vegetative propagation of yerba mate, there are still limitations in establishing an efficient propagation protocol. Thus, the present study aimed to evaluate the influence of the application of indole butyric acid (IBA) and the time of year on the rooting of mini-cuttings of 15 different genotypes of yerba mate originated, from mini-stumps cultivated in a mini-garden system, and to verify the correlation of the chemical composition and productive characters of parent plants with the rhizogenic capacity of their propagules, as well as to evaluate the production of fresh biomass in a semi-hydroponic system at different times of the year. The experiments were carried out in a 4x15x2 factorial scheme [4 times of the year x 15 genotypes x 2 concentrations of IBA: 0 mg L⁻¹ and 3000 mg L⁻¹], in a completely randomized design, with 4 replications and 10 mini-cuttings per experimental unit. The mini-cuttings were 5 ± 1 cm in length, with a straight cut at their apex and a beveled cut in their basal portion, keeping a pair of leaves. The material was kept in a greenhouse and after 120 days, the variables related to rooting and survival were evaluated. The productivity of mini-cuttings/mini-stump and total fresh biomass of the 15 genotypes were also evaluated, as well as biochemical variables (contents of caffeine, theobromine, phenolic compounds, sugars, total proteins, metabolomics analysis). For the biochemical analyses, samples of each genotype were collected on the day of establishing the mini-cuttings experiments. The data were submitted to analysis of variance by the F test and the means were compared by the Tukey or Scott-Knott test at the 5% probability level. Adventitious rooting (0 to 90% rooting) and phytochemical profile of yerba mate mini-cuttings are genotype dependent. Leaf retention is a relevant factor in the rooting of yerba mate mini-cuttings and the levels of total phenolic compounds (up to 111.5 mg g⁻¹), antioxidant activity (up to 2790.41 µmol g⁻¹) and theobromine (up to 5.89 mg g⁻¹) are negatively correlated with their adventitious rooting of yerba mate. The need for IBA application and productivity of mini-cuttings and fresh biomass are variables dependent on the genotype and the season of the year of collection of the propagules, with autumn being the season with the greatest need for application of this plant regulator for adventitious rooting. Higher percentages of rooting may be associated with higher concentrations of the amino acids glutamine and asparagine. The EC21 genotype provided higher mini-cutting productivity (961.7 mini-cuttings m⁻²) and fresh biomass in semi-hydroponic system, reaching the productivity of 96.16 t ha⁻¹ year⁻¹ of yerba mate fresh biomass.

Keywords: Yerba mate. Vegetative propagation. Sapling production. Secondary metabolites. Productivity. Auxin. Caffeine.

LISTA DE FIGURAS REVISÃO DE LITERATURA

FIGURA 1 -	ÁREA DE OCORRÊNCIA NATURAL DE <i>Ilex paraguariensis</i>	22
FIGURA 2 -	ÁRVORE (A), FOLHAS E FLORES (B), FRUTOS (C), SEMENTES (D), CASCA (E) E MADEIRA (F) de <i>Ilex paraguariensis</i>	24
FIGURA 3 -	PROCEDIMENTOS PARA A FORMAÇÃO DE UM MINIJARDIM CLONAL E TÉCNICA DE MINIESTAQUIA EM ERVA-MATE.....	28

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO I

FIGURA 1 -	MINICEPAS DE <i>Ilex paraguariensis</i> EM MINIJARDIM CLONAL SOB SISTEMA SEMI-HIDROPÔNICO (A), PADRÃO DE MINIESTACA UTILIZADA (B), LEITO DE ENRAIZAMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO COM NEBULIZAÇÃO INTERMITENTE (C).....	44
------------	---	----

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO II

FIGURA 1 -	TEMPERATURAS MÍNIMAS, MÁXIMAS E MÉDIAS (°C) EM ESTUFA DE CULTIVO SEMI-HIDROPÔNICO ENTRE OS MESES DE DEZEMBRO/2018 A OUTUBRO/2019.....	67
FIGURA 2 -	TEMPERATURAS MÍNIMAS, MÁXIMAS E MÉDIAS (°C) EM CASA DE VEGETAÇÃO COM SISTEMA DE NEBULIZAÇÃO INTERMITENTE, ENTRE OS MESES DE FEVEREIRO/2019 A FEVEREIRO/2020.....	68
FIGURA 3 -	PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> , TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L ⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).....	71
FIGURA 4 -	NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES E CALOGÊNESE EM MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> , TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L ⁻¹).....	72
FIGURA 5 -	NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES EM MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> , NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).....	73
FIGURA 6 -	CALOGÊNESE EM MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> , NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).....	74

FIGURA 7 -	COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES DE MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> , TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L ⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).....	75
FIGURA 8 -	PORCENTAGEM DE MINIESTACAS VIVAS DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> , TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L ⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).....	76
FIGURA 9 -	PORCENTAGEM DE MINIESTACAS MORTAS DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> , TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L ⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).....	77
FIGURA 10 -	PORCENTAGEM DE RETENÇÃO FOLIAR DE MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> , TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L ⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).....	78
FIGURA 11 -	PRODUTIVIDADE DE MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> , NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).....	79

LISTA DE FIGURAS CAPÍTULO III

FIGURA 1 -	MINICEPAS DE <i>Ilex paraguariensis</i> EM MINIJARDIM CLONAL SOB SISTEMA SEMI-HIDROPONICO (A), PROPAGULO VEGETATIVO (MINIESTACA) (B).....	90
FIGURA 2 -	TEMPERATURAS MÍNIMAS, MÁXIMAS E MÉDIAS (°C) EM ESTUFA DE CULTIVO SEMI-HIDROPÔNICO ENTRE OS MESES DE DEZEMBRO/2018 A OUTUBRO/2019.....	91
FIGURA 3 -	PRODUTIVIDADE DE MASSA VERDE (t ha ⁻¹ ano ⁻¹) DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> EM MINIJARDIM CLONAL SOB SISTEMA SEMI-HIDROPONICO (2019).....	99
FIGURA 4 -	(A) RESULTADOS DA ANÁLISE DE DA-PLS DOS PERFIS DE GC-MS DO EXTRATO METANÓLICOS DE MINIESTACAS DE <i>Ilex paraguariensis</i> INDICANDO O AGRUPAMENTO DE GENÓTIPOS COM DIFERENTES RESPOSTAS DE ENRAIZAMENTO; (B) CORRELAÇÃO DAS VARIÁVEIS (>70%, ENTRE OS CÍRCULOS) EM TERMOS DE CONTRIBUIÇÃO PARA AS RESPOSTAS OBSERVADAS NA FIGURA A.....	100

LISTA DE TABELAS REVISÃO DE LITERATURA

TABELA 1 -	APLICAÇÕES INDUSTRIAIS, SUBPRODUTOS COMERCIAIS E FORMAS DE UTILIZAÇÃO DA ERVA-MATE.....	25
TABELA 2 -	COMPOSTOS IDENTIFICADOS, ATIVIDADE FARMACOLÓGICA EM <i>Ilex paraguariensis</i> E REFERÊNCIAS.....	35

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO I

TABELA 1 -	PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM RAÍZES (R), NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES POR MINIESTACA (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES POR MINIESTACA (RL), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM CALOS E SEM RAÍZES (C), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM CALOS E RAÍZES (CR), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS VIVAS (A), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS MORTAS (D) E PORCENTAGEM DE RETENÇÃO FOLIAR (LR) DE 15 GENÓTIPOS (GEN.) DE <i>Ilex paraguariensis</i> APOS 120 DIAS EM CASA DE VEGETAÇÃO (2019).....	49
TABELA 2 -	COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TP), CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (MÉTODOS ABTS E DPPH) E TEORES DE PROTEÍNAS, CAFEÍNA E TEOBROMINA EM MINIESTACAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i>	50
TABELA 3 -	COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE PERSON ENTRE VARIÁVEIS RELACIONADAS AO ENRAIZAMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i>	51

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO II

TABELA 1 -	RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO (ENR), NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DAS TRÊS MAIORES RAÍZES/MINIESTACA (CMR), CALOGÊNESE (C), MINIESTACAS VIVAS (MV), MORTALIDADE (MM), RETENÇÃO FOLIAR (RF) E PRODUÇÃO DE MINIESTACAS POR MINICEPA (PMM) DE 15 GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> , TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L ⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).....	69
------------	---	----

LISTA DE TABELAS CAPÍTULO III

TABELA 1 -	TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (RADICAIS ABTS E DPPH) DE MINIESTACAS DE TRÊS GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> NAS DIFERENTES ÉSTAÇÕES DO ANO (2019).....	96
TABELA 2 -	TEORES DE CAFEÍNA, TEOBROMINA E ÁCIDOS CAFEOLQUÍNICOS EM MINIESTACAS DE TRÊS GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> NAS DIFERENTES ÉSTAÇÕES DO ANO (2019).....	97
TABELA 3 -	MÉDIAS DE MASSA VERDE TOTAL (g m ⁻²) COLHIDAS DE MNICEPAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> NAS DIFERENTES ÉSTAÇÕES DO ANO (2019).....	98
TABELA 4 -	METABÓLITOS IDENTIFICADOS EM EXTRATO METANÓLICO DE MINIESTACAS DE <i>Ilex paraguariensis</i> NA ESTAÇÃO DO OUTONO (2019).....	101

LISTA DE ANEXOS

- ANEXO 1 - RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM RAÍZES (R), NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES POR MINIESTACA (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES POR MINIESTACA (CMR), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM CALOS E SEM RAÍZES (C), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM CALOS E RAÍZES (CR), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS VIVAS (V), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS MORTAS (M) E PORCENTAGEM DE RETENÇÃO FOLIAR (RF) DE 15 GENÓTIPOS (GEN.) DE *Ilex Paraguariensis* APÓS 120 DIAS EM CASA DE VEGETAÇÃO (2019)..... 141
- ANEXO 2 - RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TP), CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (MÉTODOS ABTS E DPPH) E TEORES DE PROTEÍNAS, CAFEÍNA E TEOBROMINA EM MINIESTACAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*..... 141
- ANEXO 3 - RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TP), ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (RADICAIS ABTS E DPPH) E PROTEÍNAS DE MINIESTACAS DE TRÊS GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis* NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019)..... 141
- ANEXO 4 - RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA TEORES DE CAFEÍNA, TEOBROMINA E ÁCIDOS CAFEOLQUÍNICOS (3-CQA, 4-CQA e 5-CQA) EM MINIESTACAS DE TRÊS GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis* NAS DIFERENTES ÉSTAÇÕES DO ANO (2019)..... 141

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μm	- Micrômetro
$^{\circ}\text{C}$	- Graus Celsius
CONAMA	- Conselho Nacional do Meio Ambiente
cm^3	- Centímetro cúbico
dm^3	- Decímetro cúbico
EMBRAPA	- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
GEPE	- Grupo de Estudo e Pesquisa em Estaquia
GL	-Graus de liberdade
Ha	-Hectare
IBA	- Ácido indol butírico
IAA	- Ácido indol acético
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Glc	- Glicose
HPLC	- High performance liquid chromatography
UFPR	- Universidade Federal do Paraná

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	20
2 REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 <i>Ilex paraguariensis</i> A. ST.-HIL.....	22
2.2 PROPAGAÇÃO DA ERVA-MATE	26
2.3 FATORES ENVOLVIDOS NO ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO.....	30
2.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA ERVA-MATE.....	34
2.5 PRODUTIVIDADE DE MINIESTACAS E MASSA VERDE DE ERVA-MATE	37
3 CAPÍTULO I. PROPAGAÇÃO VEGETATIVA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE GENÓTIPOS DE ERVA-MATE.....	39
3.1 INTRODUÇÃO	41
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	42
3.2.1 Material vegetal e condições de crescimento.....	42
3.2.2 Avaliação do enraizamento das miniestacas.....	43
3.2.3 Preparação de extrato aquoso de erva-mate para análises químicas.....	44
3.2.4 Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e proteínas.....	45
3.2.5 Avaliação do conteúdo de cafeína e teobromina por cromatografia líquida	46
3.2.6 Análise estatística	47
3.3 RESULTADOS.....	47
3.3.1 Desempenho da Miniestaquia	47
3.3.2 Composição química.....	49
3.3.3 Análise de correlação.....	50
3.4 DISCUSSÃO	52
3.5 CONCLUSÕES	57
3.6 REFERÊNCIAS.....	57
4 CAPÍTULO II. ENRAIZAMENTO E PRODUTIVIDADE DE MINIESTACAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> A.ST.-HIL. NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO	63
4.1 INTRODUÇÃO	65
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	66
4.2.1 Material vegetal e condições de crescimento.....	66
4.2.2 Experimento de miniestaquia e avaliação da produtividade de miniestacas...	67
4.2.3 Análise estatística	69

4.3 RESULTADOS	69
4.4 DISCUSSÃO	80
4.5 CONCLUSÕES	83
4.6 REFERÊNCIAS	83
5 CAPÍTULO III. PERFIL FITOQUÍMICO, METABOLÔMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E PRODUÇÃO DE MASSA VERDE DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE <i>Ilex paraguariensis</i> A.ST.-HIL	86
5.1 INTRODUÇÃO	88
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	89
5.2.1 Material vegetal e experimentos.....	89
5.2.2 Preparação do extrato aquoso de erva-mate para análises químicas.....	92
5.2.3 Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e proteínas.....	92
5.2.4 Avaliação do conteúdo de cafeína e teobromina por cromatografia líquida.....	93
5.2.5 Análise metabolômica.....	94
5.2.6 Análise estatística.....	95
5.3 RESULTADOS	96
5.4 DISCUSSÃO	102
5.5 CONCLUSÕES	108
5.6 REFERÊNCIAS	109
6 CONCLUSÕES GERAIS	113
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES FUTURAS	114
REFERÊNCIAS	116
REFERÊNCIAS GERAIS	126
ANEXOS	141

1 INTRODUÇÃO GERAL

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) é uma espécie arbórea de grande importância no Brasil, que além de participar na renda de milhares de famílias e gerar empregos diretos e indiretos, movimentando parte da economia, está presente fortemente na tradição cultural de algumas regiões brasileiras, além de ser um componente importante na biodiversidade da Floresta Ombrófila Mista (DANIEL, 2009; PIRES et al., 2016).

A espécie apresenta considerável importância econômica, com amplo potencial de mercado, que abrange desde a indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia, ao consumo tradicional (chás, chimarrão, tereré) (DARTORA et al., 2013). Seus produtos são consumidos também nos Estados Unidos, Alemanha e Síria, na forma de “chás” e bebidas energéticas, expandindo-se na última década para outros países como Espanha, Itália, Austrália, França, Japão, Coreia e Rússia, principalmente em virtude de seu sabor e função estimulante (CARDOZO JUNIOR; MORAND, 2016).

Um dos aspectos de grande importância na cadeia produtiva da erva-mate, refere-se à fase de cultivo que, por sua vez, demanda mudas de qualidade para o estabelecimento de plantios produtivos que forneçam matéria prima de qualidade para a indústria (WENDLING; SANTIN, 2015).

Por conta da dormência das sementes, longo tempo necessário para a estratificação, baixa germinação, alta variabilidade genética e dificuldade na obtenção de sementes com padrão genético desejado, a propagação sexuada da erva-mate é um processo que apresenta dificuldades e limitações (WENDLING; DUTRA, 2008). Além disso, a incorreta seleção de plantas produtivas tem resultado em plantios com crescimento desuniforme, baixa produtividade e heterogeneidade quanto à qualidade da erva-mate comercial (WENDLING et al., 2005; WENDLING et al., 2007).

Frente a tais circunstâncias, o uso de mudas propagadas vegetativamente a partir de genótipos selecionados tem se apresentado como alternativa para tais limitações (WENDLING, BRONDANI, 2015; SANTIN et al., 2017) e, visando contornar as dificuldades de enraizamento de alguns clones de espécies florestais, a técnica de miniestaquia surge como um aprimoramento da estaquia convencional (XAVIER et al., 2013), atribuída principalmente ao rejuvenescimento de células e

tecidos vegetais que, por sua vez, favorecem o enraizamento adventício (TITON et al., 2002; ALFENAS et al., 2009).

Apesar de existirem diversos estudos com a propagação de erva-mate por miniestaquia (WENDLING, 2004; SÁ et al., 2018; PIMENTEL et al., 2016; 2017; 2019; DUARTE et al., 2018), os protocolos em escala comercial encontram-se ainda limitados, principalmente no que se refere ao rejuvenescimento de materiais adultos e tratamento das estacas visando melhores taxas de enraizamento (WENDLING et al., 2005; WENDLING, BRONDANI, 2015).

Além disso, dentre os fatores que podem influenciar o enraizamento de estacas e miniestacas de espécies florestais, destacam-se a aplicação de reguladores vegetais, fatores mesológicos (substrato, umidade, temperatura, luminosidade), estado fisiológico da planta matriz, maturação, tipo de propágulo, época de coleta da estaca e o potencial genético de cada material (ZUFFELLATO-RIBAS, RODRIGUES, 2001; STUEPP et al., 2017), devendo-se realizar estudos para estabelecer protocolos específicos para genótipos de interesse.

Embora existam programas de melhoramento para a cultura da erva-mate desde 1990 (STURION et al., 2001), ainda são escassos os estudos que correlacionem características de composição química de diferentes genótipos, com a capacidade rizogênica dos propágulos.

Aliada à propagação, a produtividade de miniestacas em minijardim clonal conduzido em sistema semi-hidropônico é um ponto essencial a ser considerado, uma vez que a produção de mudas por miniestaquia em larga escala depende da produtividade das minicepas.

Além da produtividade das minicepas, tem-se discutido atualmente a utilização do sistema semi-hidropônico para a produção de massa verde em minijardim (TOMASI, 2020; AGUIAR, 2021), com possibilidades dessa técnica se tornar um novo sistema de cultivo de erva-mate, altamente produtivo.

Assim, o presente estudo objetivou avaliar as respostas da aplicação de ácido indol butírico (IBA) e a coleta de propágulos em diferentes épocas do ano no enraizamento de miniestacas de 15 diferentes genótipos de erva-mate, bem como verificar a correlação da composição fitoquímica (cafeína, teobromina, ácidos cafeiolquínicos, compostos fenólicos; atividade antioxidante, proteínas totais e metabólitos) com a capacidade rizogênica de seus propágulos, além de avaliar a produtividade de miniestacas e a massa verde dos diferentes genótipos

2 REVISÃO DE LITERATURA

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

O gênero *Ilex* possui em torno de 700 espécies que podem ser encontradas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. Desse total, estima-se que 68 espécies podem ser encontradas no Brasil, sendo *Ilex paraguariensis* a mais importante para exploração comercial (GILBERTI, 1995).

Ilex paraguariensis, popularmente conhecida como erva-mate, é uma espécie arbórea pertencente à família Aquifoliaceae, nativa da região Sul do Brasil e também nas regiões vizinhas em territórios do Paraguai e Argentina, regiões com altitude de 500 a 1000 metros acima do nível do mar, com exclusão das partes úmidas e dos altos das serras, sendo tolerante ao sombreamento e a baixas temperaturas (CARVALHO, 2003).

No Brasil, sua ocorrência se dá junto à Floresta com Araucárias (Ombrófila Mista), compreendendo as regiões do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Mato Grosso do Sul e em pontos isolados em São Paulo e Minas Gerais (OLIVEIRA, ROTTA, 1985; CARVALHO, 2003). A área de ocorrência da espécie abrange aproximadamente 540.000 km² (3% da América do Sul), entre as latitudes 21° S e 30° S e longitudes de 48° 30' W até 56° 10' W (OLIVEIRA, ROTTA, 1985; CARVALHO, 2003) (Figura 1).

FIGURA 1 – ÁREA DE OCORRÊNCIA NATURAL DE *Ilex paraguariensis*.



FONTE: Adaptado de Junior et al. (2017).

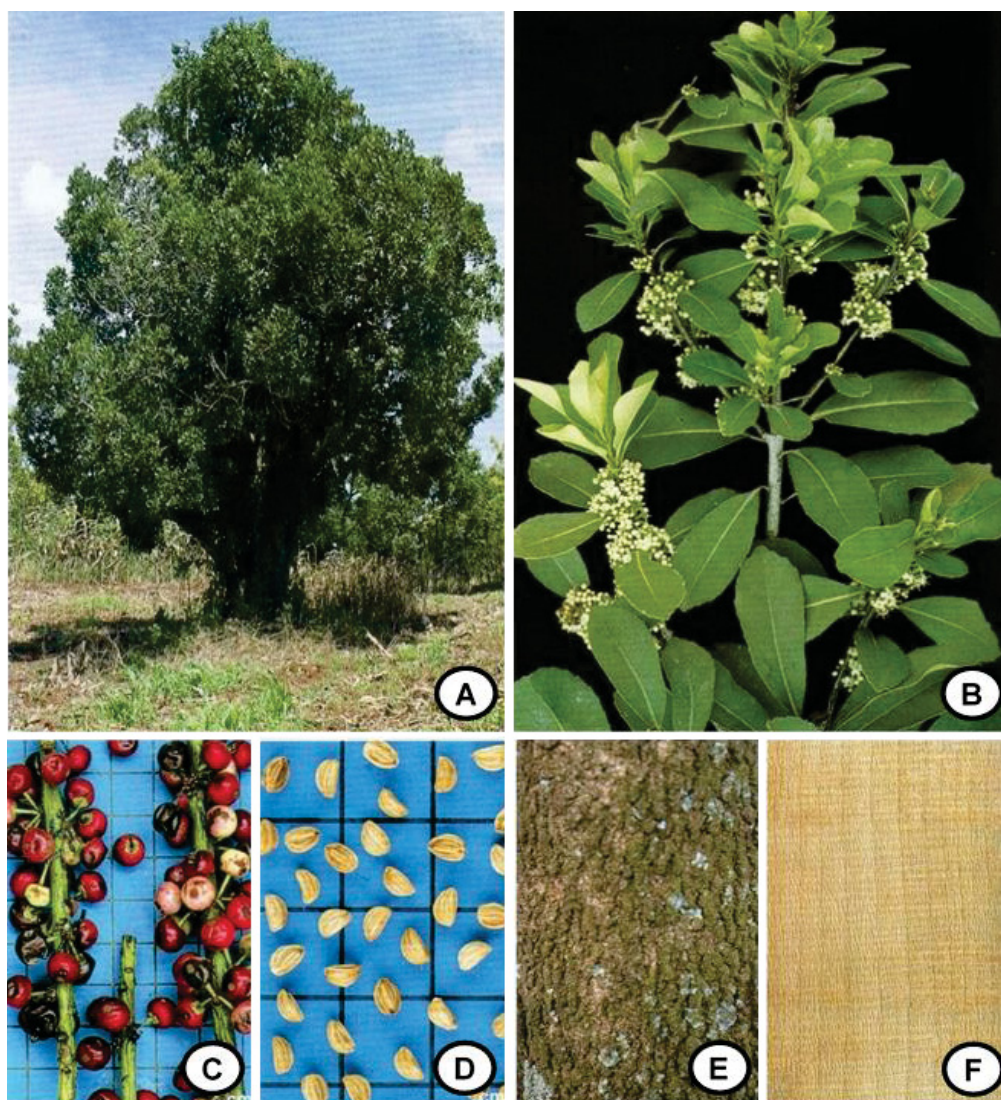
A erva-mate se desenvolve nos tipos climáticos Cfb (clima temperado úmido com verão temperado), seguido pelo clima Cfa (clima temperado úmido com verão quente), havendo também pequenas ocorrências dos tipos climáticos Cwa (clima temperado úmido com inverno seco e verão quente) e Aw (clima tropical com estação seca no inverno), segundo classificação de Köeppen (OLIVEIRA; ROTTA, 1983; MAZUCHOWSKI, 1991; DANIEL, 2009).

Ilex paraguariensis apresenta porte arbóreo (Figura 2A), é uma espécie perenifólia, com altura de cultivo entre 3 a 5 metros e com DAP de 20 a 40 cm de diâmetro, podendo atingir 30 metros de altura e 100 cm de DAP na idade adulta em condições de floresta, com tronco reto ou pouco tortuoso e casca de coloração cinza-claro a acastanhada, podendo atingir 2 cm de espessura (Figura 2E), e madeira de coloração clara (Figura 2F) (CARVALHO, 2003; DANIEL, 2009). A ramificação é racemosa e as folhas são simples, alternas, geralmente estipuladas, subcoriáceas, glabras, com coloração verde escuro na parte adaxial e clara na parte abaxial. O limbo foliar é obovado com 5 a 10 cm de comprimento e 3 a 4 cm de largura, margem irregular serrilhada ou dentada e pecíolo com 7 a 15 mm (CARVALHO, 2003) (Figura 2B).

A espécie é dióica, com inflorescências fasciculadas e pedunculadas, flores hermafroditas e unissexuais, pequenas, brancas e pouco vistosas (CARVALHO, 2003; DANIEL, 2009) (Figura 2B). Os frutos são do tipo baga-drupa globular, com formato esférico, medindo entre 4 e 8 mm de diâmetro, tendo em média quatro sementes, com tegumento áspero e duro (BACKES, 2002; DANIEL, 2009) (Figura 2C). As sementes (Figura 2D) apresentam dispersão zoocórica, consumidas principalmente por pássaros, os quais as disseminam por meio de suas fezes (MELLO, 1980).

As duas variedades de *Ilex paraguariensis* apresentam pequenas diferenças entre si, como por exemplo o formato ou tamanho das folhas e a cor do talo (VIEIRA, 2009). Tais diferenças morfológicas também podem ser notadas com a variação do ambiente e influenciadas por fatores como genética, condições climáticas e manejo (COELHO, 2002; ROSSA, 2013).

FIGURA 2 – ÁRVORE (A), FOLHAS E FLORES (B), FRUTOS (C), SEMENTES (D), CASCA (E) E MADEIRA (F) de *Ilex paraguariensis*.



FONTE: Lorenzi (2008).

A cultura da erva-mate tem sido historicamente um dos principais produtos florestais da região sul do Brasil, com grande potencial econômico, social, ecológico e cultural. Derivada de ervais nativos ou cultivados, a erva-mate provém principalmente de pequenas e médias propriedades rurais e empresas ervateiras dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, tendo participação significativa na geração direta e indireta de empregos (STURION, 2009; ROSSA, 2013).

Historicamente, grande parte da erva-mate brasileira era extraída de ervais nativos (DA CROCE, 2000; ROCHA JÚNIOR, 2001, MACCARI JÚNIOR et al., 2006); todavia, a alta exploração tem gerado queda na produção desses ervais e, com a crescente demanda, tornou-se cada vez mais necessária a busca de novas

tecnologias e a implantação de cultivos comerciais para suprir as necessidades do mercado consumidor (PAGLIOSA, 2009).

Conforme Rossa (2013), além da exploração nativa e do cultivo convencional, também são realizados cultivos consorciados com outras espécies florestais, o que permite maior aproveitamento da área de cultivo e agregação de valor da biomassa comercial da erva-mate sombreada.

O interesse comercial pela erva-mate é proveniente principalmente das indústrias de alimentos e indústria química (DA CROCE, 2000; ROCHA JÚNIOR, 2001; MEDRADO, MOSELE, 2004), servindo de matéria prima para os mais diversos produtos, conforme apresentado na Tabela 1.

TABELA 1 – APLICAÇÕES INDUSTRIAIS, PRODUTOS COMERCIAIS E FORMAS DE UTILIZAÇÃO DA ERVA-MATE.

Aplicações industriais	Produtos comerciais	Formas de utilização
Bebidas	- Chimarrão e Tereré - Chá mate (queimado, verde) - Mate solúvel	Infusão quente ou fria
	- Refrigerantes, sucos, cerveja e vinho	Extrato de folhas diluído
Insumos de alimentos	- Corante natural e conservante alimentar	Clorofila e óleo essencial
	- Sorvetes, balas, bombons, chicletes e gomas	
Medicamentos	- Estimulante do sistema nervoso central	Extrato de cafeína e teobromina
	- Compostos para o tratamento de hipertensão, bronquite e pneumonia	Extrato de flavonóides
Higiene geral	- Bactericida e antioxidante hospitalar e doméstico - Esterilizante e emulsificante	Extrato de saponina e óleo essencial
Produtos de uso pessoal	- Perfumes, desodorantes, cosméticos e sabonetes	Extrato de folhas seletivo e clorofila

FONTE: Adaptado de MAZUCHOWSKI e RÜCKER (1997).

O amplo campo de aplicação da erva-mate tem resultado no uso da espécie nas mais diversas áreas, as quais envolvem estudos sobre a composição química e aplicação farmacológica até a abordagem agrônômica, considerando sua propagação, cultivo, melhoramento genético, entre outros aspectos relacionados à produção de matéria prima para a indústria.

Conforme dados da FAO, em 2019, a produção mundial de erva-mate foi de 945.962 toneladas. Nesse cenário, o Brasil foi responsável por mais de 50% da produção mundial, atingindo a marca 517.779 toneladas, em uma área colhida de 67.230 ha, resultando em uma produtividade média de 7.702 kg ha⁻¹. (FAO, 2021).

O estado do Rio Grande do Sul foi o principal produtor de erva-mate no levantamento de 2019, representando 45% da produção, seguido pelo Paraná com 37% da produção brasileira e Santa Catarina com 17% (IBGE, 2020).

Dada a importância da cultura da erva-mate no Brasil e no mundo, entre os principais desafios para a espécie, destacam-se a fase de produção de mudas, a qual necessita de contínuo aperfeiçoamento das técnicas visando a redução do tempo de permanência das mudas em viveiro e manutenção de alta qualidade das plantas, fator essencial para o estabelecimento de ervais bem formados.

2.2 PROPAGAÇÃO DA ERVA-MATE

A propagação da erva-mate é uma das fases de grande importância para a produção de matéria prima de qualidade. É a partir dessa fase, que devem-se ter os primeiros cuidados na seleção e escolha de matrizes para a clonagem de materiais genéticos de alta qualidade e produtividade, garantindo o estabelecimento de plantios comerciais com plantas altamente produtivas e com composição fitoquímica de interesse para a indústria (WENDLING; SANTIN, 2015). Sendo assim, os estudos com propagação da erva-mate, buscam desde o princípio, a melhor forma para a multiplicação da espécie com eficiência e viabilidade.

De modo geral, existem duas principais técnicas de propagação da erva-mate, sendo elas por sementes (propagação sexuada) e por estaquia/miniestaquia (propagação vegetativa) (WENDLING et al., 2020).

Tradicionalmente, a propagação da erva-mate por meio de sementes é ainda o método mais utilizado, principalmente devido ao fato de apresentar um menor custo, possuir maior facilidade de execução e haver maiores informações disponíveis sobre a técnica (DANIEL, 2009; SANTIN et al., 2015). Todavia, apresenta as desvantagens de requerer tempo para estratificação das sementes, baixo percentual de germinação e alta variabilidade genética (WENDLING, 2004).

Por apresentar dormência embrionária (embrião imaturo) (FOWLER, BIANCHETTI, 2000) e tegumentar (FOWLER; STURION; ZUFFELLATO-RIBAS,

2007), as sementes de erva-mate recém colhidas não apresentam condições de germinar, passando por um período de repouso de até dois anos (CUQUEL et al., 1994), o que exige a técnica de estratificação, que consiste em armazená-las em camadas de areia úmida por um período de cinco a seis meses (ZANON, 1988; CUQUEL et al., 1994; MEDRADO, MOSELE, 2004).

Além da dormência das sementes, os plantios de erva-mate provenientes de sementes coletadas sem critérios técnicos apresentam desenvolvimento heterogêneo, com respostas negativas na produtividade e qualidade do produto final (WENDLING, 2004). Segundo o autor, esses problemas podem ser minimizados ou até solucionados com a obtenção de mudas por propagação vegetativa de indivíduos geneticamente superiores.

Em relação à propagação vegetativa, a técnica da estaquia consiste na reconstituição vegetal a partir de qualquer parte vegetativa destacada da planta-mãe (raiz, caule, folha, gema) na qual, em condição favorável, promove a formação de raízes adventícias dando origem a uma nova planta (JANICK, 1966; FACHINELO et al., 2005). Tal processo é possível em razão da totipotência celular, na qual as células detêm de toda informação genética necessária para a regeneração de uma planta completa (KERBAUY, 2004).

A propagação da erva-mate por estaquia possibilita a formação de mudas de qualidade em curto espaço de tempo, uniformes e com a possibilidade de clonagem de genótipos de interesse (HIGA et al., 1982; GRAÇA et al., 1988; WENDLING, 2004; BITENCOURT et al., 2009; DORIGON, OLIVEIRA, 2016).

Embora a estaquia seja altamente eficiente para algumas espécies, a utilização de material vegetal com maior grau de maturidade, como por exemplo, ramos maduros de árvores adultas, é uma das possíveis causas da baixa porcentagem de enraizamento de estacas de erva-mate. Desta forma, torna-se necessária a utilização de técnicas que visem resgatar a juvenildade de estacas, sendo a técnica da miniestaquia uma das alternativas (WENDLING, 2004).

A miniestaquia surgiu no início na década de 1990 com o gênero *Eucalyptus* (WENDLING, 1999; HIGASHI; SILVEIRA, 2000) e pode ser considerada um aperfeiçoamento da estaquia, viabilizando a propagação em espécies onde a estaquia convencional não apresenta bons resultados. Os resultados positivos da miniestaquia podem ser atribuídos principalmente ao rejuvenescimento de células e

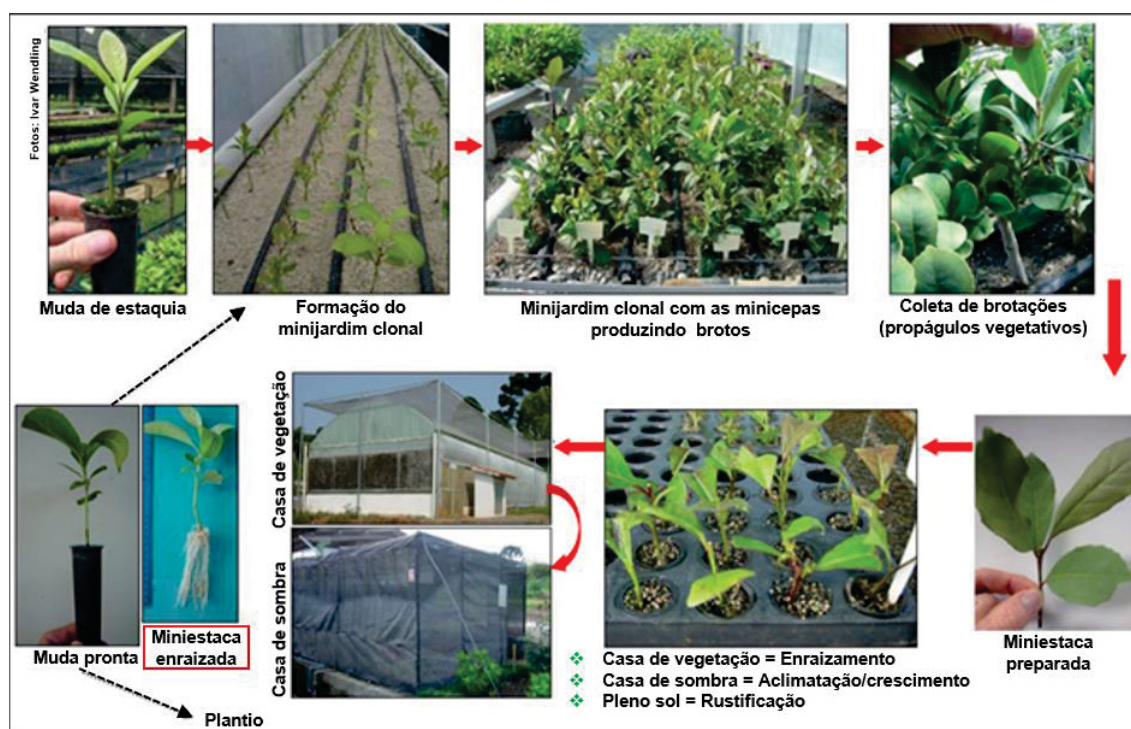
tecidos vegetais, que por sua vez, favorecem o enraizamento adventício (TITON et al., 2002; ALFENAS et al., 2009).

Tecnicamente, a miniestaquia consiste na utilização de brotações de plantas (minicepas) que foram inicialmente propagadas pelo método da estaquia convencional ou por sementes, e então conduzidas em sistema de minijardim clonal (conjunto das minicepas) para servirem de fonte de propágulo vegetal (miniestacas) (WENDLING, 1999; ALFENAS et al., 2009; WENDLING et al., 2010).

As minicepas podem ser conduzidas em diferentes sistemas, podendo ser plantadas em recipientes (vasos, sacos plásticos, tubetes) ou sistema de canaletões (amianto ou concreto) com leito de areia e fertirrigação localizada, sendo este último sistema o mais aplicado comercialmente (MAFIA et al., 2005; BRONDANI et al., 2010).

Para a formação do minijardim clonal, a muda de estaquia é plantada no sistema de condução escolhido e então é realizada a poda do ápice da muda, que irá emitir novas brotações, as quais servirão de propágulos vegetativos. A parte basal da brotação da estaca podada constitui uma minicepa que será fonte de novas brotações que servirão de propágulos (miniestacas) em intervalos de tempo conforme o crescimento das brotações (FERRARI et al., 2004) (Figura 3).

FIGURA 3 – PROCEDIMENTOS PARA A FORMAÇÃO DE UM MINIJARDIM CLONAL E TÉCNICA DE MINIESTAQUIA EM ERVA-MATE.



FONTE: Adaptado de Wendling et al. (2020).

As miniestacas de erva-mate são geralmente preparadas com tamanhos de 4 a 8 cm, com remoção do ápice e manutenção de um par de folhas reduzidas em aproximadamente 50% da área foliar (BRONDANI et al., 2007; WENDLING et al., 2007; SÁ et al., 2018; PIMENTEL et al., 2019). Recentemente alguns autores tem recomendado a utilização de miniestacas sem a redução da área foliar, mantendo-se de 2 a 3 pares de folhas (WENDLING et al., 2020), ou ainda, de 2 a 3 folhas inteiras (DUARTE et al., 2020b).

Após o preparo das miniestacas, estas devem ser acondicionadas em recipiente com água para que não desidratem até o momento do plantio (WENDLING et al., 2020), o que geralmente é realizado em tubetes cônicos de 55 cm³ a 110 cm³ (WENDLING; SANTIN, 2015), utilizando substrato comercial a base de vermiculita, casca de arroz carbonizada e casca de pinus (WENDLING et al., 2007), fibra de coco, vermiculita, carvão vegetal e casca de pinus (SÁ et al., 2018).

Quanto à utilização de regulador vegetal para indução do enraizamento adventício, devido ao maior grau de juvenildade das miniestacas quando comparada à estaquia convencional, as concentrações de reguladores utilizados são geralmente menores, ou até mesmo dispensáveis para alguns materiais genéticos (WENDLING; SANTIN, 2015). Por exemplo, os genótipos de erva-mate estudados por Sá et al. (2018) apresentaram melhor resposta de enraizamento quando as miniestacas foram submetidas a tratamento com 8.000 mg L⁻¹ de ácido indol butírico (IBA). Por outro lado, Pimentel et al. (2019), também trabalhando com erva-mate, afirmaram ser desnecessária a utilização de IBA no enraizamento de miniestacas de quatro genótipos estudados.

As diferentes respostas observadas nos estudos mostraram que a capacidade rizogênica poderá diferir drasticamente entre as espécies florestais, bem como entre os clones de uma mesma espécie, sendo a rizogênese controlada geneticamente por meio da capacidade das células sofrerem desdiferenciação (HAISSIG, 1982; XAVIER et al., 2013). A necessidade de desenvolvimento de protocolos específicos para a propagação de erva-mate por clones selecionados é de extrema importância, uma vez que a variação na rizogênese entre indivíduos é muito alta (WENDLING, 2004).

Tavares (1992) destacou que as procedências e progênies de erva-mate variaram de 0% a 100% na capacidade de enraizamento, havendo dessa forma a necessidade de estudar o enraizamento de diferentes genótipos de erva-mate como

critério de seleção. Para Dorigon e Oliveira (2016), há necessidade de mais pesquisas e que sejam selecionadas matrizes de elevada qualidade de matéria prima e produtividade, combinadas com satisfatória capacidade de enraizamento das mudas.

2.3 FATORES ENVOLVIDOS NO ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO

O processo de enraizamento adventício pode ser influenciado por diversos fatores, dentre eles: o potencial genético da espécie, as condições fisiológicas e nutricionais da planta fornecedora de propágulos, a idade da planta matriz e dos propágulos (quanto à maturação e juvenilidade), o tipo e a posição de coleta dos propágulos, o balanço hormonal, a concentração interna de inibidores, a presença de cofatores e a sanidade da planta (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; XAVIER et al., 2013).

Pode ser influenciado também por fatores extrínsecos, relacionados com as condições o ambiente de enraizamento (umidade, temperatura, luminosidade), o tipo e a qualidade do substrato, a época de coleta (estação do ano) e a aplicação de reguladores vegetais (XAVIER et al., 2013; HARTMANN et al., 2011).

Em relação ao potencial genético, sabe-se que o processo de formação de raízes adventícias é controlado geneticamente por meio da capacidade de algumas células sofrerem desdiferenciação em condições satisfatórias para expressão gênica (HAISSIG, 1982), ocorrendo em três fases sucessivas e interdependentes: indução, iniciação/formação e expressão (PACURAR; PERRONE; BELLINI, 2014). Que por sua vez, podem estar diretamente relacionadas com o conteúdo endógeno dos propágulos, visto que esse trata-se de um fator que determinam se uma espécie é fácil, relativamente fácil ou de difícil enraizamento (FACHINELLO et al., 2005).

No caso da erva-mate, sabe-se que a capacidade rizogênica das miniestacas é variável e depende do material genético utilizado (SÁ, 2018; PIMENTEL et al., 2019), com resultados que podem variar de 0% a 100% de enraizamento (TAVARES et al., 1992; DUARTE, 2020a).

O conteúdo e as concentrações endógenas de hormônios promotores ou inibidores do enraizamento variam de acordo com a espécie e o estágio de desenvolvimento vegetal, sendo que para que ocorra o enraizamento adventício, é necessário haver um balanço hormonal e dos cofatores da rizogênese. Dessa forma,

a utilização exógena de auxinas na base das estacas pode promover alterações hormonais, favorecendo ou não o enraizamento (HARTMANN et al., 2011).

A utilização de auxinas exógenas tem sido amplamente utilizada e eficiente na propagação vegetativa de plantas de interesse comercial (TAIZ; ZEIGER, 2013), sendo o ácido indol butírico (IBA) a principal auxina sintética utilizada para favorecer a formação de raízes em estacas (HARTMANN et al., 2011). Como já mencionado, para a erva-mate, a literatura apresenta resultados bastante variáveis em relação à aplicação de IBA para a indução do enraizamento adventício, devendo-se realizar testes para verificar a necessidade individual de materiais de interesse.

É importante ressaltar que outros grupos de hormônios também interferem na promoção ou inibição do enraizamento, sendo que dificilmente atuam de modo isolado, cujas respostas são provenientes da interação entre hormônios e outros sinais (RAVEN et al., 2014).

A composição nutricional é outro fator de suma importância. O zinco, por exemplo, é ativador do aminoácido triptofano, que por sua vez, é precursor do ácido indol acético (IAA), auxina endógena mais abundante. Já o boro, quando utilizado em combinação com IBA, pode aumentar a percentagem e a velocidade da formação de raízes. Ademais, o equilíbrio entre alguns nutrientes como o fósforo, o potássio, o cálcio e o magnésio, favorecem o enraizamento (FACHINELLO et al., 2005).

Além da composição nutricional, compostos fitoquímicos endógenos, como por exemplo, carboidratos, proteínas e compostos fenólicos, também estão envolvidos na capacidade de enraizamento adventício (LI et al., 2009; ZHANG et al., 2017b). Os carboidratos sintetizados pelo processo de fotossíntese são utilizados como recurso energético na indução e no desenvolvimento das raízes (ASLMOSHTAGHI; REZA-SHAHSAVAR, 2010; SOUZA et al., 2015), são fontes de carbono para biossíntese de ácidos nucleicos e proteínas (FACHINELLO, 2005) e, atuam na regulação da expressão gênica (WANG; RUAN, 2013).

As proteínas, por sua vez, atuam na divisão e diferenciação celular (HUSEN, 2008), na regulação da biossíntese das auxinas e em outras atividades fisiológicas, especialmente com função enzimática (SAIRANEN et al., 2012). Dentre as ações enzimáticas, estão envolvidos vários processos biológicos, os quais são responsáveis pela extensibilidade da parede celular (HUSEN, 2008), transporte de

auxinas (PEER et al., 2011) e pelo controle endógeno do excesso de IAA, mediante a conjugação da auxina com aminoácidos (SORIN et al., 2006).

Já em relação aos compostos fenólicos, esses podem afetar os teores endógenos de IAA (SHIOZAKI et al., 2013), estimulando (polifenóis) ou inibindo (monofenóis) o enraizamento (ONO; RODRIGUES, 1996). Os flavonóides, por exemplo, atuam como inibidores do transporte basípeto de IAA (PEER et al., 2007) e o ácido cinâmico estimula a oxidação do IAA (SHIOZAKI et al., 2013). Em contrapartida, outros compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes, como por exemplo o floroglucinol e o ácido clorogênico, que previnem a degradação das auxinas pelas peroxidases e, conseqüentemente, estimulam o enraizamento (SHIOZAKI et al., 2013).

A idade da planta fornecedora de propágulos é outro fator que interfere na rizogênese adventícia (ZHANG et al., 2017a). Em geral, a capacidade de enraizamento de propágulos vegetativos diminui com o aumento da maturidade da planta matriz (HUSEN; PAL, 2006). Assim sendo, o potencial de enraizamento de propágulos maduros é menor em comparação aos propágulos juvenis (KIBBLER; JOHNSTON; WILLIAMS, 2004; WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014).

Outro fator envolvido no enraizamento adventício refere-se à época de coleta dos propágulos (diferentes estações do ano), uma vez que as variações ambientais podem influenciar as condições fisiológicas da planta-mãe (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; HARTMANN et al., 2018) e, conseqüentemente, na formação do sistema radicial. A exemplo disso, variações de temperatura e fotoperíodo ao longo do ano influenciam os níveis endógenos de auxina, teor de carboidratos, e outros componentes endógenos (COSTA et al., 2013).

Para erva-mate, os resultados encontrados na literatura em relação a melhor época de coleta para o enraizamento adventício de miniestacas tem mostrado respostas variáveis. Em um estudo realizado por Sá et al. (2018), a primavera foi a época mais promissora, enquanto que Pimentel et al. (2016) concluíram que a melhor época para o enraizamento das miniestacas de erva-mate foi no outono e inverno. Desta forma, fica evidente a necessidade de avaliar épocas de coleta de propágulos para enraizamento considerando as características individuais de cada genótipo de interesse.

Tão importante quanto os fatores já mencionados, são os fatores relacionados ao ambiente de enraizamento, os quais são determinantes no processo de rizogênese. Em alguns experimentos realizados Wendling; Brondani (2006) e Brondani et al. (2007), foram verificadas que as condições de temperatura entre 20°C a 30°C, e umidade relativa do ar igual ou superior a 80%, obtidas em casa de vegetação com nebulização intermitente, são condições adequadas para o enraizamento de estacas e miniestacas de erva-mate. A nebulização da casa de vegetação mantém a umidade das folhas, reduzindo a desidratação, garantindo com que as folhas se mantenham funcionais por um maior tempo, fator que pode ser decisivo para o enraizamento (WENDLING; SANTIN, 2015).

Em relação ao fator luminosidade, sua importância está relacionada com a atividade fotossintética (XAVIER, 2002) e com a degradação (foto-oxidação) de auxinas, uma vez que a baixa intensidade de luz sobre a planta-mãe, antes da coleta dos propágulos, pode favorecer o enraizamento por preservar a presença de auxinas. Além disso, durante a fotossíntese, a etapa fotoquímica fornece energia para a manutenção das atividades metabólicas da miniestaca (KOMISSAROVIC, 1969), sendo que variações luminosas sobre as plantas matrizes podem ativar ou inibir cofatores do enraizamento, bem como o teor de auxina na planta (HARTMANN et al., 2011).

Por fim, mas não menos importante que os demais fatores mencionados, é o substrato para o enraizamento. Este, deve sustentar as estacas e proporcionar boa aeração, deve possuir alta capacidade de retenção de água, além de ser bem drenado, livre de patógenos e manter a base da estaca no escuro (HARTMANN et al., 2011). Avaliando a qualidade de diferentes substratos no enraizamento de miniestacas de erva-mate, Kratz et al. (2015) verificaram que as composições com proporções balanceadas de fibra de coco e casca de arroz carbonizada foram as responsáveis pelas melhores características radiciais. Já no estudo realizado por Brondani et al. (2007), o uso do substrato casca de arroz carbonizada + substrato para enraizamento à base de casca de Pinus e vermiculita (1:1 v/v) foi o mais indicado para *Ilex paraguariensis*.

Vários estudos com estaquia e miniestaquia de erva-mate tem utilizado substratos comerciais à base de casca de Pinus (SÁ et al., 2018; PIMENTEL et al. 2019) e vermiculita (BITENCOURT et al., 2009; DUARTE et al., 2020b; STUEPP et

al., 2017), geralmente contendo também casca de arroz e turfa e na sua composição.

2.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA ERVA-MATE

A erva-mate apresenta uma rica composição química, composta por minerais, vitaminas, compostos fenólicos (ácido cafeico, ácido clorogênico), metilxantinas (cafeína, teobromina e teofilina), terpenos (carotenóides, saponinas) flavonoides (quercetina, campferol, rutina) (HECK; DE MEJIA, 2007; MELO et al., 2020), além dos conteúdos de proteínas e fibras alimentares determinados em alguns estudos (ESMELINDRO et al., 2002; TOMASI et al., 2021).

Sua composição de metabólitos secundários também é extensa. Em um estudo realizado por Melo et al. (2020), a análise de compostos polares (metabolômica) via CG-EM possibilitou a detecção de 96 compostos em tecido foliar de erva-mate, incluindo açúcares, açúcares álcoois e ciclitóis, açúcares ácidos, desoxiaçúcares, anidros açúcares, aminoácidos, compostos nitrogenados, ácidos orgânicos, compostos fenólicos, orgânicos fosfatados, lipídios, ácidos graxos, compostos aromáticos e inorgânicos.

Dentre os compostos de maior interesse na erva-mate, destacam-se a cafeína, que por sua vez, é a metilxantina encontrada em maiores quantidades quando comparada à teobromina e teofilina (VALDUGA et al., 2019), podendo ser encontrada em concentração entre 0,1% (DUARTE et al., 2020c) a 3,7% de tecido seco (DUARTE, 2020a). A cafeína é um derivado da xantina, quimicamente relacionada com teofilina e teobromina, as quais se diferenciam pela potência de suas ações farmacológicas sobre o sistema nervoso central (ALTIMARI et al., 2006).

A cafeína pertence ao grupo dos estimulantes do sistema nervoso central e, em geral, seus efeitos consistem no aumento do estado de alerta e redução da sensação de fadiga, entre outros estímulos (GUERRA et al., 2000).

A teobromina é um alcaloide derivado da purina e, suas propriedades têm despertado grande interesse médico devido sua capacidade estimulante com efeito no cérebro, coração, secreção gástrica e funcionamento dos rins (ETENG et al., 1997; GIRARDI, 2002).

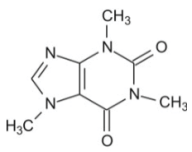
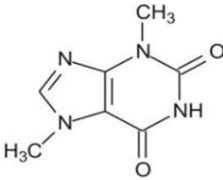
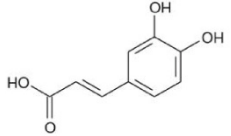
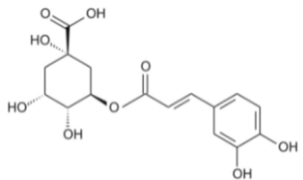
Em um estudo realizado com dezesseis progênies, comparando-se procedências e localidade de cultivo, Cardoso Junior et al. (2003) verificaram

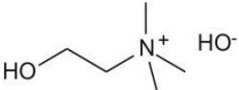
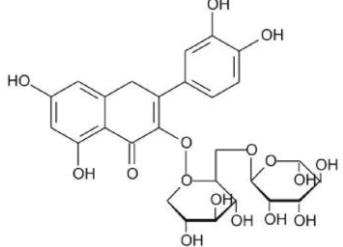
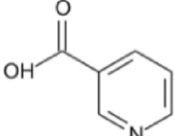
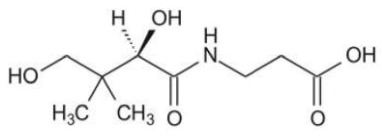
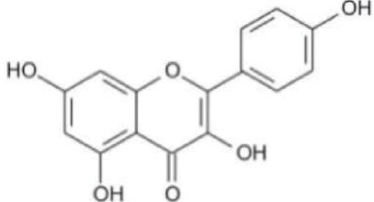
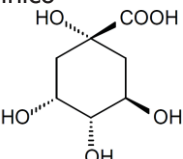
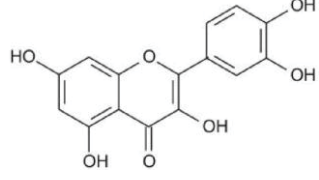
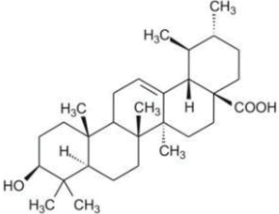
diferenças significativas entre os teores de cafeína. Conforme Ruiz et al., (2015), a produção e o acúmulo das metilxantinas e polifenóis em erva-mate podem apresentar variações por fatores genéticos, ambientais, técnicas de cultivo e o processamento.

Já em relação aos flavonóides, esses possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatória, antitumoral, antitrombogênica e antiviral, sendo capazes de aumentar a resposta imune do organismo (OHEM, HOLZL, 1988; BLUMBERG, CAPPELLANO, 2002; GIRARDI, 2002). Os principais flavonóides constituintes na erva-mate são a rutina, a quercetina-3-glicosídeo e o canferol-3-rutinosídeo (FILIP et al., 2001). Cerca de 20 a 30% da composição da erva-mate são polifenóis hidrossolúveis, como ácido isoclorogênico, ácido cafeico e ácido clorogênico, apresentando atividades antioxidantes e hepatoprotetoras (FILIP et al., 2001).

Além dos compostos já mencionados, outros compostos bioativos e suas respectivas atividades farmacológicas são apresentados na Tabela 2, adaptada de Melo (2018).

TABELA 2 – COMPOSTOS IDENTIFICADOS, ATIVIDADE FARMACOLÓGICA EM *Ilex paraguariensis* E REFERÊNCIAS

Composto	Atividade	Referências
Cafeína 	Anticancerígeno Antiobesidade Antioxidante Antitumoral Diurético Estimulante Vasodilatador	Duke (1992) Gonzales et al. (1993) Polimilio et al. (2002) Schinella et al. (2005) Heck; Mejia (2007) Bracesco et al. (2011)
Teobromina 	Diurético Estimulante Miorrelaxante	Gonzales et al. (1993) Schubert et al., 2006 Heck; Mejia, 2007 Riachi; De Maria (2017)
Ácido cafeico 	Antioxidante Estimulante Antibacteriano	Duke (1992) Filip et al. (2001) Schubert et al. (2006)
Ácido clorogênico 	Antioxidante Antibacteriano Colinérgica Antitumoral Analgésico	Duke (1992) Andersen; Fogh (2001) Filip et al. (2001) Gugliucci; Menini (2002) Heck; Mejia (2007) Mejia et al. (2010) Isolabella et al. (2010)

Colina		Previne a diabetes Colinérgica Lipotrópico	Duke (1992) Opala et al. (2006) Heck; Mejia (2007)
Rutina		Antitumoral Antioxidante Previne a úlcera Vasodilatador Antimutagênico	Duke (1992) Filip et al. (2000) Isolabella et al. (2010)
Ácido Nicotínico		Colinérgico Hipocolesterolêmico	Filip; Ferraro (2003) Heck; Mejia (2007)
Ácido Pantoténico		Antialérgico Antiarrátrica Antifadiga	Duke (1992) Heck; Mejia (2007)
Campferol		Antioxidante Antibacteriano Antitumoral	Heck; Mejia (2007) Correa et al. (2017) Isolabella et al. (2010)
Ácido quínico		Cicatrizante Anti-inflamatória Anti-hemorrágico	Duke (1992) Prince; Senthil (2012) Riachi; De Maria (2017)
Quercetina		Antioxidante Antialérgico Antitumoral Antiviral Anti-inflamatória	Duke (1992) Riachi; De Maria (2017) Isolabella et al. (2010)
Ácido ursólico		Analgésica Antioxidante Antiarrátrico Antitumoral Previne o Alzheimer	Gnoatto et al. (2005) Heck; Mejia (2007) Riachi; De Maria (2017)

FONTE: Adaptado de Melo (2018).

Como visto, a erva-mate apresenta potencial de uso para indústria farmacêutica e alimentícia, tornando-se o melhoramento genético necessário, não apenas para produtividade de matéria prima em quantidade, mas também com ênfase em uma maior produção de compostos de interesse comercial (MELO, 2018).

2.5 PRODUTIVIDADE DE MINIESTACAS E MASSA VERDE DE ERVA-MATE

Com o desenvolvimento da técnica de miniestaquia, a produção de propágulos vegetativos se tornou uma necessidade essencial. Desde então, alguns estudos avaliaram a produtividade de miniestacas de eucalipto (FREITAS et al., 2017), *Tibouchina spp.* (LATOHO et al., 2018) e erva-mate (WENDLING et al. 2007; PIMENTEL et al., 2019), visando verificar o potencial dessas espécies no fornecimento dos propágulos.

Para erva-mate, Wendling et al. (2007) verificaram que a produtividade de miniestacas em sistema semi-hidropônico é tecnicamente viável, e obtiveram uma produtividade média de até 298,5 miniestacas m⁻² por coleta (11 coletas num período de 391 dias). Os autores constataram também que a solução nutritiva utilizada influenciou na sobrevivência e produtividade das minicepas. Já no estudo realizado por Pimentel et al. (2019), estes obtiveram uma produtividade de até 145,8 miniestacas/minicepa (em um intervalo de 90 dias entre coletas) e também observaram diferença de produtividade entre genótipos e época do ano.

Visto que para o estabelecimento de um programa de propagação vegetativa por miniestaquia existe a necessidade de um contínuo fornecimento de propágulos, a avaliação da produtividade das minicepas é uma característica de considerável importância.

Já em relação à produtividade de massa verde de erva-mate, os estudos têm-se concentrado em sua maioria nas condições de campo (SANTIN et al., 2014; 2015; 2017a, 2017b; 2019), os quais relatam produtividade variando de 10,5 t ha⁻¹ ano⁻¹ (SANTIN et al., 2017b) a 14,5 t ha⁻¹ ano⁻¹ (SANTIN et al., 2014). Por outro lado, o sistema “Erva 20”, desenvolvido pela Embrapa Florestas, propõe uma possível produtividade de 20 toneladas ha⁻¹ de erva-mate (em 18 meses), em ervais comerciais com alto grau de adoção tecnológica e adubação adequada (PENTEADO JUNIOR; GOULART, 2019).

A produtividade em sistema semi-hidropônico, no entanto, tem sido uma novidade para a cultura da erva-mate. Trata-se de um sistema que ainda se encontra em avaliação, com poucos estudos (TOMASI, 2020; AGUIAR, 2021). Todavia, tais estudos mostraram que este sistema pode ser muito promissor, com possibilidade de proporcionar produtividade superior ao sistema convencional.

Tomasi (2020) verificou que a utilização do sistema semi-hidropônico para a produção de folhas de erva-mate possibilita bons resultados e uma produção contínua ao longo do ano, com possibilidade de se tornar um novo sistema de cultivo para a espécie. A partir disso, Aguiar (2021) avaliou a produtividade de massa verde nesse sistema e obteve uma alta produtividade de massa comercial ($36,91 \text{ t ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), superando a produtividade a campo.

Considerando que tais estudos são recentes e pioneiros para produção de massa verde de erva-mate, destaca-se a importância de novos estudos com a produtividade em sistema semi-hidropônico, avaliando-se, por exemplo, soluções nutritivas para a produtividade de massa verde, seleção de genótipos altamente produtivos para esse sistema, bem como a viabilidade econômica na aplicabilidade deste em comparação ao sistema convencional.

3 CAPÍTULO I. PROPAGAÇÃO VEGETATIVA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE GENÓTIPOS DE ERVA-MATE*

RESUMO

Ilex paraguariensis, mais conhecida como erva-mate, é uma espécie arbórea nativa da América do Sul. Seu valor comercial se deve à fabricação de chás, com potencial também na área farmacológica e indústria cosmética. A propagação vegetativa da erva-mate é considerada uma inovação ao sistema tradicional de produção de mudas, que tradicionalmente é realizado principalmente pela propagação sexual. O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial rizogênico e atributos químicos de miniestacas de 15 genótipos de erva-mate, bem como verificar a correlação entre variáveis fitoquímicas e relacionadas ao enraizamento. Miniestacas foram coletadas de um minijardim clonal estabelecido em sistema semi-hidropônico em areia e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 15 tratamentos (genótipos), 4 repetições e 10 miniestacas por parcela. Após 120 dias em casa de vegetação, foram avaliados: porcentagem de enraizamento, número médio de raízes, comprimento médio de raízes, miniestacas com calos, com calos e raízes, sobrevivência, mortalidade e retenção de foliar. Para as análises fitoquímicas (compostos fenólicos totais, proteínas, cafeína, teobromina e atividade antioxidante) subamostras de miniestacas de cada parcela foram coletadas. A porcentagem de enraizamento variou de 5 a 72,5%, com diferença significativa entre os genótipos. O enraizamento adventício e o perfil fitoquímico de miniestacas de erva-mate são dependentes do genótipo. A retenção foliar é um fator relevante no enraizamento de miniestacas de erva-mate e os teores de compostos fenólicos totais, antioxidantes e teobromina presentes nas miniestacas são negativamente correlacionados ao seu enraizamento adventício.

Palavras-chave: Cafeína. Calogênese. *Ilex paraguariensis*. Miniestaca. Enraizamento. Compostos fenólicos.

*Artigo publicado na Revista Plant Genetic Resources em 30/03/2021.

VEGETATIVE PROPAGATION, CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF YERBA MATE GENOTYPES

ABSTRACT

Ilex paraguariensis, commonly known as yerba mate, is a tree species native to South America. Its commercial value is due to the manufacturing of teas, with potential also in the pharmacological and cosmetic industries. Vegetative propagation of yerba mate is considered an innovation to the traditional production systems of seedling production, which traditionally is carried out mainly by sexual propagation. The present study aimed to evaluate the rhizogenic potential and chemical attributes of mini-cuttings from 15 yerba mate genotypes, as well as to verify the correlation between phytochemical and rooting-related variables. Mini-cuttings were collected from a pre-existing mini-clonal hedge and the experimental design was completely randomized, with 15 treatments (genotypes), four replications and 10 mini-cuttings per plot. After 120 days, mini-cuttings were assessed regarding rooting, mortality, callogenesis and leaf retention percentages, percentage of mini-cuttings with both calluses and roots, number of roots and average root length. At the time of collection, subsamples from each plot were used for phytochemical analyses including total phenolic compounds, protein, caffeine and theobromine contents and antioxidant activity. Rooting percentages ranged from 5 to 72.5%, with significant variation among genotypes. Adventitious rooting and phytochemical profile of yerba mate mini-cuttings are genotype dependent. Leaf retention is a relevant factor in the rooting of yerba mate mini-cuttings and the levels of total phenolic compounds, antioxidants and theobromine present in mini-cuttings are negatively correlated components to *Ilex paraguariensis* adventitious rooting.

Keywords: Caffeine. Callogenesis. *Ilex paraguariensis*. Mini-cutting. Rooting. Phenolic compounds.

3.1 INTRODUÇÃO

Ilex paraguariensis A. St.-Hil. (Aquifoliaceae), popularmente conhecida como erva-mate, é uma espécie arbórea florestal, nativa da América do Sul, ocorrendo no Brasil, Argentina e Paraguai (CARVALHO, 2003). Esses três países são os responsáveis por praticamente toda a erva-mate produzida no mundo, perfazendo 1.016.085 toneladas do produto em 2017 (FAO, 2020). Só o Brasil produz mais de 60% do total de erva-mate produzida no mundo e 80% desse montante é usado para consumo local (REICHERT et al., 2013). A espécie possui considerável importância econômica, com amplo potencial de mercado, abrangendo desde a indústria farmacêutica e cosmética ao consumo tradicional (chás, chimarrão, tereré, (DARTORA et al., 2013). Os produtos da erva-mate estão se tornando cada vez mais populares em outros países, consumidos nos Estados Unidos, Alemanha e Síria, expandindo-se na última década para outros países como Espanha, Itália, Austrália, França, Japão, Coreia do Sul e Rússia, principalmente em virtude de seu sabor e propriedades estimulantes (CARDOZO JUNIOR; MORAND, 2016).

Caracterizada por sua riqueza fitoquímica, a erva-mate apresenta uma série de constituintes, incluindo minerais, vitaminas, compostos fenólicos, alcalóides (caféina, teobromina) e terpenos (carotenóides, saponinas) (HECK; DE MEJIA, 2007). Alguns desses compostos estão associados às atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antitumorais e antiobesidades (BRACESCO, et al. 2011). Estudos adicionais evidenciaram que os produtos da erva-mate exercem importante ação antimicrobiana (MARTIN et al., 2013), neuroprotetora (BRANCO et al., 2013), hipocolesterolêmica (BRAVO et al., 2014), hepatoprotetora (TAMURA et al., 2013), além de atividades diuréticas e anti-reumáticas (ISOLABELLA et al., 2010).

A geração de novas informações sobre as atividades farmacológicas e o desenvolvimento de novas oportunidades de mercado para os produtos de erva-mate evidenciam a necessidade de seleção de genótipos mais produtivos em relação à biomassa, produção de metabólitos secundários ou desempenho silvicultural geral para suprir a crescente demanda por matéria-prima de alta qualidade. De acordo com Santin et al. (2017), a seleção de plantas parentais de diferentes origens permite a identificação e o aprimoramento de características específicas de *I. paraguariensis*, o que pode resultar em maior produtividade e lucratividade. Nesse contexto, a caracterização fitoquímica de diferentes genótipos é

uma etapa fundamental para programas de melhoramento genético e para o estabelecimento de plantios comerciais de erva-mate.

Tão importante quanto a seleção de genótipos produtivos é a capacidade de propagar com eficiência essas plantas. Tradicionalmente, as plantas utilizadas para o estabelecimento de florestas comerciais de erva-mate são em sua maioria produzidas por sementes e originadas de viveiros não especializados, o que acaba resultando em plantios com baixa produtividade (SANTIN et al., 2008). Uma alternativa viável para superar esse problema é o desenvolvimento de protocolos para clonagem em grande escala a partir de genótipos altamente produtivos e com características desejadas (WENDLING; SANTIN, 2015).

Embora existam estudos na propagação comercial de *I. paraguariensis* por miniestaquia (WENDLING et al., 2007; SÁ et al., 2018; PIMENTEL et al., 2019, 2020), esses ainda são escassos, principalmente no que diz respeito a técnicas de rejuvenescimento para promover eficientemente a rizogênese em tecidos de árvores maduras (WENDLING e SANTIN, 2015), bem como estudos que correlacionem a composição química com a capacidade de enraizamento de genótipos selecionados.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a composição química, a atividade antioxidante e desempenho no enraizamento de miniestacas de 15 diferentes genótipos de erva-mate, bem como avaliar as correlações entre os componentes fitoquímicos e o potencial rizogênico dos propágulos vegetativos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Material vegetal e condições de crescimento

Os genótipos avaliados no presente estudo, com exceção da BRS BLD Aupaba, são originados de um programa de melhoramento genético da Embrapa Florestas, com base em um teste de procedências e progênies de meio-irmãos estabelecido na cidade de Ivaí-Paraná, Brasil. A seleção foi baseada em critérios relacionados a produtividade e composição química das plantas a campo. Os genótipos estudados foram denominados EC20, EC21, EC24, EC26, EC27, EC28, EC31, EC38, EC44, EC45, EC48, EC50, EC53, EC54 e BRS BLD Aupaba (a partir de agora referido como BRS), sendo este último, uma cultivar comercial de erva-mate usada como referência (WENDLING et al., 2017). As plantas parentais (árvores

de 10 anos) foram propagadas por estaquia convencional conforme descrito por Bitencourt et al. (2009). As estacas enraizadas dos genótipos selecionados foram transplantadas em junho de 2017 e mantidas como minicepas em um minijardim clonal para a coleta periódica de brotações. As minicepas foram cultivadas em condições de casa de vegetação (temperaturas mínimas e máximas de 13°C e 37°C, respectivamente, com uma média de 25,3°C e umidade relativa do ar $\geq 85\%$) na cidade de Colombo, Paraná, Brasil (25° 20'S e 49° 14'W, 950m acima do nível do mar). Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é temperado, tipo Cfb.

As plantas foram cultivadas a uma densidade de 44 minicepas por metro quadrado (espaçamento de 15 cm \times 15 cm) sob sistema semi-hidropônico em canaletão com areia lavada (WENDLING et al., 2007) (Figura 1A). A fertilização das minicepas foi realizada por solução nutritiva: N-NO₃⁻ (156,0 mg L⁻¹), N-NO₄⁺ (50,0 mg L⁻¹), P (25,0 mg L⁻¹), K⁺ (200,0 mg L⁻¹), Ca²⁺ (200,0 mg L⁻¹), Mg²⁺ (45,0 mg L⁻¹), S (76,9 mg L⁻¹), B (1,5 mg L⁻¹), Cu²⁺ (0,1 mg L⁻¹), Fe²⁺ (5,0 mg L⁻¹), Mn²⁺ (1,0 mg L⁻¹), Zn²⁺ (0,7 mg L⁻¹), Mo²⁻ (0,07 mg L⁻¹), fornecida via sistema de fertirrigação por gotejamento, três vezes ao dia em uma vazão total de 5 L m⁻² de acordo com as recomendações de Wendling; Santin (2015).

3.2.2 Avaliação do enraizamento das miniestacas

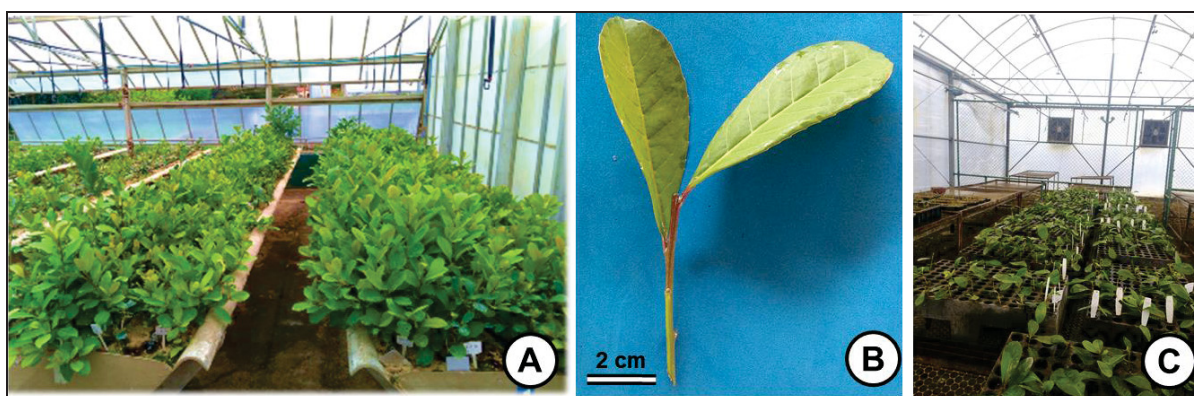
A partir das brotações das minicepas, foi realizada a coleta do material vegetal em abril de 2019 (outono). As miniestacas foram preparadas com comprimento médio de 5 cm (± 1 cm), com corte em bisel na porção basal e reto no ápice, mantendo-se um par de folhas na porção apical (Figura 1B). As miniestacas foram acondicionadas em caixa de isopor com água para evitar a desidratação. Imediatamente antes do plantio, estas foram retiradas da caixa de isopor e tiveram suas bases (cerca de um terço do comprimento do caule) imersas por 10 segundos em solução hidroalcolica (50% v/v) de ácido indol butírico (IBA - Merck®), na concentração de 3000 mg L⁻¹, conforme recomendada na literatura (WENDLING e SANTIN, 2015).

Após o tratamento com IBA, as miniestacas foram plantadas em tubetes de polipropileno com 55 cm³, preenchidos com substrato comercial a base de turfa de esfagno, vermiculita expandida, casca de arroz carbonizada, calcário dolomítico, gesso agrícola, fertilizante NPK e micronutrientes, sendo este pré-umedecido antes

do uso. As características químicas e físicas informados pelo fabricante são as seguintes: pH 5,0; condutividade elétrica 0,6 (mS cm⁻¹); umidade máxima 55% (p/p); densidade de 150 kg m⁻³ e capacidade de retenção de água -140% (w /w).

Após o plantio, as miniestacas foram mantidas em casa de vegetação (85% de umidade relativa e temperatura de 20 a 30°C) com nebulização intermitente (Figura 1C). Após 120 dias do plantio (WENDLING e SANTIN, 2015), foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de enraizamento (porcentagem de miniestacas com raízes de pelo menos 1 mm de comprimento), número médio de raízes por miniestaca; comprimento médio das três maiores raízes por miniestaca (cm); porcentagem de calogênese (miniestacas não enraizadas com a presença de massa de células indiferenciada na base); porcentagem de miniestacas que apresentaram calos e raízes, porcentagem de miniestacas vivas (miniestacas sem raízes nem calos, mas sem tecido necrótico); porcentagem de retenção foliar (miniestacas que mantiveram as folhas originais até o momento da avaliação), porcentagem de brotações desenvolvidas e porcentagem de mortalidade (miniestacas necrosadas). O experimento foi organizado em um delineamento inteiramente casualizado, com 15 tratamentos (genótipos), 4 repetições e 10 miniestacas por parcela.

FIGURA 1 – MINICEPAS DE *Ilex paraguariensis* EM MINIJARDIM CLONAL SOB SISTEMA SEMI-HIDROPONICO (A), PADRÃO DE MINIESTACA UTILIZADA (B), LEITO DE ENRAIZAMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO COM NEBULIZAÇÃO INTERMITNTE (C).



FONTE: O autor (2021).

3.2.3 Preparação de extrato aquoso de erva-mate para análises químicas

A partir das miniestacas coletadas para o experimento de enraizamento, subamostras de cada parcela (± 25 miniestacas, incluindo as folhas) foram retiradas para preparar o extrato aquoso usado para a caracterização fitoquímica e atividade

antioxidante. A quantidade total de material vegetal foi seca em forno micro-ondas por aproximadamente cinco minutos (1000- W, 2.450 MHz) e, posteriormente, triturada em moedor de laboratório (classificado como moagem fina - peneira 0,25 mm), e armazenado no freezer (-20°C) até a extração (TOMASI, 2020).

Para preparar o extrato aquoso, 0,1 g do material vegetal foi colocado em microtubo e acrescidos 2 mL de água ultrapura. A solução foi agitada em vórtex por 30 s e incubada por 1 h, a 60°C e 450 rpm usando um equipamento Thermomixer®. Os extratos aquosos foram filtrados em um Filtro de 0,22 µm e usados para determinar a capacidade antioxidante pelos métodos DPPH(2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico ácido)], teores de fenólicos totais e análises cromatográficas (cafeína e teobromina). A extração de cada parcela foi realizada em triplicata e o valor médio foi usado para análises estatísticas. O teor de umidade das amostras foi determinado em triplicada, com secagem em estufa a 105°C até peso constante (Método 920.151 - AOAC, 2000).

3.2.4 Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e proteínas

A capacidade antioxidante dos extratos aquosos por radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), foi verificada conforme o método descrito por Brand-Williams et al. (1995) com modificações. Uma quantidade de 0,1 mL de extrato aquoso foi adicionado em 3,9 mL de DPPH diluído em metanol (0,06 mmol L⁻¹) (ajustada para absorvância de 0,5 ± 0,05 nm). A solução foi mantida no escuro por 30 minutos em temperatura ambiente. Após este período, a absorvância foi determinada a 515 nm.

A atividade antioxidante dos extratos via radicais livres ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico ácido)] foi verificada pela reação de 10 mL de ABTS (7 mmol L⁻¹) com 176 µL de persulfato de potássio (140 mmol L⁻¹) no escuro à temperatura ambiente durante 16 horas. Uma alíquota de 1 mL dessa solução foi adicionada em 100 mL de tampão de acetato de sódio (20 mmol L⁻¹) e pH 4,5. A absorvância foi ajustada para 0,7 ± 0,05 nm e 3 mL foram adicionados a 30 µL de extrato. Após 2 horas (no escuro), a absorvância foi então determinada em espectrofotômetro a 734 nm (RE et al., 1999; YIM et al., 2013) com modificações (TOMASI, 2020).

A atividade antioxidante para ambos os métodos foi estimada usando uma curva analítica Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8- tetrametilcromo-2-ácido carboxílico)

(intervalo de 0-1000 e 0-2500 mg L⁻¹, para DPPH e ABTS, respectivamente). Os resultados foram expressos em μmol de capacidade antioxidante equivalente ao Trolox por grama de amostra seca ($\mu\text{molTEAC g}^{-1}$).

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu conforme descrito por Singleton e Rossi (1965), com pequenas modificações. Uma alíquota de 0,1 mL de extrato aquoso foi adicionada em balão volumétrico, seguido pela adição de 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu e 5 mL de água destilada. A solução foi agitada em vórtex por 1 minuto e na sequência adicionou-se 2 mL de solução aquosa de Na₂CO₃ a 15%. A solução foi agitada novamente por 30 segundos e o volume foi ajustado para 10 mL com água destilada. A solução foi mantida no escuro por 2 horas e posteriormente a absorbância foi determinada em espectrofotômetro a 760 nm. A curva padrão foi obtida com ácido gálico (ácido 3,4,5-tri-hidroxibenzoico) entre as concentrações de 0,25 e 10 mg L⁻¹ e os resultados expressos em mg equivalentes ao ácido gálico por grama de amostra seca (mgEAG g⁻¹).

O teor de proteína total foi determinado pelo método convencional Kjeldahl (digestão, destilação e titulação) (AOAC, 2016) sendo o conteúdo de proteína determinado multiplicando o teor de nitrogênio total pelo fator 6,25 (fator universal). Os resultados foram expressos como mg de proteína por grama de tecido vegetal seco (mg g⁻¹).

3.2.5 Avaliação do conteúdo de cafeína e teobromina por cromatografia líquida

As análises cromatográficas foram realizadas utilizando cromatógrafo líquido Shimadzu[®] (UFLC), controlado pelo Software LC Solution e equipado com injetor automático e detector de UV (SPD-20A). Para a separação dos compostos utilizou-se a coluna Shim-Pack CLC-ODS (M)[®] (250 x 4,6 mm, Ø 5 μm), com pré-coluna Shim-Pack CLC G-ODS[®] (10 x 4,0 mm, Ø 5 μm), ambos Shimadzu[®]. O volume de injeção foi de 20 μL do extrato aquoso (TOMASI, 2020).

A separação dos compostos no extrato aquoso foi realizada a 30°C com uma taxa de fluxo de 0,5 mL min⁻¹. As fases móveis consistiram em um gradiente de eluição de água e ácido acético (Alphatec[®]) (99,9: 0,1 v/v, solvente A) e acetonitrila (100%, solvente B). O programa de eluição de gradiente foi: 0-15 minutos (3% B), 15-20 minutos (3-20% B), 20-40 minutos (20% B), 40-45 minutos (20-30% B), 45-55

minutos (30-100% B), 55-5 minutos (100% B), 75-80 minutos (100-3% B) e 80-95 minutos (3% B). O comprimento de onda para compostos a detecção foi fixada em 280 nm.

A quantificação dos compostos cafeína (1,3,7-trimetilxantina) e teobromina (3,7-dimetilxantina) foi realizada a partir de curvas analíticas obtidas com padrões da Sigma® para cafeína ($R^2 = 0,9933$), e teobromina ($R^2 = 0,9827$). Os resultados foram expressos em mg de composto por grama de amostra (mg g^{-1}), em base seca.

3.2.6 Análise estatística

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett ($p < 0,05$). As variáveis cujas variâncias se mostraram homogêneas foram submetidas à análise de variância ($p < 0,01$ e $p < 0,05$) e as que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Scott-Knott. A porcentagem de miniestacas vivas e porcentagem de mortalidade não atenderam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias e foram, portanto, transformadas pela equação $\text{Log}_{10}(x + 10)$ para prosseguir com a análise de variância. Correlações de Pearson foram realizadas.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Desempenho da Miniestaquia

Diferenças significativas foram observadas entre os genótipos para todas as variáveis relacionadas ao enraizamento, sobrevivência e brotação das miniestacas. As miniestacas do genótipo EC24 apresentaram a maior porcentagem média de enraizamento (72,5%), não diferindo significativamente de BRS, EC21, EC54, EC20, EC27 e EC45 (Tabela 1).

Quanto ao número médio de raízes por miniestaca, verificaram-se diferenças de até 10 vezes entre os genótipos. EC24, BRS, EC21, EC54, EC20, EC45, EC31 e EC48 tiveram maior número de raízes por miniestaca (médias variando de 5,0 a 7,26) quando comparados com os demais genótipos. Tendência

similar foi observada para o comprimento médio das raízes, com exceção de EC48, que apresentou raízes relativamente curtas (média 0,96 cm) (Tabela 1).

O genótipo EC21 não apresentou miniestacas somente com calos, mas apresentou 30% dos propágulos com calos e raízes simultaneamente, não diferindo de EC24, BRS, EC21, EC54, EC27 e EC45, e todos sendo superiores aos demais genótipos para esta última variável. EC50 não apresentou miniestacas com formação simultânea de raízes e calos. Para miniestacas apenas com calos, EC24, BRS, EC20, EC31 e EC44 apresentaram os menores valores, não diferindo entre si. Em relação às porcentagens de brotação, todos os genótipos não atingiram mais de 10% (dados não mostrados), sem diferenças claras entre os diferentes materiais genéticos (Tabela 1).

A maioria dos genótipos com as maiores porcentagens de enraizamento apresentaram menores porcentagens de miniestacas vivas (miniestacas sem raízes nem calos, mas sem tecido necrótico), exceto para EC27 e EC20, que apresentaram porcentagens relativamente altas de enraizamento e miniestacas vivas. Quanto às taxas de mortalidade, EC24 não apresentou miniestacas mortas. EC54, EC20, EC27, EC45 e EC28 tiveram taxas de mortalidade mais baixas do que os demais, variando de 10 a 15% e não diferindo entre si (Tabela 1).

Os genótipos que apresentaram as menores porcentagens de enraizamento (EC53, EC28, EC38, EC31, EC26, EC48, EC50, EC44) também apresentaram os menores percentuais de retenção foliar (miniestacas que mantiveram as folhas originais no período de 120 dias), exceto EC53 e EC28, que tiveram porcentagens de enraizamento relativamente baixas (30 e 20%, respectivamente) e altas taxas de retenção de foliar (ambos com 70%). EC31 e EC26 apresentaram os menores percentuais de retenção foliar entre todos os genótipos avaliados (12,5 e 20%, respectivamente) (Tabela 1).

TABELA 1 – PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM RAÍZES (R), NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES POR MINIESTACA (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES POR MINIESTACA (CMR), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM CALOS E SEM RAÍZES (C), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM CALOS E RAÍZES (CR), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS VIVAS (V), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS MORTAS (M) E PORCENTAGEM DE RETENÇÃO FOLIAR (RF) DE 15 GENÓTIPOS (GEN.) DE *Ilex Paraguariensis* APÓS 120 DIAS EM CASA DE VEGETAÇÃO (2019).

Gen.	R (%)	NR	CMR (cm)	C (%)	CR (%)	V (%)	M (%)	RF (%)
EC24	72,50 a	6,74 a	4,04 a	20,00 b	52,50 a	7,50 b	-	97,50 a
BRS*	60,00 a	6,11 a	2,82 a	7,50 b	32,50 a	5,00 b	27,50 a	72,50 a
EC21	60,00 a	7,26 a	2,88 a	-	30,00 a	10,00 b	30,00 a	62,50 a
EC54	50,00 a	6,37 a	3,25 a	37,50 a	37,50 a	2,50 b	10,00 b	85,00 a
EC20	47,50 a	5,64 a	2,26 a	20,00 b	17,50 b	22,50 a	10,00 b	87,50 a
EC27	42,50 a	2,60 b	0,85 b	30,0 a	25,00 a	17,50 a	10,00 b	52,50 b
EC45	42,50 a	4,26 a	4,00 a	42,50 a	27,50 a	2,50 b	12,50 b	77,50 a
EC53	30,00 b	2,73 b	0,85 b	32,50 a	17,50 b	15,00 a	22,50 a	70,00 a
EC28	20,00 b	2,67 b	1,57 b	62,50 a	20,00 b	2,50 b	15,00 b	70,00 a
EC38	17,50 b	1,13 b	0,75 b	40,00 a	10,00 b	10,00 a	32,50 a	37,50 b
EC31	17,50 b	6,08 a	2,96 a	10,00 b	7,50 b	7,50 b	65,00 a	12,50 c
EC26	10,00 b	2,00 b	2,05 b	12,50 b	7,50 b	32,50 a	45,00 a	20,00 c
EC48	10,00 b	5,00 a	0,96 b	47,50 a	5,00 b	15,00 a	27,50 a	55,00 b
EC50	5,00 b	0,63 b	0,32 b	35,00 a	-	12,50 a	47,50 a	45,00 b
EC44	5,00 b	0,75 b	1,46 b	15,00 b	5,00 b	25,00 a	55,00 a	37,50 b
Média	32,66	2,64	2,07	27,50	19,67	12,50	27,33	58,84

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (Anexo 1). *BRS= BRS BLD Apupaba

3.3.2 Composição química

Os genótipos EC20, EC50, EC45, EC44 e EC31 apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos totais (até 111,5 mg g⁻¹), não diferindo significativamente entre os mesmos. Já os menores teores foram observados nos genótipos BRS, EC24 e EC27 (Tabela 2).

A atividade antioxidante medida pelo método ABTS apresentou variação de 1550,29 a 2790,41 µmolTEAC g⁻¹, embora nenhuma diferença significativa tenha sido observada entre os genótipos. Por outro lado, a atividade antioxidante avaliada pelo método DPPH foi significativamente afetada pelos genótipos. Os genótipos BRS, EC24, EC54, EC27, EC53, EC28 e EC38 apresentaram as menores capacidades antioxidante, não diferindo entre si (Tabela 2).

O genótipo EC31 apresentou resultado superior a todos os demais para as variáveis proteína e cafeína (194,01 e 28,26 mg g⁻¹, respectivamente), seguido por

EC27 (156,84 e 21,29 mg g⁻¹ proteína e cafeína, respectivamente), que não diferiu de EC50 para proteínas. O genótipo BRS, por outro lado, apresentou o menor teor de proteína (125,02 mg g⁻¹) e também o menor teor de cafeína, embora não seja significativamente diferente de EC28 nessa variável. O menor valor para teobromina foi obtido pelo genótipo EC26 (1,43 mg g⁻¹) enquanto o maior pelo EC44 (5,89 mg g⁻¹).

TABELA 2 – COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TP), CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (MÉTODOS ABTS E DPPH) E TEORES DE PROTEÍNAS, CAFEÍNA E TEOBROMINA EM MINIESTACAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*.

Genótipo	TP (mg g ⁻¹)	ABTS (μmol g ⁻¹)	DPPH (μmol g ⁻¹)	Proteína mg g ⁻¹	Cafeína mg g ⁻¹	Teobromina mg g ⁻¹
EC24	73,98 c	1638,79 a	717,03 b	143,70 d	11,47 g	2,10 f
BRS*	78,96 c	1800,19 a	709,15 b	125,02 f	13,14 f	1,87 f
EC21	90,88 b	2053,44 a	881,94 a	143,26 d	11,68 g	1,79 f
EC54	88,99 b	1550,29 a	685,93 b	131,27 e	13,90 e	3,29 e
EC20	111,50 a	1835,31 a	841,69 a	131,48 e	16,71 d	1,84 f
EC27	83,47 c	1625,87 a	738,18 b	156,84 b	21,29 b	3,83 d
EC45	102,38 a	2027,77 a	881,48 a	148,44 c	20,12 c	1,99 f
EC53	95,67 b	2243,55 a	698,44 b	140,98 d	14,40 e	3,16 e
EC28	90,67 b	1981,66 a	692,80 b	142,48 d	12,88 f	3,17 e
EC38	96,16 b	1879,26 a	594,00 b	149,10 c	17,39 d	3,15 e
EC31	109,98 a	2513,13 a	890,86 a	194,01 a	28,26 a	4,51 c
EC26	91,97 b	1903,85 a	812,43 a	139,41 d	14,17 e	1,43 g
EC48	95,16 b	2067,22 a	834,19 a	147,56 c	19,70 c	3,26 e
EC50	108,65 a	2790,41 a	811,10 a	152,81 b	14,17 e	5,25 b
EC44	106,41 a	2001,66 a	856,67 a	139,01 d	14,08 e	5,89 a
Média	94,99	1994,16	776,39	145,69	16,23	3,13

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (Anexo 2). *BRS= BRS BLD Apaba.

3.3.3 Análise de correlação

Correlação positiva significativa (0,93 P<0,01) foi observada entre a porcentagens de enraizamento de miniestacas de erva-mate e a porcentagem de formação de calos e raízes simultaneamente. A porcentagem de enraizamento também foi positivamente correlacionada com o número de raízes, comprimento de raízes e porcentagem de retenção foliar. A variável enraizamento foi negativamente correlacionada com a porcentagem de mortalidade, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante pelo método ABTS e teor de teobromina (Tabela 3).

TABELA 3 – COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE PERSON ENTRE VARIÁVEIS RELACIONADAS AO ENRAIZAMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*.

	ENR	NR	CMR	M	CR	RF	TP	AB	DP	P	Th	Cf
ENR	1											
NR	0.75**	1										
CMR	0.68**	0.75*	1									
M	-0.69**	ns	ns	1								
CR	0.93**	0.75**	0.71**	-0.75**	1							
RF	0.75**	ns	ns	-0.88**	0.76**	1						
TP	-0.59*	ns	ns	0.55*	-0.73**	ns	1					
AB	-0.58*	ns	ns	0.68**	-0.66**	ns	0.65**	1				
DP	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.55*	ns	1			
P	ns	ns	ns	ns	ns	-0.60*	ns	0.54*	ns	1		
Th	-0.61*	-0.52*	ns	0.54*	-0.53*	ns	ns	ns	ns	ns	1	
Cf	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.80**	ns	1

ENR = enraizamento (%); NR = número de raízes por miniestaca; CMR = comprimento médio das raízes por miniestaca (cm); M = miniestacas mortas (%); CR = miniestacas com calos e raízes (%); RF = retenção de folhas (%); TP = compostos fenólicos totais (g g⁻¹); AB = atividade antioxidante ABTS (g g⁻¹); DP = atividade antioxidante DPPH (g g⁻¹); P = conteúdo de proteína (mg g⁻¹); Th = teobromina (g g⁻¹); Cf = cafeína (g g⁻¹). ns: não significativo. ** Significativo ao nível de probabilidade de 1%; * Significativo ao nível de probabilidade de 5%.

O número médio de raízes por miniestaca foi positivamente correlacionado com o comprimento de raízes e a porcentagem de miniestacas com calos e raízes, por outro lado, apresentou correlação negativa com a variável teobromina. Os teores de teobromina foram negativamente correlacionados com uma série de variáveis relacionadas ao enraizamento e positivamente correlacionados com a mortalidade de miniestacas. A porcentagem de mortalidade também foi positivamente correlacionada com compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método ABTS.

Em relação à retenção foliar, essa foi positivamente correlacionada com miniestacas que apresentaram raízes e calos simultaneamente, bem como com a porcentagem de enraizamento. Por outro lado, foi verificada uma correlação negativa da retenção foliar com as variáveis mortalidade e conteúdo de proteína. Os teores de proteína apresentaram correlação positiva com os teores de cafeína das miniestacas de erva-mate.

Os fenólicos totais, além da correlação negativa mencionada acima com o enraizamento das miniestacas, apresentaram correlação positiva com a atividade antioxidante avaliada pelos métodos ABTS e DPPH.

3.4 DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância, verificou-se diferença significativa para todas as variáveis da avaliação de enraizamento, evidenciando uma grande variabilidade da capacidade rizogênica dos genótipos estudados. Tal informação é de grande importância para a propagação vegetativa comercial da espécie, uma vez que a exigência de cada genótipo pode demandar por metodologia específica para o sucesso da indução radicial. Efeitos do genótipo no enraizamento de miniestacas de *I. paraguariensis* foram observados em estudos e fatores como sazonalidade (melhor enraizamento no verão, outono ou inverno, dependendo do genótipo), tipos de miniestacas utilizados e uso de reguladores vegetais (até 3000 mg L⁻¹ IBA) foram apontados como estratégias potenciais para aqueles que apresentam menor potencial rizogênico, uma vez que os genótipos respondem de forma diferente aos estímulos ambientais (WENDLING e SANTIN, 2015; PIMENTEL et al., 2019; MAYER et al., 2020).

Um aspecto que parece estar relacionado aos altos percentuais de enraizamento é a capacidade das miniestacas de erva-mate manterem suas folhas. No presente estudo, os genótipos com a maior porcentagem de enraizamento, geralmente apresentaram também maiores porcentagens de retenção foliar, relação que foi confirmada pela correlação positiva observada entre essas duas variáveis. A manutenção das folhas é frequentemente associada com a capacidade de estacas acumularem carboidratos durante o período de enraizamento, bem como a produção de auxinas endógenas e cofatores de enraizamento (HARTMANN et al., 2011; BELNIAKI et al., 2018; GOMES et al., 2018).

Em um estudo qualitativo, Pimentel et al. (2020) relataram que miniestacas de genótipos de erva-mate que apresentam pequenas quantidades de carboidratos (amido) tendem a apresentar baixo desempenho de enraizamento. Em um estudo anterior com estacas convencionais de *I. paraguariensis*, Tarragó et al. (2005) também observaram uma alta correlação positiva entre retenção foliar e capacidade de enraizamento. O presente estudo reforça esse conceito para a clonagem da espécie, pois mostramos que a retenção foliar também é importante para propágulos mais rejuvenescidos (miniestacas) e não apenas para estacas convencionais.

Embora exista diferença entre a iniciação e o crescimento da raiz, no presente estudo os genótipos que apresentaram os maiores percentuais de

enraizamento também apresentaram maior número e comprimento de raízes, conforme evidenciado pelas correlações positivas entre essas variáveis (Tabela 3). Em geral, quanto maior o número de raízes, maior é a absorção de nutrientes e água pelas plantas, resultando em melhores taxas de crescimento (NAVROSKI et al., 2016) e melhores taxas de sobrevivência após o transplante (TSAKALDIMI et al., 2013). O comprimento das raízes variou de 0,32 a 4,0 cm no presente estudo, com valores semelhantes aos relatados por Sá et al. (2018) em estudo com miniestacas de *I. paraguariensis*.

A porcentagem de miniestacas com calos variou de 0 a 62,5% e não apresentou relação clara com o enraizamento ou mortalidade das miniestacas. Por outro lado, a porcentagem de miniestacas com calos e raízes apresentou correlação positiva com a porcentagem de enraizamento, número e comprimento de raízes. De acordo com Fachinello et al. (2005), os processos de calogênese e formação de raízes adventícias são geralmente influenciados pelos mesmos fatores, podendo ocorrer simultaneamente sem, no entanto, haver uma relação direta.

Resultados obtidos por Stuepp et al. (2017) suportam que *I. paraguariensis* apresenta rizogênese direta, ou seja, a formação de raízes se dá sem a dependência da formação de calos anteriormente. Além disso, os autores afirmam que a formação de calos é prejudicial ao enraizamento da espécie. Porém, no presente estudo, a formação de calos não pareceu ser prejudicial para o enraizamento e, para os genótipos EC28 e EC44, todas as miniestacas enraizadas também apresentaram formação de calos. Por outro lado, para os genótipos EC20 e EC50, respectivamente 64 e 100% das miniestacas enraizadas não apresentaram rizogênese precedido pela formação de calos. Portanto, pode ser inferido que a rizogênese direta ou indireta é dependente do genótipo em *I. paraguariensis*.

Considerando o longo tempo de permanência das miniestacas em casa de vegetação, foi observada porcentagem relativamente elevada de miniestacas vivas (não enraizadas e sem calos) em alguns genótipos (até 32,5%). Wendling e Santin (2015) afirmam que 120 dias em casa de vegetação é o período máximo recomendado para miniestacas de *I. paraguariensis* devido a aspectos econômicos. Miniestacas vivas, juntamente com a porcentagem relativamente alta de miniestacas não enraizadas e com calos (até 62,5%), evidencia que a mortalidade (geralmente relacionada à desidratação de miniestacas herbáceas), não foi o principal motivo para a falta de enraizamento em alguns genótipos de *I. paraguariensis*. Portanto,

estímulos ambientais como reguladores vegetais em concentrações superiores às utilizadas no presente estudo (3000 mg L^{-1} de IBA) podem ser uma estratégia para aumentar a porcentagem de enraizamento em genótipos com menor potencial rizogênico e maior mortalidade. Sá et al. (2018) relataram aumentos nas porcentagens de enraizamento de miniestacas de erva-mate com o uso de ácido indol butírico até a concentração de 8000 mg L^{-1} .

A mortalidade, entretanto, foi um problema para alguns genótipos como EC31, que apresentou até 65% das miniestacas com tecidos necróticos após 120 dias em casa de vegetação. Devido os resultados interessantes sobre atributos químicos (principalmente alto teor de cafeína, proteínas e compostos fenólicos totais) e capacidade antioxidante (DPPH), novas estratégias para melhorar a sobrevivência de miniestacas desse genótipo são necessárias. Aspectos ambientais como umidade relativa, características químicas e físicas do substrato utilizado e efeitos de sazonalidade na coleta dos propágulos, são alguns dos fatores que podem estar relacionados à sobrevivência e ao enraizamento adventício (HARTMANN et al., 2011).

O presente estudo é o primeiro relato da composição fitoquímica de 15 diferentes genótipos de erva-mate usando miniestacas, incluindo BRS, que foi previamente estudado apenas em relação à composição elementar e desempenho agrônomico (WENDLING et al., 2017; BARBOSA et al., 2018). Grande variação foi observada entre os genótipos; portanto, diferentes aplicações industriais podem ser adequadas para cada genótipo com base em suas características distintas e seu desempenho a campo, o qual ainda está por ser estudado e pode diferir daqueles observados em condições de casa de vegetação.

Para os compostos fenólicos totais, os teores variaram de 7,4% (74 mg g^{-1}) a 11,2%. Esses conteúdos são semelhantes aos relatados por Cardozo Junior et al. (2007), ao avaliarem 16 progênies de erva-mate de diferentes localidades do sul do Brasil (valores que variam de 7,9 a 9,6%). Curiosamente, os conteúdos fenólicos totais dos genótipos avaliados no presente estudo foram superiores aos relatados por Souza et al. (2011), que avaliaram amostras de chás comerciais de erva-mate e relataram teores fenólicos totais de até 6,9%. Vale ressaltar que além dos fatores genéticos, vários fatores ambientais influenciam o conteúdo dos compostos (sazonalidade, temperatura, disponibilidade de água e nutrientes, radiação) (VERMA et al., 2015; CROGE et al., 2020), bem como o estágio de desenvolvimento foliar

(BLUM-SILVA et al., 2015). No entanto, como o presente experimento foi conduzido nas mesmas condições, a variação no conteúdo de metabólitos secundários e no desempenho de enraizamento encontrada entre os genótipos é provavelmente atribuída em maior grau aos seus componentes genéticos.

Em relação à capacidade antioxidante, foram observadas algumas diferenças entre os dois métodos. Os genótipos não variaram estatisticamente de acordo com o ensaio ABTS, mas dois grupos foram distintos com o uso do DPPH. As diferenças entre esses métodos têm sido discutidas na literatura científica e são atribuídas principalmente à menor reatividade do radical DPPH e às diferentes reações com compostos específicos em extratos vegetais (ZHAO et al., 2008; MAREČEK et al., 2017).

De modo semelhante ao presente trabalho, um estudo avaliando ensaios antioxidantes em extratos de 12 espécies com diferentes teores de compostos fenólicos, concluiu que o ABTS foi, em média, o método menos sensível (Chaves et al., 2020). É conveniente enfatizar, entretanto, que os métodos ABTS e DPPH apresentaram correlação positiva com os compostos fenólicos totais, reforçando o fato de que os compostos fenólicos atuam de forma protetora contra o estresse oxidativo tanto por sua capacidade de doar hidrogênio ou elétrons, quanto por serem radicais intermediários estáveis (CHAVES et al., 2020). Correlação positiva entre esta classe de compostos e a capacidade antioxidante, também foi observada por Duarte et al. (2020) para genótipos de erva-mate.

Os teores de proteína do presente estudo variaram de 12,5 a 19%, superiores aos relatados por Braghini et al. (2014), os quais obtiveram teores máximos de 11,83% ao avaliarem cinco marcas comerciais de erva-mate. Chiesa et al. (2012) avaliaram o efeito da adição de folhas de erva-mate às barras de cereais e concluíram que a espécie tem potencial para atender às exigências do mercado, fornecendo produtos com maiores teores de proteína vegetal.

Em relação à cafeína, os teores relatados no presente estudo são superiores aos descritos por Braghini et al. (2014) (2,45%) para diferentes marcas de chá de erva-mate e por Cardozo Junior et al. (2007), ao avaliarem folhas de 16 progênies de erva-mate (até 1,66%).

É importante ressaltar que nos estudos acima, os autores utilizaram apenas folhas para as análises e no presente estudo foram utilizadas miniestacas (ramos e folhas). Comparados aos valores relatados na literatura, verifica-se que os genótipos

avaliados no presente estudo apresentam alto potencial estimulante, propriedade interessante para a indústria farmacológica.

Entre os genótipos avaliados, EC31 é o que apresenta maiores valores para um conjunto de variáveis químicas (fenólicos totais, atividade antioxidante DPPH, proteínas e conteúdo de cafeína). Plantas com altos teores de compostos fenólicos e cafeína são vantajosas para a indústria do chá-mate, uma vez que esses compostos são responsáveis pelas propriedades antioxidantes, sabor e propriedades estimulantes (BASTOS et al., 2006), proporcionando consecutivamente maior valor agregado ao produto final.

Quanto à relação entre as variáveis relacionadas ao enraizamento e às características químicas, houve correlações negativas entre a porcentagem de enraizamento e os compostos fenólicos totais (-0,59 $p < 0,05$) e atividade antioxidante ABTS (-0,58, $p < 0,05$). Essas correlações são possivelmente justificadas pela predominância de monofenóis em alguns genótipos de erva-mate, uma vez que esses atuam no estímulo à degradação do ácido indol acético (IAA), aumentando a atividade da enzima IAA-oxidase (MUSACCHI, 1994; LIMA et al., 2011).

Embora altos níveis de compostos fenólicos na erva-mate comercial sejam desejáveis para aplicações industriais, no presente estudo os teores desses compostos apresentaram correlação positiva significativa com a mortalidade de miniestacas (0,55 $p < 0,05$). Casagrande Junior et al. (1999) hipotetizam que a oxidação de compostos fenólicos promove maior mortalidade em estacas caulinares. Nesse sentido, Tarragó et al. (2012), relataram que altos níveis de fenólicos solúveis em plantas parentais de erva-mate afetam negativamente o enraizamento de estacas não rejuvenescidas devido aos produtos da oxidação, causando escurecimento e morte dos propágulos. No entanto, como os compostos fenólicos são uma classe tão diversa de produtos naturais, análises mais direcionadas (em tipos específicos de compostos fenólicos) serão necessárias para estabelecer uma explicação precisa sobre os efeitos negativos no enraizamento.

Dada a diversidade de respostas dos genótipos quanto à porcentagem de enraizamento e composição química, protocolos de propagação vegetativa específicos precisarão ser desenvolvidos para cada genótipo, especialmente para aqueles que apresentam altos níveis de compostos fitoquímicos com potencial para indústrias farmacêuticas e de chá, considerando que o perfil químico permanecerá

estável sob condições de campo, características que ainda precisam ser confirmadas em estudos futuros.

Ressaltamos que o presente estudo avaliou o enraizamento e o perfil químico em apenas uma estação do ano (outono), que foi anteriormente relatada como a mais favorável para o enraizamento de estacas de erva-mate (STUEPP et al., 2017). Um outro relato científico de Sá et al. (2018) apontou que a primavera pode ser a estação mais favorável para a coleta de propágulos vegetativos da erva-mate, enquanto Pimentel et al. (2017) não relataram diferenças significativas entre as diferentes estações do ano para a sobrevivência dos propágulos. Essa variação pode ser explicada pelo efeito dependente do genótipo, conforme apontado por Mayer et al. (2020) e precisa ser abordada em estudos futuros para os genótipos descritos no presente estudo.

3.5 CONCLUSÕES

O enraizamento adventício e o perfil fitoquímico de miniestacas de erva-mate são dependentes do genótipo.

A retenção foliar é um fator relevante no enraizamento de miniestacas de erva-mate e os teores de compostos fenólicos totais, antioxidantes e teobromina presentes nas miniestacas são componentes negativos para o enraizamento adventício de *Ilex paraguariensis*.

O genótipo EC31 apresenta altos teores de compostos fenólicos totais, proteínas, cafeína e alta atividade antioxidante.

Genótipos como EC50 (altos teores de compostos fenólicos totais, proteínas e atividade antioxidante) e EC44 (alto conteúdo da teobromina) apresentam perfil químico interessante, no entanto têm um desempenho de enraizamento insatisfatório.

3.6 REFERÊNCIAS

AOAC. Official Methods of analysis. **The Association of Official Analytical Chemists International**, v. 38, n. 8, p. 431, 2016.

BARBOSA, J. Z.; MOTTA, A. C. V.; CONSALTER, R.; POGGERE, G. C.; SANTIN, D.; WENDLING, I. Plant growth.; nutrients and potentially toxic elements in leaves of

yerba mate clones in response to phosphorus in acid soils. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 557–571, 2018.

BASTOS, D. H. M.; FORNARI, A. C.; QUEIROZ, Y. S.; TORRES, E. A. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 399–404, 2006.

BELNIAKI, A. C.; RABEL, L. A. D. N.; GOMES, E. N.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Does the presence of leaves on coleus stem cuttings influence their rooting? **Ornamental Horticulture**, v. 24, p. 206–210, 2018.

BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I.; KOELER HS Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 277–281, 2009.

BLUM-SILVA, C. H.; CHAVES, V. C.; SCHENKEL, E. P.; COELHO, G. C.; REGINATTO, F. H. The influence of leaf age on methylxanthines, total phenolic content; and free radical scavenging capacity of *Ilex paraguariensis* aqueous extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 1–6, 2015.

BRACESCO, N.; SANCHEZ, A. G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 3, p. 378–384, 2011.

BRAGHINI, F.; CARLI, C. G.; BONSAGLIA, B.; JUNIOR, J. F. D. S. S.; OLIVEIRA, D. F.; TRAMUJAS, J.; TONIAL, I. B. Composição físico-química de erva-mate.; antes e após simulação do chimarrão. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 20, p. 7–15. 2014.

BRANCO, S. C.; SCOLA, G.; RODRIGUES, A. D.; CESIO, V.; LAPROVITERA, M.; HEINZEN, H. Anticonvulsant, neuroprotective and behavioral effects of organic and conventional yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) on pentylenetetrazol-induced seizures in Wistar rats. **Brain Research Bulletin**, v. 92, p. 60–68, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E. ; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRAVO, L.; MATEOS, R.; SARRIÁ, B.; BAEZA, G.; LECUMBERRI, E.; RAMOS, S.; GOYA, L. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats. **Fitoterapia**, v. 92, p. 219–229, 2014.

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

CARDOZO JUNIOR, E. L.; FERRARESE-FILHO, O.; FILHO, L. C.; FERRARESE, M. L. L.; DONADUZZI, C. M.; STURION, J. A. Methylxanthines and phenolic compounds

in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 553–558, 2007.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Vol. 1. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.

CASAGRANDE JUNIOR, J. G.; BIANCHI, V. J.; STRELOW, E. Z.; BACARIN, M. A.; FACHINELLO, J. C. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 34, p. 2219–2223, 1999.

CHAVES, N.; SANTIAGO, A.; ALÍAS, J. C. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 76, 2020.

CHIESA, L.; SCHLABITZ, C.; SOUZA, C. F. V. Efeito da adição de erva-mate nas características sensoriais e físico-químicas de barras de cereais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 71, p. 105–110, 2012.

CROGE, C. P.; CUQUEL, F. L.; PINTRO, P. T. M. Yerba mate: cultivation systems, processing and chemical composition. A review. **Scientia Agricola**, v. 78, p. 1–11, 2020.

DARTORA, N.; SOUZA, L. M.; PAIVA, S. M. M.; SCOPARO, C. T.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J.; RATTMANN, Y. D.; SASSAKI, G. L. Ramnogalacturonano de *Ilex paraguariensis*: um potencial adjuvante em sepsia tratamento. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1776-1782, 2013.

DUARTE, M. M.; TOMASI, J. C.; HELM, C. V.; AMANO, E.; LAZZAROTTO, M.; GODOY, R. C. B.; WENDLING, I. Caffeinated and decaffeinated mate tea: effect of toasting on bioactive compounds and consumer acceptance. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 15, p. 1–10, 2020.

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

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) (2020). **Food and agriculture data**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em 16 de outubro de 2020.

GOMES, E. N.; MACHADO, M. P.; MIOLA, J.; DESCHAMPS, C. Leaf area and intermittent misting on hop plants propagation by stem cuttings. **Revista Colombiana de Ciências Horticolas**, v. 12, p. 508–513, 2018.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation: principles and practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.

HECK, C. I.; MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, p.138–151, 2007.

ISOLABELLA, S.; COGOI, L.; LÓPEZ, P.; ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. Estudo da variação de compostos bioativos durante o processamento da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Food Chemistry**, v. 122, 695–699, 2010.

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

MAREČEK, V.; MIKYŠKA, A.; HAMPEL, D.; ČEJKA, P.; NEUWIRTHOVÁ, J.; MALACHOVÁ, A.; CERKAL, R. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. **Journal of Cereal Science**, v. 73, p. 40-45, 2017.

MARTIN, J. G. P.; PORTO, E.; ALENCAR, S. M.; GLÓRIA, E. M.; CORRÊA, C. B.; CABRAL, I. S. R. Atividade antimicrobiana de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) contra patógenos alime. **Revista Argentina de Microbiologia**. v. 45, n. 2, p. 93-98, 2013.

MAYER, L.; NIENOW, A. A.; TRES, L. Cutting propagation of 'Cambona 4' yerba mate clones. **Comunicata Scientiae**, v. 11, p. 3287-3287, 2020.

MUSACCHI, S. Aspetti biochimici della disaffinità d'innesto. **Rivista di Frutticoltura e di Ortofloricoltura**, v. 56, n. 3, p. 73-79, 1994.

NAVROSKI, M. C.; NICOLETTI, M. F.; LOVATEL Q. C.; PEREIRA M. O.; TONETT, E. L.; MAZZO, M. V.; MENEGUZZI, A.; FELIPPE, D. Efeito do volume do tubete e doses de fertilizantes no crescimento inicial de mudas de *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Agrarian**, v. 9, n. 31, p. 26-33, 2016.

PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; KIELSE, P.; RODRIGUES, M. B.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Ciência Florestal**, v. 29, p. 559-570, 2019.

PIMENTEL, N.; PEDROSO, M. F.; LENCINA, K. H.; OLIVEIRA, J. M. S. D.; BISOGNIN, D. A. Anatomical characterization of the adventitious roots of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) mini-cuttings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, 2020.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

REICHERT, C. L.; FRIEDRICH, J. C.; CASSOL, G. H.; PENSIN, C. F.; MITSUI, M. L.; DONADUZZI, C. M.; CARDOZO JUNIOR, E. L. Chemical stability and dissolution study of mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) extract and some formulations. **International Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 8, n. 1 p. 33–49, 2013.

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

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

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F.; FONTES, L. L.; ALMEIDA, I. C.; NEVES, J. C. L.; WENDLING, I. Manejo de colheita e adubação fosfatada na cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em fase de produção. **Ciência Florestal**, v. 27, p. 783–797, 2017.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOUZA, E. R.; LENK, F. L.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Conteúdo de carboidratos em estacas de videira do porta-enxerto cv. IAC 572. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v. 8, n. 2, p. 7–15, 2015.

STUEPP, C. A.; BITENCOURT, J.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Age of stock plants, seasons and IBA effect on vegetative propagation of *Ilex paraguariensis*. **Revista Árvore**, v. 41, n. 2, 2017.

TAMURA, A.; SASAKI, M.; YAMASHITA, H.; MATSUI-YUASA, I.; SAKU, T.; HIKIMA, T.; TABUCHI, M.; MUNAKATA, H.; KOJIMA-YUASA, A. Yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) extract prevents ethanol-induced liver injury in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p. 1714-1723, 2013.

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**, v. 103, n. 4, p. 479-488, 2005.

TARRAGÓ J.; FILIP R.; MROGINSKI L AND SANSBERRO P. Influence of the irradiance on phenols content and rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings collected from adult plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, n. 6, p. 2419-2424, 2012.

TOMASI J, C. **Bioactive compounds of yerba mate according to genotype, nitrogen fertigation and drying methods and acceptance of mate tea by consumers**. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2020.

TSAKALDIMI, M.; GANATSAS, P.; JACOBS, D. F. Prediction of planted seedling survival of five Mediterranean species based on initial seedling morphology. **New Forests**, v. 44, n. 3, p. 327-339, 2013.

VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, n. 4, p. 105-113, 2015.

WENDLING, I.; SANTIN, D. **Propagação e nutrição de erva-mate**. 1 Ed. Brasília: EMBRAPA, 2015. 195p.

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**, v.42, p. 289–292, 2007.

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

YIM, H. S.; CHYE, F. Y.; RAO, V.; LOW, J. Y.; MATANJUN, P.; HOW, S. E.; HO, C. W. Optimization of extraction time and temperature on antioxidant activity of *Schizophyllum commune* aqueous extract using response surface methodology. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 275-283, 2013.

ZHAO, H.; FAN, W.; DONG, J.; LU, J.; CHEN, J.; SHAN, L.; KONG, W. Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of typical malting barley varieties. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 296-304, 2008.

4 CAPÍTULO II. ENRAIZAMENTO E PRODUTIVIDADE DE MINIESTACAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO

RESUMO

A seleção e multiplicação vegetativa de genótipos de erva-mate vem se mostrando uma técnica importante, possibilitando a manutenção de características produtivas desejáveis pela indústria, como, por exemplo, plantas com alta produtividade e composição química de interesse. Sabe-se, no entanto, que os protocolos de propagação vegetativa devem ser estabelecidos para cada espécie ou genótipo, buscando-se o máximo de eficiência em produtividade e qualidade da muda. Nesse aspecto, a propagação vegetativa da erva-mate apresenta ainda algumas limitações quanto ao estabelecimento de um protocolo eficiente para alguns genótipos, tanto para o enraizamento quanto para a produtividade dos propágulos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial rizogênico de 15 genótipos de erva-mate por miniestaquia em diferentes épocas de coleta e com a aplicação de diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA), bem como a produtividade das minicepas. Para a avaliação do enraizamento, foram utilizadas miniestacas de um minijardim clonal pré-existente. O delineamento experimental foi em sistema fatorial triplo (15 genótipos x 4 épocas de coleta x 2 concentrações de IBA), com 4 repetições de 10 miniestacas (5 ± 1 cm de comprimento). As bases das miniestacas foram tratadas com 0 e 3000 mg L⁻¹ de IBA por 10 segundos de imersão. Após 120 dias em casa de vegetação, foram avaliados: porcentagem de enraizamento, número médio de raízes, comprimento médio de raízes, miniestacas com calos, sobrevivência, mortalidade, retenção foliar e produtividade das minicepas. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As porcentagens de enraizamento variaram de 0,0% a 90,0%, sendo influenciadas pelo uso de IBA. No outono houve a maior necessidade de aplicação IBA para o enraizamento adventício. A aplicação de IBA proporcionou um maior número e comprimento de raízes para alguns genótipos e as miniestacas coletadas na primavera apresentaram o maior número de genótipos com os maiores índices de enraizamento, enquanto que a maior produtividade de miniestacas m⁻² foi obtida pelo genótipo EC21 (961,7 miniestacas m⁻²) no verão e primavera. Conclui-se que a necessidade de aplicação de IBA e a produtividade de miniestacas são variáveis dependentes do genótipo e da estação do ano, sendo que o outono é a estação com maior necessidade de aplicação de IBA para o enraizamento adventício.

Palavras-chave: Erva-mate. Propagação vegetativa. Rizogênese. Sazonalidade. Ácido indol butírico.

ROOTING AND PRODUCTIVITY OF MINI-CUTTINGS FROM DIFFERENT GENOTYPES OF *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. IN DIFFERENT SEASONS OF THE YEAR

ABSTRACT

The selection and vegetative propagation of yerba mate genotypes has been an important technique, allowing the maintenance of characteristics that are desirable for the industry, such as, for example, plants with high productivity and chemical composition of interest. It is known, however, that vegetative propagation protocols must be established for each species or genotype, seeking maximum efficiency in productivity and propagules quality. In this aspect, the vegetative propagation of yerba mate still has some limitations regarding the establishment of an efficient protocol for some genotypes, both for rooting and for propagule productivity. The objective of this research was to evaluate the rhizogenic potential of mini-cuttings from 15 yerba mate genotypes at different harvesting times and the application of indole butyric acid (IBA), as well as the productivity of mini-stumps. To evaluate rooting, shoots from mini-cuttings from a pre-existing mini-clonal garden were used. The experimental design was in a three-level factorial scheme (15 genotypes x 4 collection times x 2 IBA systems), with 4 repetitions and experimental units of 10 mini-cuttings (5 ± 1 cm in length), treated with 0 or 3000 mg L⁻¹ of IBA at their bases, immersed for 10 second. After 120 days in an acclimatized greenhouse, the percentage of rooting, average number of roots, average length of roots, percentage of mini-cuttings with calluses, alive mini-cuttings, mortality, leaf retention and mini-stumps productivity were assessed. Data were submitted to analysis of variance using the F test and the means were compared using the Scott-Knott test at a 5% probability level. Rooting percentages ranged from 0.0% to 90.0% between treatments, influenced by the use of IBA. In autumn, there was a greater need for IBA application for adventitious rooting. The application of IBA provided a greater number and length of roots for some genotypes and mini-cuttings collected in spring presented the largest number of genotypes with the highest rooting indexes, while the highest productivity of mini-cuttings m⁻² was obtained by the EC21 genotype (961,7 mini-cuttings m⁻²) in summer and spring. It is concluded that the need for application of IBA and mini-cutting productivity are variables dependent on the genotype and the season of the year in yerba mate, with autumn being the season with the greatest need for application of IBA for adventitious rooting.

Keywords: Yerba mate. Vegetative propagation. Rhizogenesis. Seasonality. Indole butyric acid.

4.1 INTRODUÇÃO

Caracterizada por apresentar uma rica composição química, a erva-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil) dispõe de inúmeras propriedades bioativas (HECK; MEJIA, 2007), as quais conferem atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antitumorais, antiobesidades (BRACESCO et al., 2011), hepatoprotetoras (TAMURA et al., 2013) e antimicrobianas (MARTIN et al., 2013), dentre outras.

Estas características colocam a erva-mate em um patamar além do consumo tradicional (infusão na forma de chimarrão e tereré), abrangendo outros setores da indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (DARTORA et al., 2013). Desta forma, o crescente interesse pela cultura da erva-mate tem suscitado estudos objetivando a seleção de materiais genéticos superiores em termos de produtividade e qualidade (WENDLING et al., 2020).

A seleção de plantas matrizes superiores se refere a uma etapa de grande importância, uma vez que estas serão a base para a qualidade dos futuros plantios clonais (WENDLING; SANTIN, 2015; STURION et al., 2017). Sendo assim, na fase de seleção de matrizes, torna-se fundamental levar em consideração alguns aspectos básicos, como por exemplo a produtividade e resistência a pragas e doenças, bem como outros aspectos mais específicos, como produtividade de folhas e galhos finos, tamanho de folha, sabor, composição química e capacidade de enraizamento (WENDLING; SANTIN, 2015).

Dentre os fatores mencionados, a capacidade de enraizamento dos propágulos das plantas matrizes selecionadas é uma característica de suma importância, uma vez que a estaquia e a miniestaquia são os principais métodos para a clonagem da erva-mate (SANTIN et al., 2015). Todavia, o êxito do enraizamento e a qualidade das mudas podem ser altamente condicionados ao material genético que se deseja multiplicar (KRATZ et al. 2015; SANTIN et al. 2015; DUARTE et al. 2019).

Desta forma, na seleção de plantas matrizes, devem ser levadas em conta a sua capacidade de enraizamento adventício, que por sua vez, pode ser influenciada por inúmeros fatores, como genótipos, épocas de coleta dos propágulos, condição fisiológica e juvenildade da planta-mãe e dos propágulos, tipo de estaca, aplicação exógena de reguladores vegetais, dentre outros (WENDLING; SANTIN, 2015).

Sendo assim, na sequência em que os genótipos de interesse são selecionados pelas suas características desejadas, tornam-se necessários estudos de protocolos de propagação específicos para esses materiais genéticos. Com base nisso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade rizogênica de 15 genótipos de erva-mate propagados por miniestacas coletadas em diferentes épocas do ano, tratadas ou não com ácido indol butírico, avaliando ainda a produtividade de miniestacas/minicepa.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Material vegetal e condições de crescimento

Os genótipos avaliados no presente estudo, com exceção de BRS BLD Aupaba, foram originados de um programa de melhoramento seletivo (plantas-mãe estabelecidas a partir de um teste de procedências e progênies de meio-irmãos) realizado na cidade de Ivaí-PR, Brasil, sendo a seleção baseada em critérios relacionados à produtividade e composição química das plantas a campo.

Os genótipos estudados foram denominados EC21, EC26, EC27, EC45, EC48, EC54, EC24, EC20, EC28, EC53, EC50, EC44, EC38 e EC31. O genótipo BRS BLD Aupaba, trata-se de uma cultivar comercial de erva-mate usada como referência (WENDLING et al., 2017).

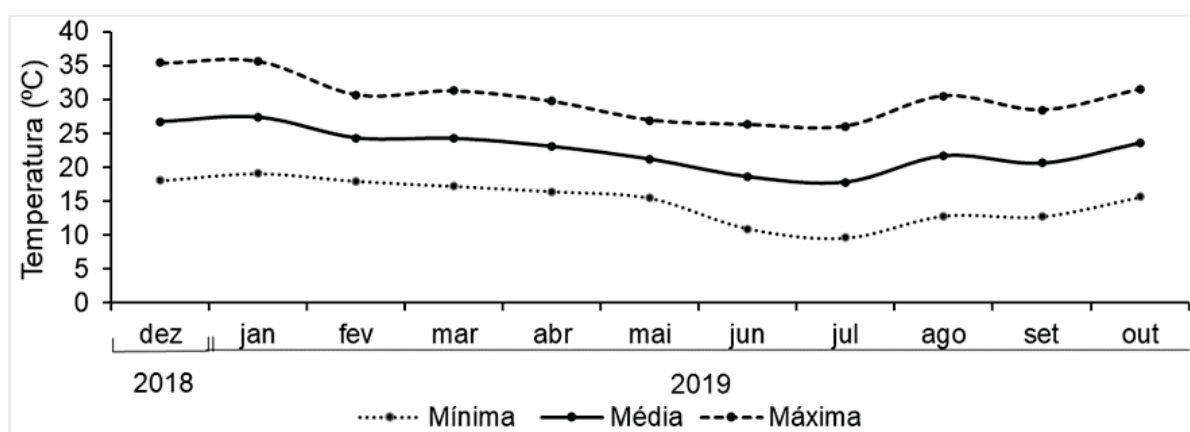
As plantas parentais (árvores de 10 anos de idade) foram propagadas por estaquia convencional conforme descrito por Bitencourt et al. (2009). As estacas enraizadas dos genótipos selecionados foram transplantadas em junho de 2017 e mantidas como minicepas em um minijardim clonal para a coleta periódica de brotações. As minicepas foram cultivadas em condições de estufa agrícola, na cidade de Colombo-PR Brasil (25° 20'S e 49° 14'W, 950m acima do nível do mar). Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é temperado, tipo Cfb.

As plantas foram cultivadas a uma densidade de 44 minicepas por metro quadrado (espaçamento de 15 cm × 15 cm) sob sistema semi-hidropônico em canaletão com areia lavada (Wendling et al., 2007). A fertilização das minicepas foi realizada por solução nutritiva: N-NO₃⁻ (156,0 mg L⁻¹), N-NH₄⁺ (50,0 mg L⁻¹), P (25,0 mg L⁻¹), K⁺ (200,0 mg L⁻¹), Ca²⁺ (200,0 mg L⁻¹), Mg²⁺ (45,0 mg L⁻¹), S (76,9 mg L⁻¹), B (1,5 mg L⁻¹), Cu²⁺ (0,1 mg L⁻¹), Fe²⁺ (5,0 mg L⁻¹), Mn²⁺ (1,0 mg L⁻¹), Zn²⁺ (0,7 mg L⁻¹),

Mo²⁻ (0,07 mg L⁻¹), fornecida via sistema de fertirrigação por gotejamento, três vezes ao dia em uma vazão total de 5 L m² de acordo com as recomendações de Wendling e Santin (2015).

Os dados de temperatura máxima, média e mínima registrados durante o período de cultivo em estufa estão apresentados na Figura 1.

FIGURA 1 – TEMPERATURAS MÍNIMAS, MÁXIMAS E MÉDIAS (°C) EM ESTUFA DE CULTIVO SEMI-HIDROPÔNICO ENTRE OS MESES DE DEZEMBRO/2018 A OUTUBRO/2019.



Fonte: O autor (2021).

4.2.2 Experimento de miniestaquia e avaliação da produtividade de miniestacas

A partir das brotações das minicepas, foi realizada a coleta do material vegetal nas quatro estações do ano: 04/02/2019 (verão), 11/04/2019 (outono), 11/07/2019 (inverno) e 10/10/2019 (primavera). As miniestacas foram preparadas com comprimento médio de 5 cm (± 1 cm), com corte em bisel na porção basal e reto no ápice, mantendo-se um par de folhas na porção apical, sendo acondicionadas em caixa de isopor com água para evitar a desidratação. Imediatamente antes do plantio, estas foram retiradas da caixa de isopor e tiveram suas bases (cerca de um terço do comprimento do caule) imersas por 10 segundos em solução hidroalcolica (50% v/v) de ácido indol butírico (IBA - Merck®), nas concentrações de 0 e 3000 mg L⁻¹ (WENDLING; SANTIN, 2015).

Após o tratamento com IBA, as miniestacas foram plantadas em tubetes de polipropileno com 55 cm³, preenchidos com substrato comercial, pré-umedecido, composto por turfa de esfagno, vermiculita expandida, casca de arroz carbonizada, calcário dolomítico, gesso agrícola, fertilizante NPK e micronutrientes. As

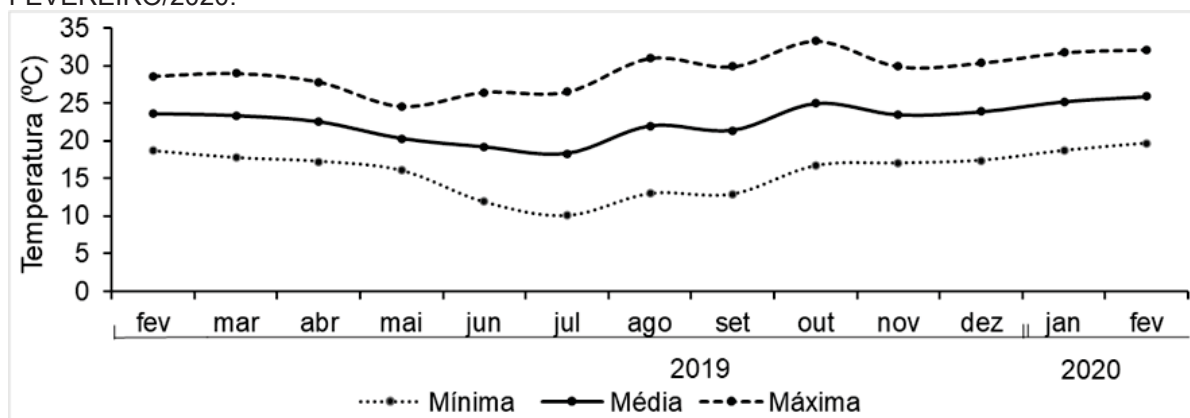
características químicas e físicas informadas pelo fabricante são as seguintes: pH 5,0; condutividade elétrica 0,6 (mS cm⁻¹); umidade máxima 55% (p/p); densidade de 150 kg m⁻³ e capacidade de retenção de água ⁻¹40% (w/w).

Após o plantio, as miniestacas foram mantidas em casa de vegetação (85% de umidade relativa) com nebulização intermitente. Após 120 dias do plantio (WENDLING e SANTIN, 2015), foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de enraizamento (porcentagem de miniestacas com raízes de pelo menos 1 mm de comprimento), número médio de raízes por miniestaca; comprimento médio das três maiores raízes por miniestaca (cm); porcentagem de calogênese (miniestacas não enraizadas com a presença de massa de células indiferenciada na base); porcentagem de miniestacas vivas (miniestacas sem raízes nem calos); porcentagem de retenção foliar (miniestacas que mantiveram as folhas originais até o momento da avaliação), e porcentagem de mortalidade (miniestacas necrosadas). O experimento foi organizado em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial triplo 15 x 2 x 4 (15 genótipos x presença ou não de IBA x 4 estações), com 4 repetições e 10 miniestacas por unidade experimental.

A produtividade das minicepas foi avaliada no momento da coleta das brotações para preparo das miniestacas em cada estação, avaliando-se 5 parcelas com 5 minicepas por repetição, totalizando 25 minicepas por genótipo, sendo que os intervalos entre as coletas foram de: 77 dias (verão), 56 dias (outono), 91 dias (inverno) e 91 dias (primavera), conforme o crescimento das minicepas.

Os dados de temperatura máxima, média e mínima registrados durante o período de permanência em casa de vegetação estão apresentados na Figura 2.

FIGURA 2 – TEMPERATURAS MÍNIMAS, MÁXIMAS E MÉDIAS (°C) EM CASA DE VEGETAÇÃO COM SISTEMA DE NEBULIZAÇÃO INTERMITENTE, ENTRE OS MESES DE FEVEREIRO/2019 A FEVEREIRO/2020.



Fonte: O autor (2021).

4.2.3 Análise estatística

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett ($p < 0,05$). As variáveis cujas variâncias se mostraram homogêneas foram submetidas à análise de variância ($p < 0,01$ e $p < 0,05$) e as que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Scott-Knott. A variável produtividade de miniestacas não atendeu aos pressupostos de homogeneidade de variâncias e foi, portanto, transformado pela raiz quadrada (\sqrt{x}) para prosseguir com análise de variância.

4.3 RESULTADOS

Houve diferença significativa entre os genótipos para todas as variáveis relacionadas ao enraizamento (ENR), sobrevivência e produtividade de miniestacas/minicepa de erva-mate. Apenas para as variáveis número médio de raízes (NR) e calogênese (C) não houve interação tripla significativa entre os tratamentos, havendo, no entanto, interação dupla entre genótipos e concentrações de IBA, bem como para genótipos e estação do ano (Tabela 1).

TABELA 1 — RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO (ENR), NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DAS TRÊS MAIORES RAÍZES/MINIESTACA (CMR), CALOGÊNESE (C), MINIESTACAS VIVAS (MV), MORTALIDADE (MM), RETENÇÃO FOLIAR (RF) E PRODUÇÃO DE MINIESTACAS POR MINICEPA (PMM) DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*, TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio							
		ENR	NR	CMR	C	MV	MM	RF	PMM
Genótipo (GEN)	14	8304,86**	103,89**	21,80**	4254,67**	1754,38**	5191,46**	11702,17**	318,44**
Estação (EST)	3	11940,21**	159,99**	21,70**	10491,11**	2691,88**	5416,88**	10698,89**	28,12**
IBA	1	11900,21**	251,03**	138,18**	13653,33**	1171,87**	1725,21**	3000,0**	-
GEN * EST	42	1062,83**	20,66**	3,6**	1634,71**	244,85**	836,22**	1227,01**	9,97**
GEN * IBA	14	596,64**	7,92**	4,02**	543,07**	137,95 ^{ns}	200,21 ^{ns}	134,38 ^{ns}	-
EST * IBA	3	2715,21**	27,55**	10,03**	1193,33**	201,88 ^{ns}	164,66 ^{ns}	10,0*	-
GEN * EST * IBA	42	222,95*	4,74 ^{ns}	2,47**	316,99 ^{ns}	56,61*	222,99**	326,52**	-
CV (%)		40,56	49,45	56,02	38,16	108,53	59,78	19,54	14,73

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ns não significativo ($p \geq .05$). CV: coeficiente de variação.

As porcentagens de enraizamento (Figura 3) variaram de 0,0% (outono) a 90,0% (primavera) entre os tratamentos, havendo em todas as estações, pelo menos um genótipo com diferença significativa entre as concentrações de IBA.

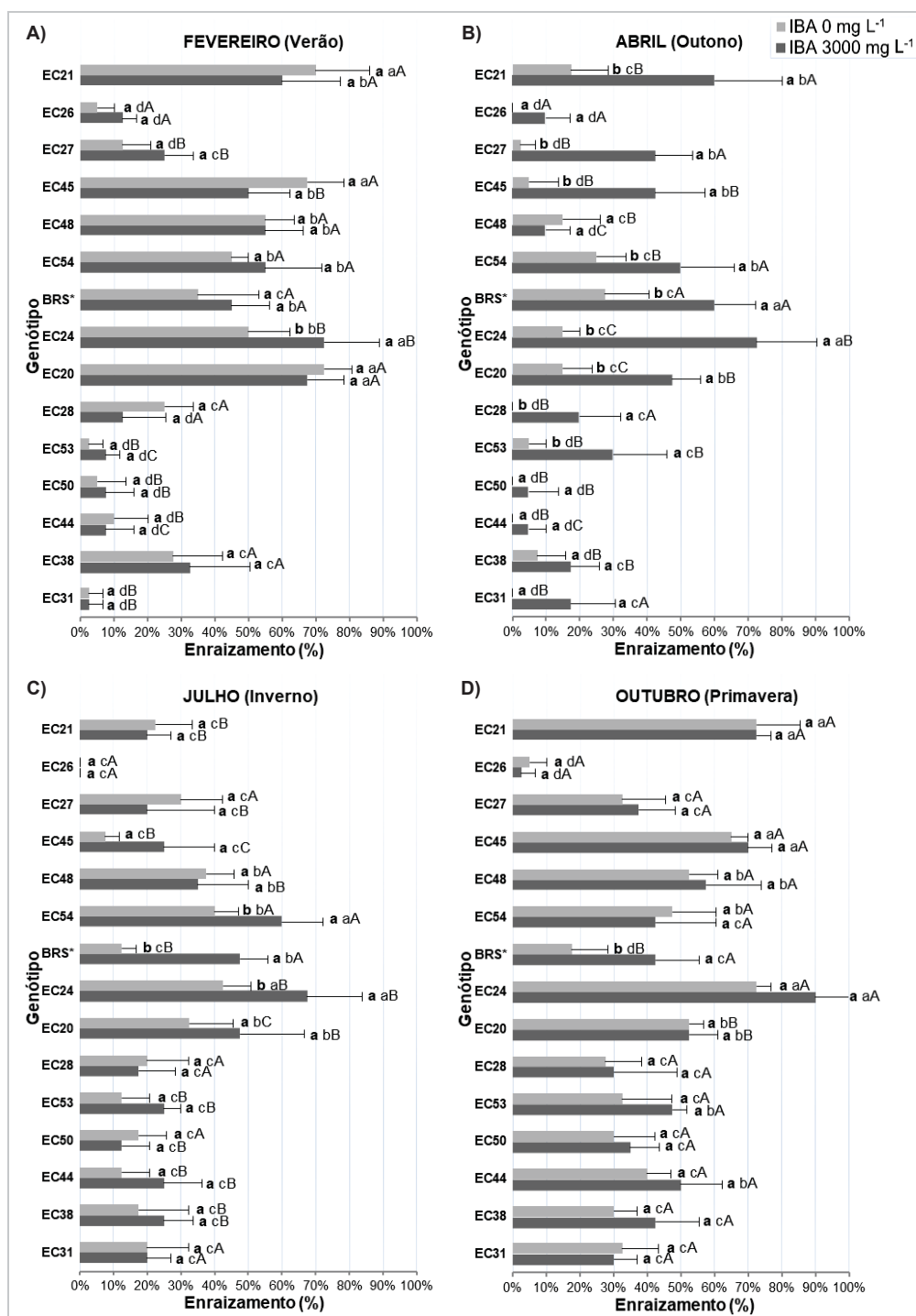
No outono, nove genótipos (EC21, EC27, EC45, EC54, BRS*, EC24, EC20, EC28, EC53) apresentaram diferenças significativas entre as concentrações de IBA, com as maiores porcentagens de enraizamento obtidas na concentração de 3000 mg L⁻¹. Por outro lado, no verão (EC24) e na primavera (BRS BLD Aupaba), apenas um genótipo (6,7%) apresentou diferença significativa entre as concentrações de IBA, cuja melhor resposta de enraizamento também foi observada na concentração de 3000 mg L⁻¹ (Figura 3).

Apenas os genótipos EC26, EC54, BRS BLD Aupaba e EC28 não diferiram significativamente entre as épocas de coleta quando tratados na concentração de IBA 3000 mg L⁻¹, sendo que nos demais foi observada, no mínimo, uma diferença significativa entre aquelas, em um mesmo genótipo, para uma mesma concentração de IBA. Essa resposta foi observada também para EC26 no tratamento IBA 0 mg L⁻¹ (Figura 3).

A estação da primavera, no tratamento IBA 3000 mg L⁻¹, foi a época que possibilitou o maior número de genótipos que apresentaram as melhores médias significativas (iguais ou superiores) de enraizamento quando comparadas às demais épocas. O único genótipo que não apresentou o melhor resultado de enraizamento nessa época foi EC20 (52,5%), cuja maior porcentagem de enraizamento foi obtida no verão (67,5%) (Figura 3).

Entre os 15 genótipos, apenas o EC24 se manteve com as maiores médias de enraizamento em todas as estações na concentração de IBA 3000 mg L⁻¹, variando de 67,5 % a 90% de enraizamento entre as estações. O genótipo EC26, por sua vez, sempre esteve entre os clones com menores médias de porcentagem de enraizamento, variando de 0,0% a 12,5%, independente da época ou concentração de IBA (Figura 3).

FIGURA 3 – PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*, TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).



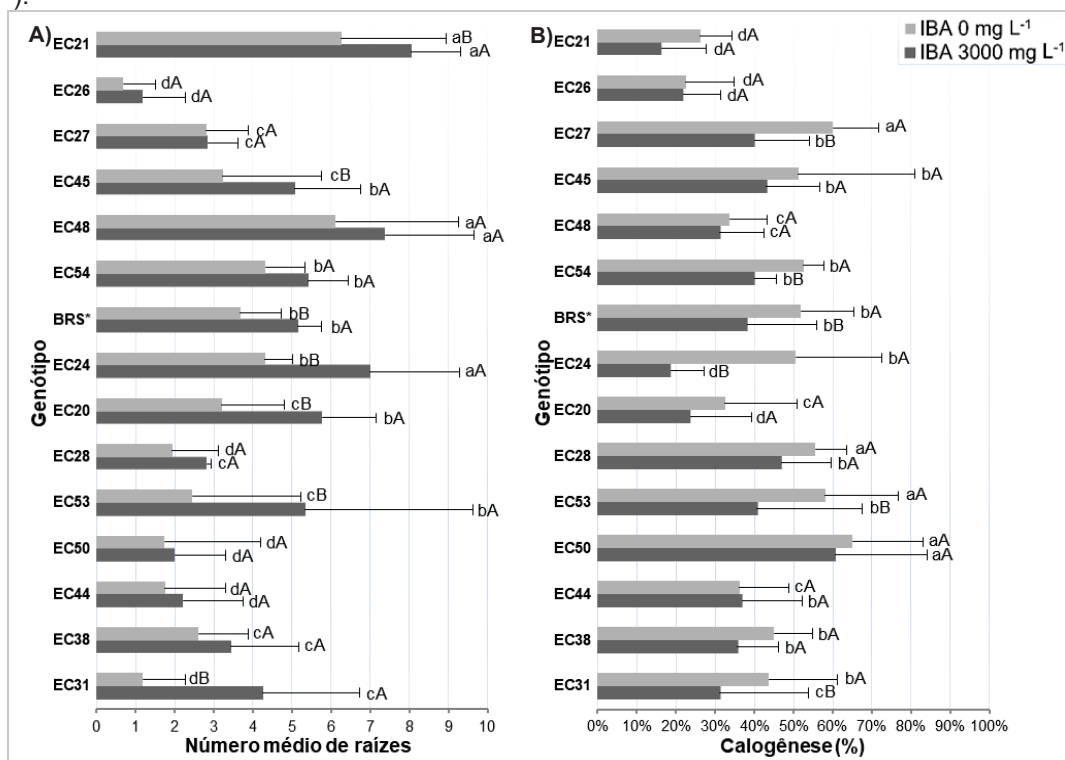
Médias seguidas de uma mesma letra em **negrito** entre as concentrações de IBA para cada genótipo dentro de uma mesma estação, *minúscula* entre os genótipos em cada tratamento com IBA dentro de cada estação e *maiúsculas* entre os mesmos genótipos nas diferentes estações em cada tratamento com IBA não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. *BRS= BRS BLD Aupaba.

O número médio de raízes por miniestaca (Figura 4A), variou de 0,69 (EC26) a 8,05 (EC21). Para todos os genótipos em que houve diferença significativa entre as concentrações de IBA, as maiores médias foram sempre observadas na concentração de 3000 mg L⁻¹. Os genótipos EC21, EC48 e EC24 apresentaram as

maiores médias significativas, enquanto o EC26, EC28, EC50, EC44 e EC31 apresentaram os menores números médios de raízes por miniestaca (Figura 4A).

As porcentagens médias de formação de calos variaram de 16,25% (EC21) a 65,0% (EC50). Quando constatada diferença significativa entre as concentrações de IBA, as maiores porcentagens de calogênese foram sempre encontradas nos tratamentos sem aplicação de IBA, sendo as maiores porcentagens contempladas pelos genótipos EC27, EC28, EC53 e EC50, enquanto as menores nos EC21, EC26, EC24 e EC20 (Figura 4B).

FIGURA 4 – NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES (A) E CALOGÊNESE (B) EM MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*, TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L⁻¹).



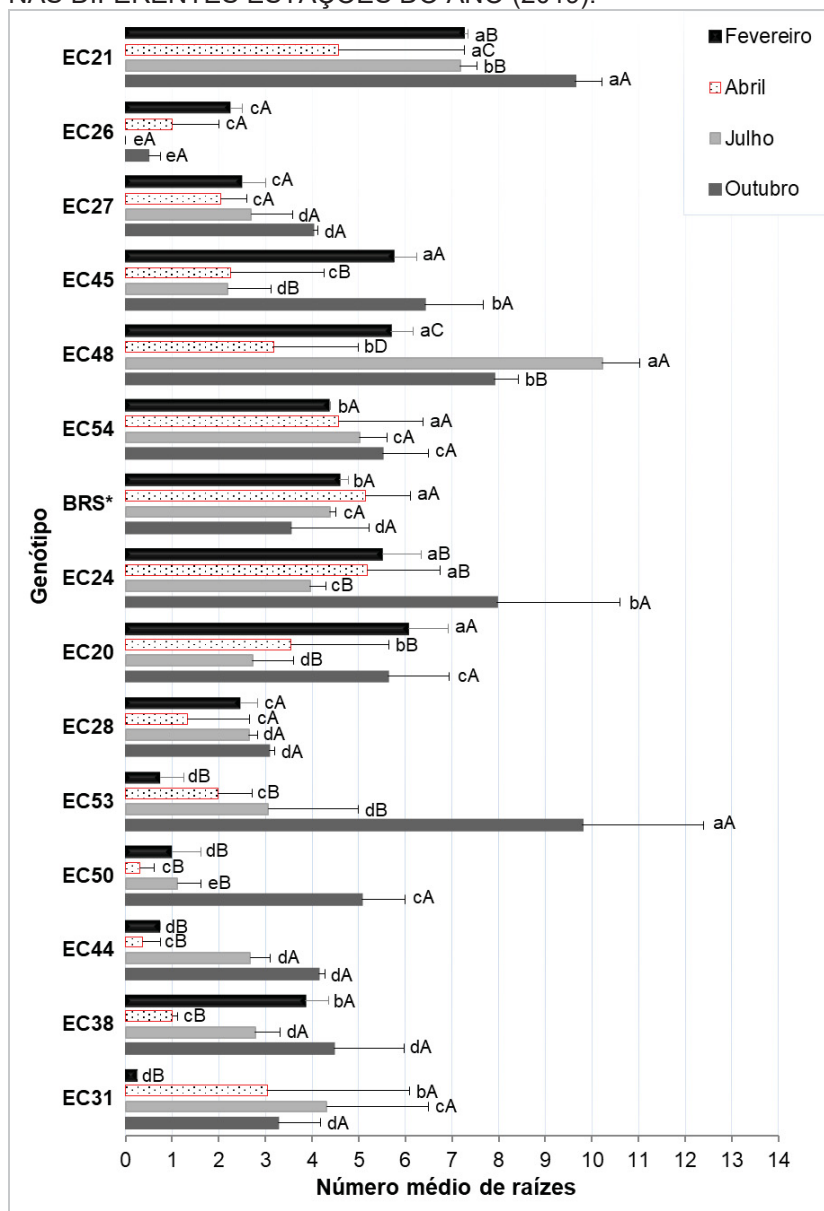
Médias seguidas de uma mesma letra minúscula entre os genótipos de cada tratamento com IBA e maiúsculas entre as concentrações de IBA em cada genótipo não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. *BRS= BRS BLD Aupaba.

Em relação ao número médio de raízes na interação entre genótipos e época do ano, os valores variaram de 0 (EC26) a 10,22 (EC48) raízes/miniestaca. O menor valor significativo foi obtido pelo genótipo EC26 quando comparado aos demais, não diferindo, no entanto, entre as estações do ano (Figura 5).

Entre as estações, a primavera foi a que apresentou a maior quantidade de genótipos (8) com as maiores médias significativas para o número de

raízes/miniestaca, enquanto que no outono foram encontrados os menores valores (8 genótipos) (Figura 5).

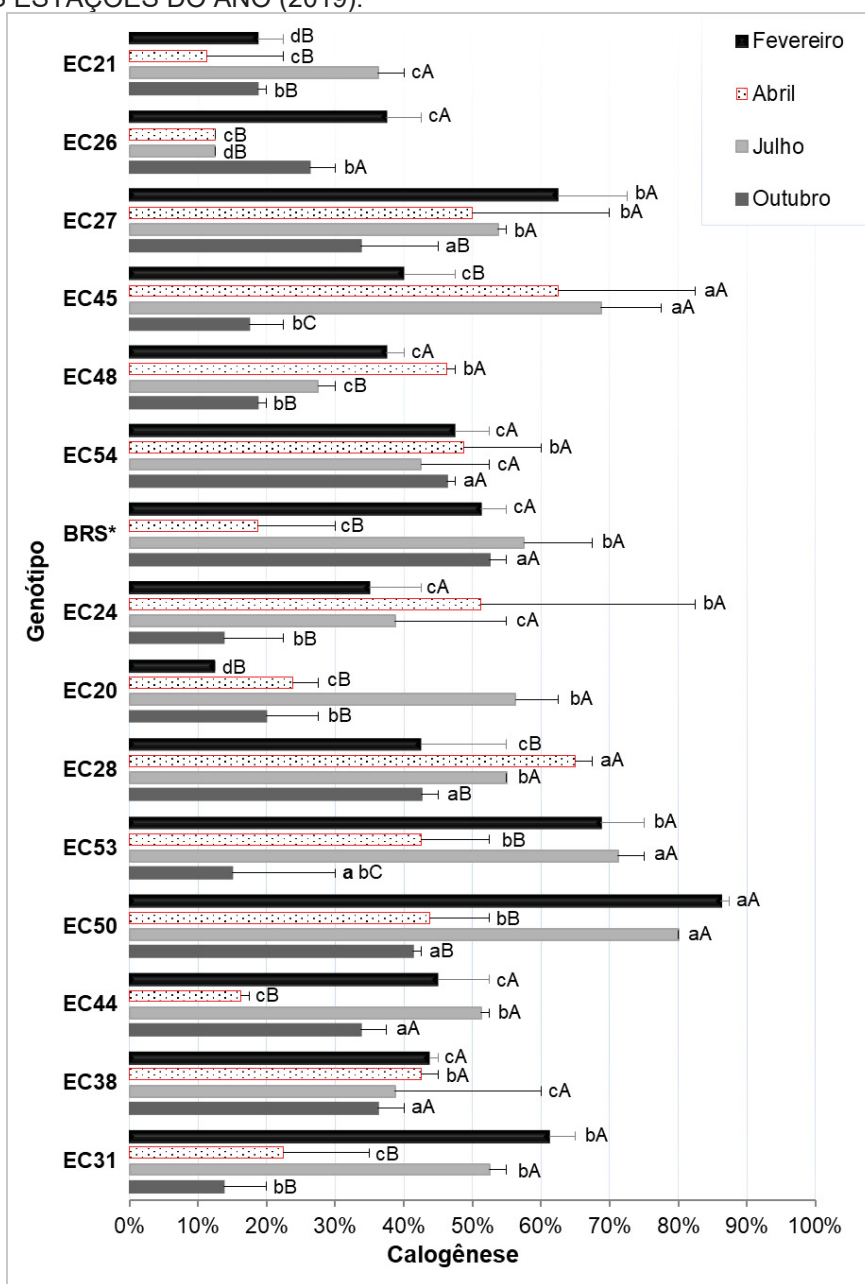
FIGURA 5 – NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES EM MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*, NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).



Médias seguidas de uma mesma letra minúscula entre os genótipos dentro de cada estação e maiúsculas para as estações do ano em cada genótipo não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Fevereiro (**verão**); abril (**outono**); julho (**inverno**); outubro (**primavera**). *BRS= BRS BLD Aupaba.

Para calogênese na interação entre genótipos e épocas do ano, as porcentagens variaram de 11,25% (EC21) a 86,25% (EC50), sendo que EC50 no verão, apresentou o maior valor significativo, não diferindo da estação do inverno (80%), enquanto que EC21 apresentou a menor porcentagem no outono (11,25%), embora não tenha diferenciado significativamente do verão (18,75%) e da primavera (18,75%) (Figura 6).

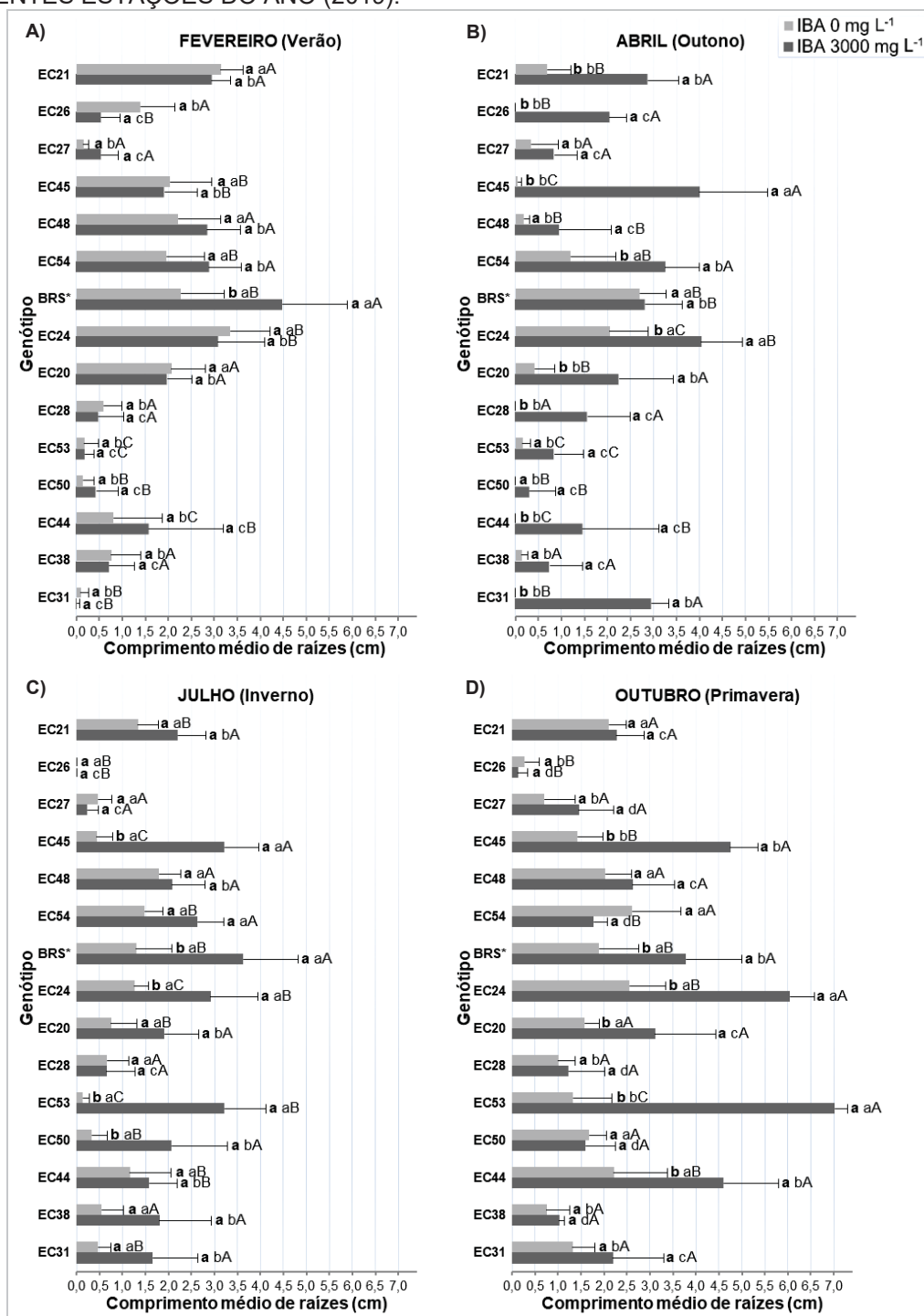
FIGURA 6 – CALOGÊNESE EM MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*, NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).



Médias seguidas de uma mesma letra minúscula entre os genótipos dentro de cada estação e maiúsculas para as estações do ano em cada genótipo não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Fevereiro (**verão**); abril (**outono**); julho (**inverno**); outubro (**primavera**). *BRS= BRS BLD Aupaba.

Quanto ao comprimento médio de raízes/miniestaca, os valores obtidos foram de 0 cm a 7,02 cm. No outono, 9 genótipos (EC21, EC26, EC45, EC54, EC24, EC20, EC28, EC44, EC31) apresentaram diferença significativa entre as concentrações de IBA utilizadas, enquanto que no verão houve apenas 1 genótipo (BRS) que apresentou diferença significativa. De todo modo, quando houve diferença significativa entre as concentrações de IBA, as maiores médias foram sempre obtidas no tratamento IBA 3000 mg L⁻¹ (Figura 7).

FIGURA 7 – COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES DE MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*, TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).

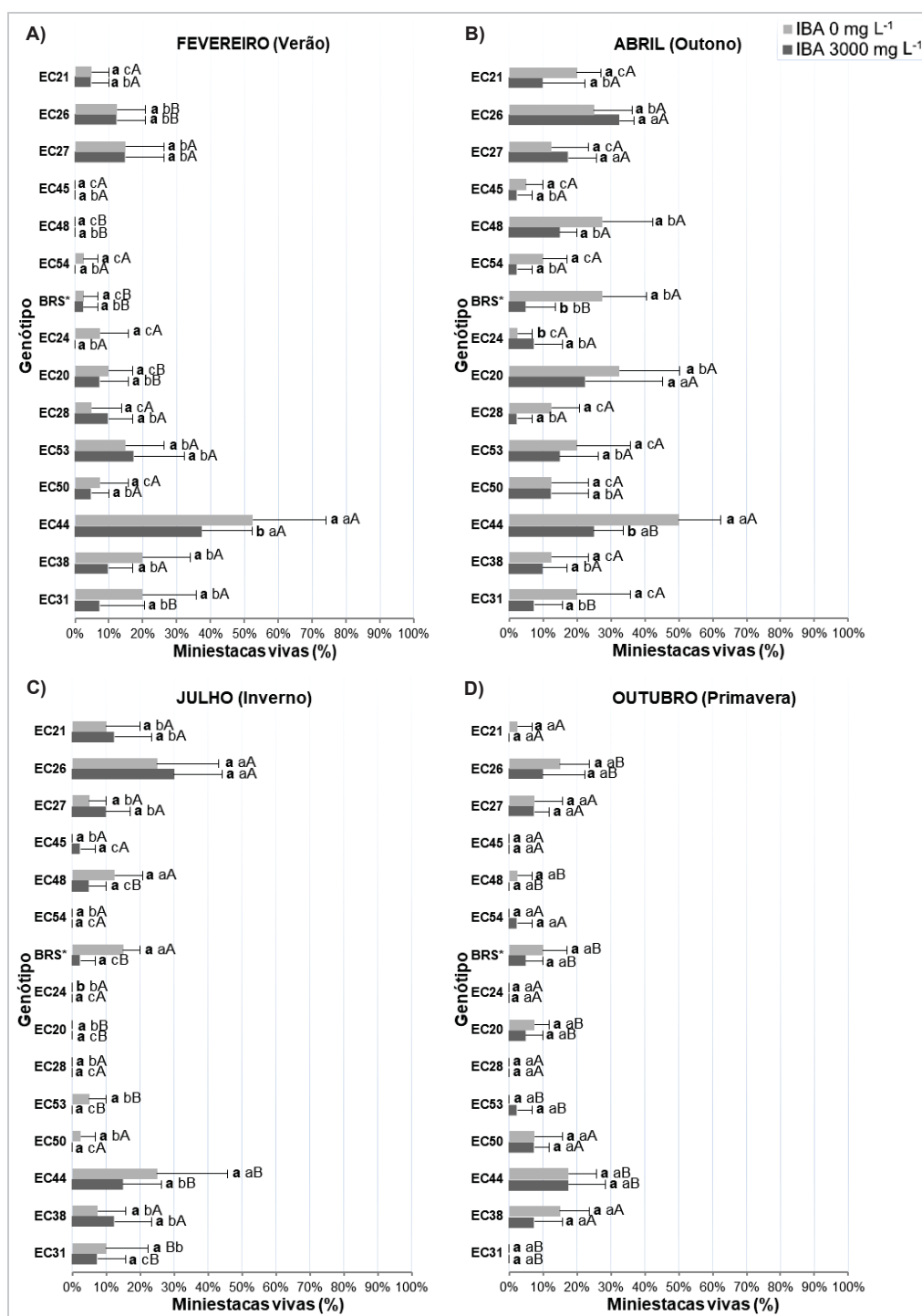


Médias seguidas de uma mesma letra em **negrito** entre as concentrações de IBA para cada genótipo dentro de uma mesma estação, **minúscula** entre os genótipos em cada tratamento com IBA dentro de cada estação e **maiúsculas** entre os mesmos genótipos nas diferentes estações em cada tratamento com IBA não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. *BRS= BRS BLD Aupaba.

O percentual de miniestacas vivas variou de 0% a 52,5%, havendo poucos genótipos com diferença significativa entre as concentrações de IBA utilizadas. Na primavera, não houve diferença significativa entre concentrações de IBA e entre os genótipos dentro da estação. Já no outono, dois genótipos (BRS BLD Aupaba e

EC44) apresentaram diferença significativa entre as concentrações de IBA, sendo que as maiores porcentagens de miniestacas vivas foram obtidas no tratamento testemunha (IBA 0 mg L⁻¹) (Figura 8).

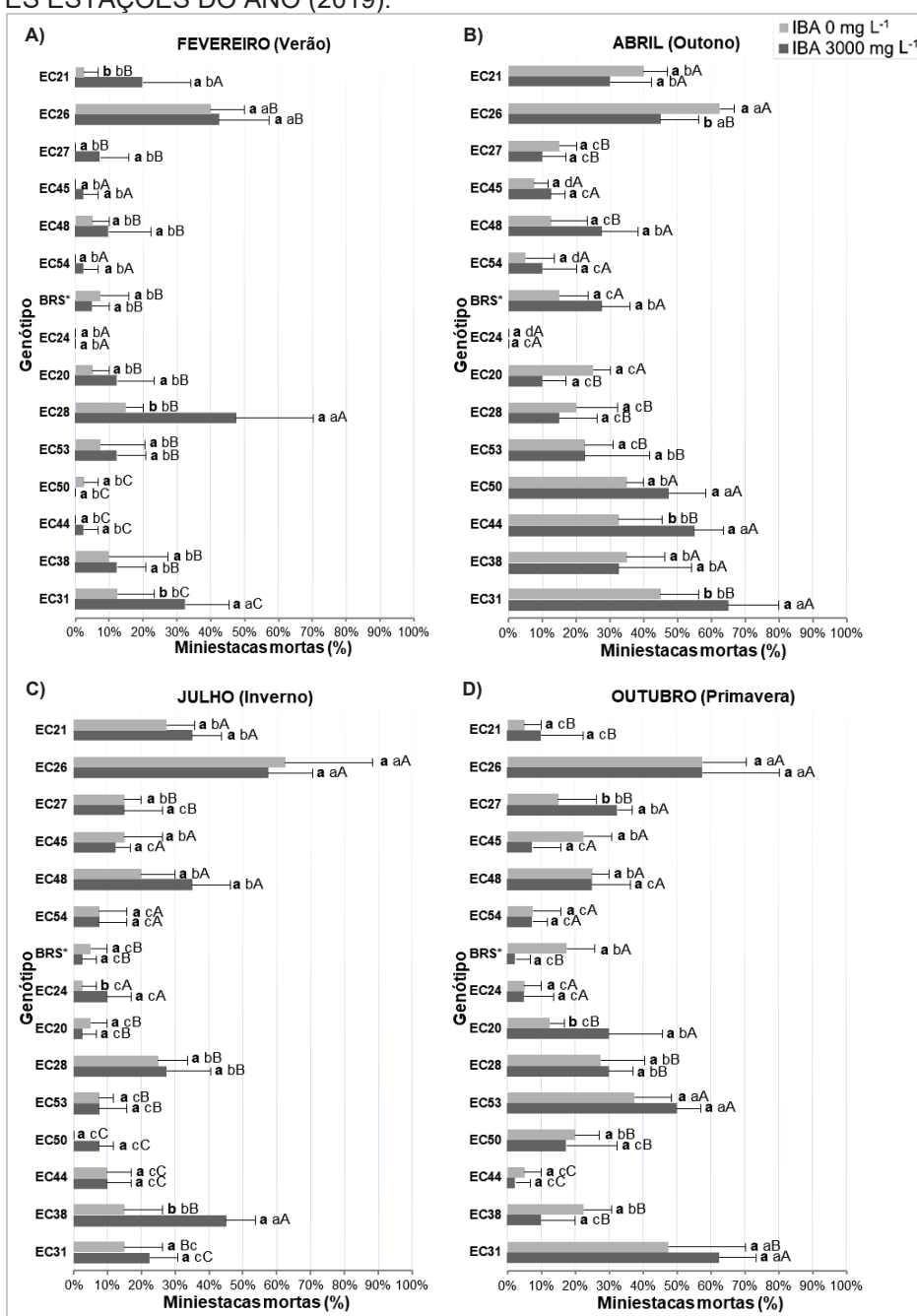
FIGURA 8 – PORCENTAGEM DE MINIESTACAS VIVAS DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*, TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).



Médias seguidas de uma mesma letra em **negrito** entre as concentrações de IBA para cada genótipo dentro de uma mesma estação, **minúscula** entre os genótipos dentro de cada estação e **maiúsculas** entre os mesmos genótipos nas diferentes estações em cada tratamento com IBA não diferem significativamente entre si pelo teste de Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. *BRS= BRS BLD Aupaba.

Os índices de mortalidade das miniestacas variaram de 0% a 65%. O genótipo EC24 apresentou 0% de mortalidade nas estações do verão e outono para ambos os tratamentos com IBA, estando entre aqueles com menores porcentagens de miniestacas mortas. Por outro lado, em todas as estações, EC26 sempre se manteve entre os genótipos com maior porcentagem de mortalidade (40 a 62,5%) (Figura 9).

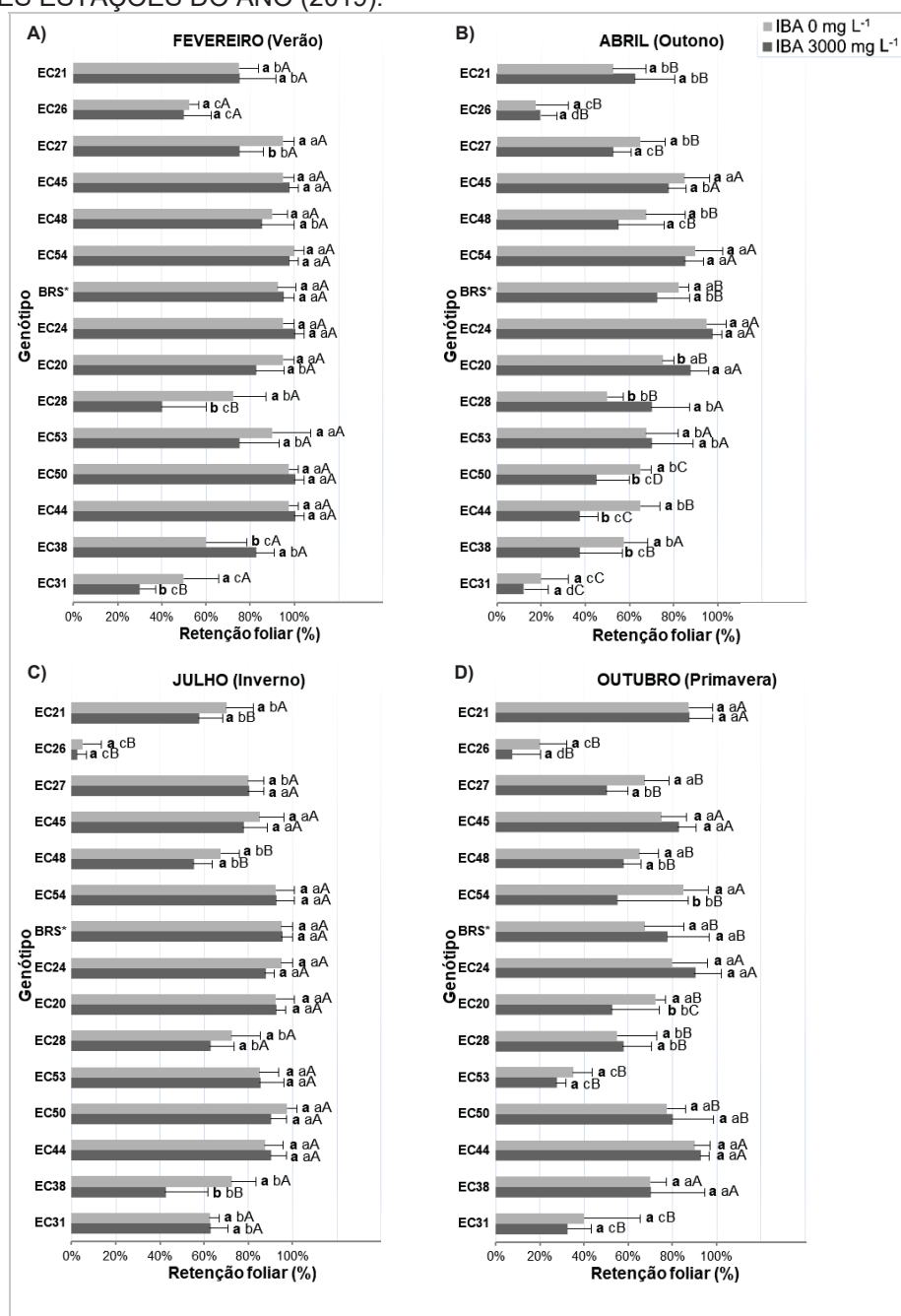
FIGURA 9 – PORCENTAGEM DE MINIESTACAS MORTAS DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*, TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).



Médias seguidas de uma mesma letra em **negrito** entre as concentrações de IBA para cada genótipo dentro de uma mesma estação, **minúscula** entre os genótipos em cada tratamento com IBA dentro de cada estação e **maiúsculas** entre os mesmos genótipos nas diferentes estações em cada tratamento com IBA não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. *BRS= BRS BLD Aupaba.

Para retenção foliar, as porcentagens variaram de 2,5% a 100% onde, entre as menores porcentagens, destaca-se o genótipo EC26, que apresentou os menores valores em todas as estações (2,5 a 52,5%). Em contrapartida, EC24 ficou entre os genótipos com maior porcentagem de retenção foliar, independente da estação do ano (87,5 a 100%) (Figura 10).

FIGURA 10 – PORCENTAGEM DE RETENÇÃO FOLIAR DE MINIESTACAS DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*, TRATADAS OU NÃO COM ÁCIDO INDOL BUTÍRICO (0 e 3000 mg L⁻¹), NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).

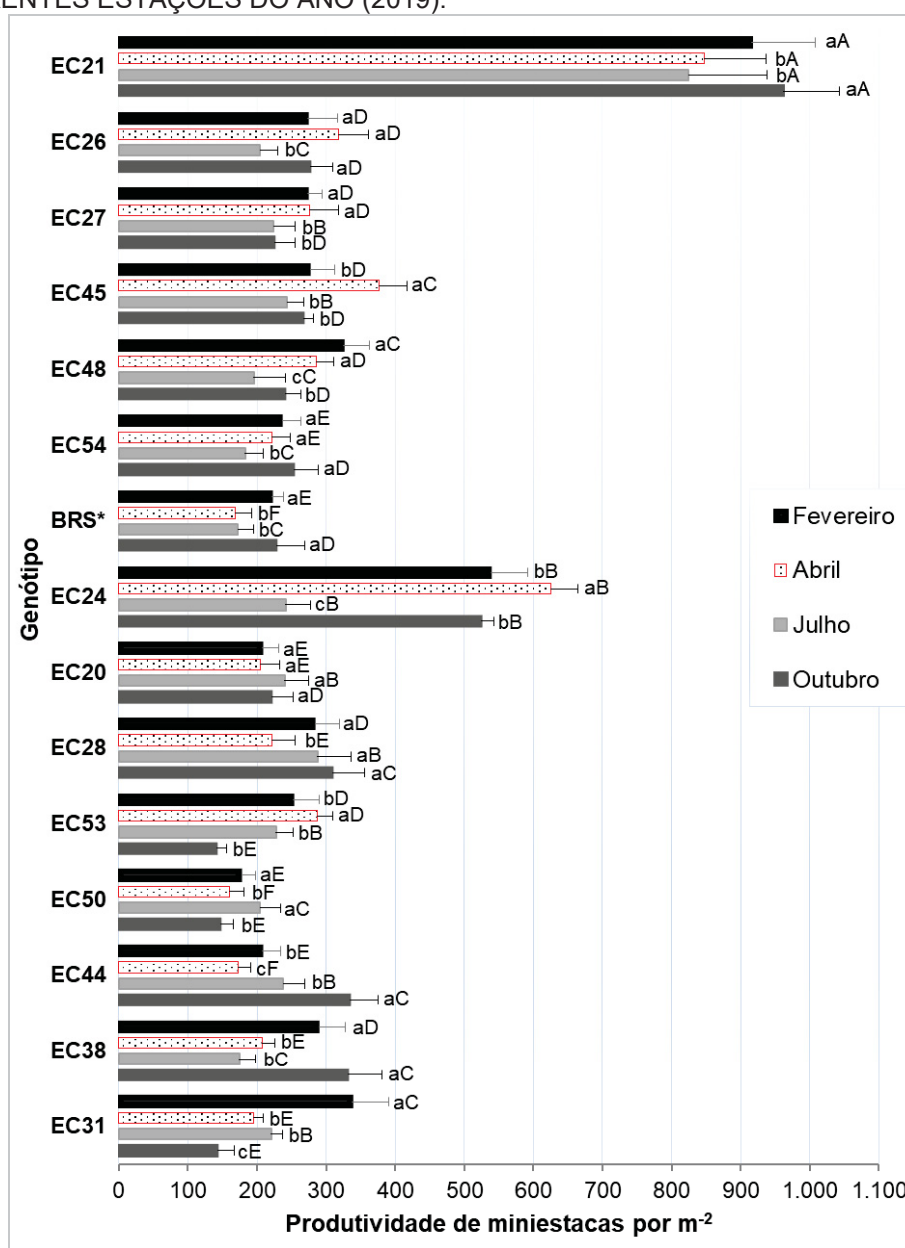


Médias seguidas de uma mesma letra em **negrito** entre as concentrações de IBA para cada genótipo dentro de uma mesma estação, **minúscula** entre os genótipos em cada tratamento com IBA dentro de cada estação e **maiúsculas** entre os mesmos genótipos nas diferentes estações em cada tratamento com IBA não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. *BRS= BRS BLD Aupaba.

A maior produtividade de miniestacas/minicepa foi obtida pelo genótipo EC21, superior aos demais em todas as estações, variando de 824,8 a 961,7 miniestacas m^{-2} , no inverno e na primavera, respectivamente. A primavera, no entanto, não diferiu do verão, que proporcionou o rendimento de 915,5 miniestacas m^{-2} (Figura 11).

Por outro lado, entre os genótipos com a menor produtividade destacou-se EC50, que por sua vez foi o único que apresentou os menores valores em todas as estações, variando de 147,5 a 204,4 miniestacas m^{-2} (Figura 11).

FIGURA 11 – PRODUTIVIDADE DE MINIESTACAS m^{-2} DE 15 GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*, NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).



Médias seguidas de uma mesma letra minúscula entre as diferentes épocas para cada genótipo e maiúsculas entre os genótipos dentro de uma mesma época não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Fevereiro (**verão**); abril (**outono**); julho (**inverno**); outubro (**primavera**). *BRS= BRS BLD Aupaba. Considera-se 44,44 miniestacas m^{-2} .

4.4 DISCUSSÃO

As diferenças observadas nos resultados obtidos entre os tratamentos deixaram ainda mais evidente a importância e a necessidade do estabelecimento de protocolos de enraizamento específicos para cada genótipo selecionado, visando estabelecer a melhor época para a coleta dos propágulos e a necessidade quanto à aplicação de IBA.

A variável enraizamento resultou em respostas multivariáveis, de modo que, por exemplo, para o genótipo EC21 recomenda-se a utilização de IBA apenas no outono, proporcionando incremento de 57% no índice de enraizamento, não havendo a necessidade do uso do IBA nas demais épocas de coleta. Por outro lado, a utilização de IBA (3000 mg L⁻¹) para o genótipo EC31 durante as estações do verão e outono, e nos genótipos EC21 e EC28 no verão, além de não promover a indução radicial, proporcionou uma maior porcentagem de mortalidade das miniestacas, podendo estar relacionada possivelmente à fitotoxicidade de auxina esses genótipos. Hartmann et al. (2011) afirmam que a altas concentrações de auxinas em estacas caulinares podem danificar tecidos. Assim, estima-se que para esses genótipos, a soma dos teores de auxinas endógenas mais a aplicação de IBA causou a maior mortalidade das miniestacas.

A grande maioria dos genótipos não apresentou respostas no enraizamento com a utilização de IBA nas estações do verão, inverno e primavera, o que justifica o fato de alguns autores dispensarem a utilização da aplicação deste regulador vegetal em miniestacas de erva-mate (PIMENTEL et al., 2019).

Em um estudo com miniestacas de erva-mate, Pimentel et al. (2019), afirmaram ser desnecessária a utilização de IBA no enraizamento de miniestacas de quatro genótipos estudados. Por outro lado, Sá et al. (2018) relataram que a aplicação de 8000 mg L⁻¹ em miniestacas de erva-mate foi a melhor concentração para o enraizamento adventício, o que mostra que as características particulares de cada genótipo, a nível fisiológico e molecular, podem proporcionar diferentes respostas associadas ao enraizamento.

Respostas semelhantes ao do presente estudo foram observadas por Sá et al. (2018), os quais obtiveram até 68,9% de enraizamento, com os melhores valores também na coleta de propágulos na primavera. Estas respostas podem estar

associadas possivelmente às condições ambientais mais favoráveis nessa época, bem como à condição fisiológica das matrizes.

É importante mencionar que em um estudo com estaquia convencional, onde as estacas foram preparadas com 12 ± 1 cm de comprimento e um par de folhas reduzidas pela metade, utilizando IBA a 6000 mg L^{-1} , Duarte (2020) obteve porcentagem de enraizamento de até 78% para o genótipo EC53 (o mesmo genótipo do presente estudo), superior aos resultados obtidos pela miniestaquia nesse trabalho (até 50%).

Com isso, verifica-se que há necessidade de alguns ajustes a serem realizados na técnica de miniestaquia para alguns genótipos de erva-mate. É importante considerar que a utilização de maiores concentrações de IBA, até um determinado limite, pode proporcionar melhores porcentagens de enraizamento para erva-mate (Sá et al. 2018), bem como o comprimento da estaca a ser confeccionada (Duarte et al., 2019).

Quanto ao número e comprimento de raízes, no presente estudo houve resposta positiva do IBA para alguns genótipos, proporcionando maior número e comprimento de raízes/miniestaca. O IBA, por se tratar de uma auxina, quando em concentrações ótimas, promove a rizogênese (TAIZ et al., 2017).

As porcentagens de calogênese observadas (11,25 a 86,25%) foram semelhantes aos valores relatados por Duarte et al. (2019) (13,75 a 77,5%), e superiores aos obtidos por Sá et al. (2018). Embora não tenha havido uma relação direta entre a calogênese e a formação de raízes no presente estudo, é conveniente ressaltar que, nos tratamentos com IBA, cujos resultados apresentaram diferenças entre as concentrações, as maiores porcentagens de calogênese foram observadas sempre no tratamento sem a utilização de IBA.

Esses resultados podem sugerir que, possivelmente, para alguns genótipos, a utilização de IBA pode vir a proporcionar maior formação de raízes em detrimento à calogênese, por um melhor balanço hormonal. O que justificaria os resultados observados no presente estudo.

Todavia, sabe-se que a formação de calos não é um fator determinante para a formação de raízes adventícias em erva-mate (DUARTE et al., 2019). Geralmente o processo de calogênese e a formação de raízes adventícias são influenciados pelos mesmos fatores (FACHINELLO et al., 2005), podendo ocorrer rizogênese direta ou indireta.

A significativa porcentagem de miniestacas vivas observada em alguns genótipos é outra variável que merece atenção, pois é possível que alguns destes genótipos necessitem de tempo superior a 120 dias para a indução radicial. Embora um período maior do que esse seja geralmente apontado como inviável para a produção em escala comercial, devido ao longo tempo, talvez seja um fator interessante para alguns materiais diferenciados, como por exemplo pelas características químicas (cafeína, teobromina, compostos fenólicos, atividade antioxidante), justificando e compensando o tempo adicional em casa de vegetação. Para fins de análise, sugere-se aqui um tempo adicional de 150 a 180 dias.

Verificou-se uma relação direta entre a variável retenção foliar e o enraizamento de alguns genótipos, de modo que as maiores porcentagens podem estar associadas com a manutenção foliar durante o período de enraizamento.

Embora a retenção foliar não seja um parâmetro condicional ao sucesso do processo de propagação vegetativa, trata-se de uma importante fonte de energia e síntese de substâncias relacionadas à indução radicial (HARTMANN et al., 2011). Além disso, é nos tecidos jovens e folhas novas que ocorre a biossíntese do ácido indol-3-acético (IAA) (TAIZ et al., 2017).

Além do potencial rizogênico, outro fator de grande relevância em um programa de propagação vegetativa é a produtividade das plantas matrizes, fornecendo maior quantidade de propágulos, característica essencial para aumentar o rendimento na produção de mudas. Nesse contexto, existem alguns estudos com os quais avaliam a produtividade das minicepas de erva-mate (WENDLING et al., 2007; WENDLING; DUTRA, 2008; PIMENTEL et al., 2019).

Avaliando a produtividade de miniestacas de erva-mate em sistema semi-hidropônico, Wendling et al. (2007), obtiveram em média 291 miniestacas m⁻². No presente estudo (média de 44,44 minicepas m⁻²), a produtividade de minicepas por metro quadrado variou de 147,5 miniestacas (EC53) a 961,7 miniestacas (EC21), ou seja 3,3 a 21,6 miniestacas/minicepa.

Pimentel et al. (2019) também avaliaram a produtividade de minicepas de erva-mate e obtiveram médias de até 90,78 miniestacas/minicepa (em um intervalo de 90 dias entre coletas), cujos valores se mostram superiores a este estudo. Entretanto, o padrão de miniestaca utilizado pelos autores foi de 2 cm, relativamente menor ao utilizado neste trabalho (de 5 ± 1 cm).

De modo geral, percebe-se que a produtividade de miniestacas/minicepa é variável tanto pela característica do genótipo quanto pelo tipo de manejo, padrão de miniestaca, entre outros fatores, sendo necessária uma avaliação diante cada situação.

A partir dos dados de produtividade e enraizamento do presente estudo, é possível então montar um programa de propagação vegetativa conforme a demanda do mercado pelo genótipo de interesse.

O baixo índice de enraizamento e a alta mortalidade observados em alguns genótipos, como EC26 e EC31, deixam clara a necessidade do aprimoramento dos protocolos de propagação. Sendo assim, sugere-se, a partir dos resultados desse estudo, novos tratamentos, como por exemplo a aplicação de maiores concentrações de IBA para alguns genótipos, bem como a avaliação do padrão de propágulos.

4.5 CONCLUSÕES

Com relação aos resultados obtidos para a miniestaquia e produtividade de 15 genótipos estudados de erva-mate, foi possível concluir que:

A necessidade de aplicação de IBA é uma variável dependente do genótipo e da estação do ano de coleta dos propágulos;

O outono é a estação com maior necessidade de aplicação de IBA para o enraizamento adventício;

A aplicação de IBA pode proporcionar maior número e comprimento de raízes/miniestaca para alguns genótipos de erva-mate;

A primavera foi a estação que proporcionou os maiores índices de enraizamento para o maior número de genótipos de erva-mate estudados;

O genótipo EC21 proporcionou maior produtividade de miniestacas.

4.6 REFERÊNCIAS

BRACESCO, N.; SANCHEZ, A. G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 3, p. 378-384, 2011.

DARTORA, N.; SOUZA, L. M.; PAIVA, S. M.; SCOPARO, C. T.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A.; RATTMANN, Y. D.; SASSAKI, G. L. Rhamnogalacturonan from *Ilex*

paraguariensis: A potential adjuvant in sepsis treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p.1776-1782, 2013

DUARTE, M. M.; MIRESKI, M. C.; OLISZESKI, A.; WENDLING, I.; STUEPP, C. A. Rooting of yerba mate cuttings with different lengths. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**. v. 5, n. 1, p. 05-11, 2019.

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

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation: principles and practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.

HECK, C. I.; MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, p.138–151, 2007.

KRATZ, D.; PIRES, P. P.; STUEPP, C. A.; WENDLING, I. Produção de mudas de erva-mate por miniestaquia em substratos renováveis. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 45, n. 3, p. 609-616, 2015.

MARTIN, J. G. P.; PORTO, E.; ALENCAR, S. M.; GLÓRIA, E. M.; CORRÊA, C. B.; CABRAL, I. S. R. Atividade antimicrobiana de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) contra patógenos alime. **Revista Argentina de Microbiología**. v. 45, n. 2, p. 93-98, 2013.

PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; KIELSE, P.; RODRIGUES, M. B.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Ciência Florestal**, v. 29, p. 559-570, 2019.

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

SANTIN, D.; WENDLING, I.; BENEDETTI, E. L.; MORANDI, D.; DOMINGOS, D. M. Sobrevivência, crescimento e produtividade de plantas de erva-mate produzidas por miniestacas juvenis e por sementes. **Ciência Florestal**, v. 25, p. 571-579, 2015.

STURION, J. A.; STUEPP, C. A.; WENDLING, I. Genetic parameters estimates and visual selection for leaves production in *Ilex paraguariensis*. **Bragantia**, v. 76, n. 4, p. 492-500, 2017.

TAIZ L, ZEIGER E., MØLLER I. M., MURPHY A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6th ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TAMURA, A.; SASAKI, M.; YAMASHITA, H.; MATSUI-YUASA, I.; SAKU, T.; HIKIMA, T.; TABUCHI, M.; MUNAKATA, H.; KOJIMA-YUASA, A. Yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) extract prevents ethanol-induced liver injury in rats. **Journal of Functional Foods**. v. 5, n. 4, p. 1714-1723, 2013.

WENDLING, I.; SANTIN, D. **Propagação e nutrição de erva-mate**. 1 Ed. Brasília: EMBRAPA, 2015. 195p.

WENDLING, I.; SANTAROSA, E.; PENTEADO JUNIOR, J.; AUER, C.; PENTEADO, S.; QUEIROZ, D. L.; SANTOS, A. F. **Manual de produção de mudas clonais de erva-mate**. Colombo: Embrapa Florestas, 2020. 47 p.

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

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, (Circular Técnica 157), 5 p. 2008.

5 CAPÍTULO III. PERFIL FITOQUÍMICO, METABOLÔMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E PRODUÇÃO DE MASSA VERDE DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Ilex Paraguariensis* A.ST.-HIL

RESUMO

Ilex paraguariensis apresenta uma diversificada composição química, caracterizada por inúmeros metabólitos primários e secundários, além de uma considerável produtividade de massa verde quando cultivada em sistema semi-hidropônico. Visando encontrar possíveis relações para compreender a base fisiológica e bioquímica do enraizamento adventício, bem como avaliar a produtividade de diferentes genótipos de erva-mate, o presente estudo objetivou avaliar o perfil fitoquímico de miniestacas de genótipos em diferentes estações do ano, identificar metabólitos presentes em miniestacas de genótipos com baixa e alta capacidade de enraizamento, bem como a produção de massa verde nas diferentes estações do ano. Para as análises foram utilizadas em torno de 25 miniestacas coletadas a partir de brotações de minicepas de um minijardim clonal pré-existente, enquanto que a produção de massa verde foi avaliada no momento da coleta. O delineamento experimental foi em esquema fatorial duplo para análise fitoquímica (3 genótipos x 4 estações do ano) e para avaliação da produção de massa verde (15 genótipos x 4 estações do ano), e em delineamento inteiramente casualizado para análise metabolômica (4 genótipos). Os teores de proteínas e compostos fenólicos totais, bem como a atividade antioxidante via radical DPPH, de miniestacas de erva-mate, variaram de acordo com o genótipo e a estação do ano. Os metabólitos glutamina e asparagina apresentaram uma alta correlação com o enraizamento adventício. O genótipo EC21 proporcionou alta produtividade de massa verde em cultivo semi-hidropônico, possibilitando a produtividade de 96,16 t ha⁻¹ ano⁻¹.

Palavras-chave: Metabólitos. Miniestacas. Erva-Mate. Sistema semi-hidropônico. produtividade.

**PHYTOCHEMICAL PROFILE, METABOLOMICS, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND
BIOMASS PRODUCTION OF DIFFERENT *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil
GENOTYPES**

ABSTRACT

Ilex paraguariensis has a diversified chemical composition, characterized by numerous primary and secondary metabolites, in addition to considerable fresh biomass productivity when cultivated in semi-hydroponic systems. Focusing on finding possible relationships to understand the physiological and biochemical basis of adventitious rooting in the species, as well as to evaluate the productivity of different yerba mate genotypes, the present study aimed to evaluate the phytochemical profile of mini-cuttings of yerba mate genotypes in different seasons of the year, to identify metabolites present in mini-cuttings of yerba mate genotypes with low and high rooting capacity, as well as to assess the production of fresh biomass of the genotypes in different seasons. For the chemical analyses, around 25 mini-cuttings were used, collected from mini-stump shoots of a pre-existing mini clonal garden, while the production of biomass was evaluated at the time of collection. The experimental design was in a 2-level factorial scheme for phytochemical analysis (3 genotypes x 4 seasons of the year) and for biomass production (15 genotypes x 4 seasons of the year), and in a completely randomized design for the metabolomic analysis (4 genotypes). The contents of total protein and phenolic compounds, as well as the antioxidant activity via DPPH radical of yerba mate mini-cuttings vary according to the genotype and the season of the year. Glutamine and asparagine metabolites show a high positive correlation with mini-cuttings adventitious rooting. The EC21 genotype presented high fresh biomass yield in semi-hydroponic cultivation, reaching up to of 96.16 t ago⁻¹ year⁻¹.

Keywords: Metabolites. Mini-Cuttings. Yerba mate. Semi-hydroponic system. Productivity.

5.1 INTRODUÇÃO

Ilex paraguariensis A.St.-Hil é uma espécie endêmica da floresta ombrófila mista, de grande importância socioeconômica para a região Sul do Brasil, Paraguai e Argentina (FOWLER; STURION, 2000). No Brasil, a espécie é consumida principalmente por infusão (REICHERT et al., 2013), mas com potencial para ser utilizada também como matéria-prima para as indústrias farmacêutica, alimentícia, cosmética e nutracêutica (HECK; MEJIA, 2007; BRACESCO et al., 2011), com crescente exportação para vários países (CARDOZO JUNIOR; MORAND, 2016).

A erva-mate apresenta diversificada composição química, incluindo minerais, vitaminas, compostos fenólicos (ácido cafeico, ácido clorogênico), metilxantinas (cafeína, teobromina e teofilina), terpenos (carotenóides, saponinas) flavonoides (quercetina, campferol, rutina) (HECK; MEJIA, 2007), proteínas e fibras alimentares (ESMELINDRO et al., 2004; TOMASI et al., 2019; 2021).

Sua composição de metabólitos secundários também é ampla e extensa. Em um estudo realizado por Melo et al. (2020), a análise de compostos polares (metabolômica) via cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) proporcionou a extração de mais de 200 compostos nos extratos do tecido foliar de erva-mate, dos quais foram detectados e identificados 96 compostos.

Em paralelo com estudos referentes à composição química da erva-mate, cada vez mais estudos agrônômicos têm sido requisitados, possibilitando aprimorar estratégias de produção (CARDOZO JUNIOR; MORAND, 2016), bem como constatar possíveis relações, como por exemplo, compreender as bases fisiológicas e bioquímicas do enraizamento adventício (SÁ, 2018).

Sabe-se que a indução radicial pode ser influenciada pela composição bioquímica dos propágulos (YAN et al., 2017), de modo que, algumas proteínas são exemplares de compostos envolvidos no enraizamento (SORIN et al., 2006), auxiliando na indução, formação e desenvolvimento radicial (TAIZ et al., 2017), atuando também como componente estrutural (THOMAS; LEE; SCHIEFELBEIN, 2003), enzimas (WOODWARD; BARTEL, 2005), ou ainda podem estar envolvidas na sinalização e biossíntese de auxinas (HORNITSCHKE et al., 2012; ZHANG et al., 2017).

A indução radicial também pode ser influenciada pela disponibilidade de carboidratos (CORRÊA et al., 2005), cujos compostos são um importante recurso

energético para atividade fotossintética (ASLMOSHTAGHI; REZA-SHAHSAVAR, 2010), regulação do crescimento e desenvolvimento (SAIRANEN et al., 2012), ou ainda como elemento estrutural celular (CORRÊA et al., 2005).

O êxito do enraizamento e a qualidade das mudas podem ainda ser altamente condicionados ao material genético que se deseja multiplicar (KRATZ et al. 2015; SANTIN et al. 2015; DUARTE et al. 2019). A composição química do material genético, como por exemplo, os teores de compostos fenólicos totais e teobromina podem se apresentar como componentes negativos ao enraizamento (VIEIRA et al., 2021).

Além da propagação, outro aspecto de grande importância e inovação na cultura da erva-mate, refere-se à produção de massa verde (para aplicação como matéria-prima para a indústria) por minicepas cultivadas em sistema semi-hidropônico, que embora sua principal finalidade seja o fornecimento de propágulos vegetativos, alguns estudos tem mostrado que esse sistema possibilita alta produtividade, superando a produção a campo (TOMASI, 2019, AGUIAR, 2021).

Assim, o objetivo do presente estudo foi analisar o perfil fitoquímico de miniestacas de diferentes genótipos de erva-mate nas diferentes estações do ano, verificar o perfil de metabólitos com base na sua capacidade de enraizamento, bem como avaliar a produção de massa verde total dos diferentes genótipos nas diferentes estações do ano.

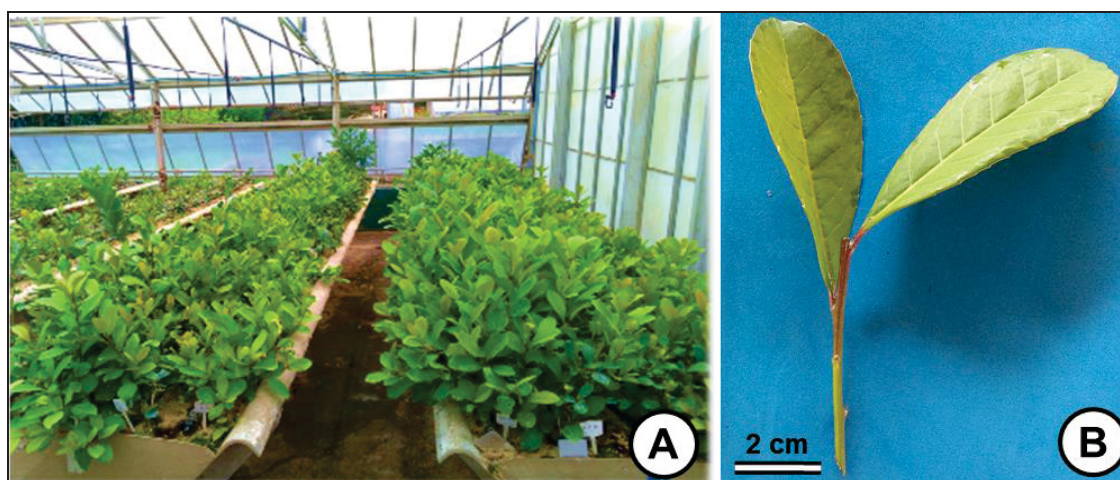
5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Material vegetal e experimentos

O material vegetal analisado no presente estudo refere-se aos genótipos EC21, EC26, EC27, EC45, EC48, EC54, BRS BLD Aupaba, EC24, EC20, EC28, EC53, EC50, EC44, EC38 e EC31, conduzidos como minicepas em condições de estufa (Embrapa Florestas Colombo/PR), sob sistema semi-hidropônico em canaletão com areia lavada (WENDLING et al., 2007), cuja principal finalidade é o fornecimento de propágulos vegetativos (Figura 1). O genótipo BRS BLD Aupaba (referido como BRS a partir de agora), trata-se de uma cultivar comercial de erva-mate usada como referência (WENDLING et al., 2017).

A fertilização das minicepas foi realizada por solução nutritiva: N-NO_3^- (156,0 mg L^{-1}), N-NH_4^+ (50,0 mg L^{-1}), P (25,0 mg L^{-1}), K^+ (200,0 mg L^{-1}), Ca^{2+} (200,0 mg L^{-1}), Mg^{2+} (45,0 mg L^{-1}), S (76,9 mg L^{-1}), B (1,5 mg L^{-1}), Cu^{2+} (0,1 mg L^{-1}), Fe^{2+} (5,0 mg L^{-1}), Mn^{2+} (1,0 mg L^{-1}), Zn^{2+} (0,7 mg L^{-1}), Mo^{2-} (0,07 mg L^{-1}), fornecida via sistema de fertirrigação por gotejamento, três vezes ao dia em uma vazão total de 5 L m^{-2} de acordo com as recomendações de Wendling e Santin (2015).

FIGURA 1– MINICEPAS DE *Ilex paraguariensis* EM MINIJARDIM CLONAL SOB SISTEMA SEMI-HIDROPONICO (A), PROPAGULO VEGETATIVO (MINIESTACA) (B).



Fonte: O autor (2021)

O presente estudo foi dividido em três partes, 1ª parte: análise de composição química; 2ª parte: análise metabolômica; e 3ª parte: avaliação da produção de massa verde total dos 15 genótipos. É importante ressaltar previamente que na 1ª e 2ª análise não foram utilizados todos os genótipos, mas apenas alguns selecionados com base em estudo prévio. Apenas na avaliação da produtividade de massa verde total foi utilizado todos os genótipos.

Para a 1ª parte do estudo (análise de composição química), a partir das brotações das minicepas dos genótipos EC21, EC24 e EC26, foi realizada a coleta de miniestacas (comprimento médio de 5 cm com um par de folhas) nas quatro estações do ano: 04/02/2019 (verão), 11/04/2019 (outono), 11/07/2019 (inverno) e 10/10/2019 (primavera), para análises de compostos fenólicos totais, proteínas e atividade antioxidante (ABTS e DPPH). A escolha desses genótipos foi realizada com base nos resultados de enraizamento e produtividade (VIEIRA et al., 2021).

Para a 2ª parte do estudo (análise metabolômica), a coleta foi realizada somente em 11/04/2019 (outono), a partir dos genótipos EC24, EC26, EC50 e BRS,

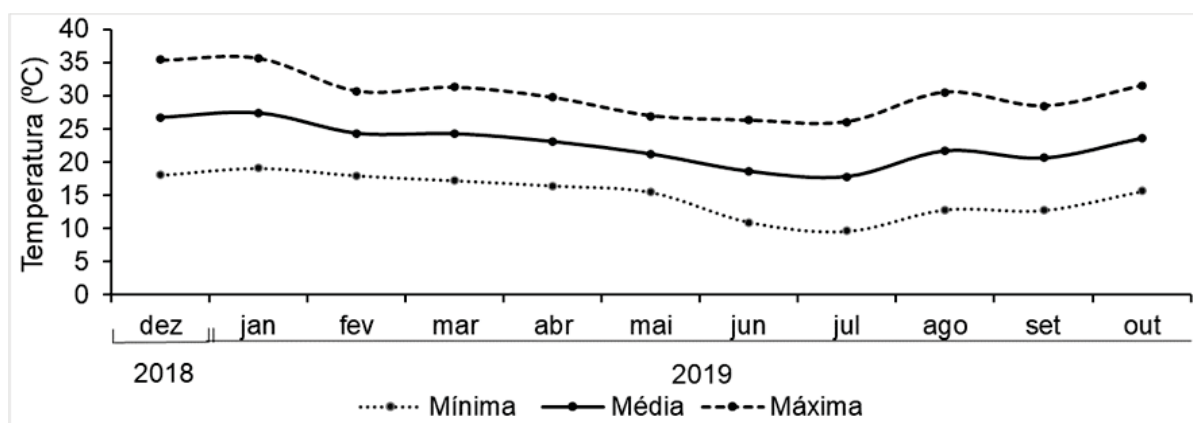
sendo que a escolha dos genótipos foi realizada com base em resultados prévios de enraizamento constatados por Vieira et al., (2021), onde foram selecionados os genótipos com menor e maior porcentagem de enraizamento (EC50= 5%; EC26= 10%; BRS= 60% e EC24=72.5%).

Já para a 3ª parte do estudo (avaliação da produtividade de massa verde total- folhas e ramos), foram avaliados todos os 15 genótipos, no momento da coleta das brotações em cada estação, onde a poda das minicepas foi realizada mantendo-se de 20% a 30% de folhas para a manutenção da atividade fisiológica das plantas. A massa verde total foi determinada com auxílio de balança de precisão logo após a colheita.

Avaliou-se cinco parcelas de cinco minicepas por repetição, totalizando 25 minicepas por genótipo e a produção de massa verde foi expressa em gramas por metro quadrado ($g\ m^{-2}$), considerando 44,44 minicepas por metro quadrado (espaçamento 0,15 x 0,15 m entre minicepas). As colheitas foram realizadas nos dias 04/02/2019 (verão), 11/04/2019 (outono), 11/07/2019 (inverno) e 10/10/2019 (primavera), com intervalo entre poda e colheita de 77, 56, 91 e 91 dias, respectivamente. A temperatura do ambiente de cultivo durante o período do experimento é apresentada na Figura 2.

A produtividade anual foi calculada pelo somatório da produção das quatro colheitas, extrapolando os resultados para $t\ ha^{-1}\ ano^{-1}$ e considerando uma área útil de 70% (descontando os espaços dos corredores entre canaletas e estradas necessários para o manejo das plantas neste sistema de cultivo), conforme a metodologia utilizada por Aguiar (2021).

FIGURA 2 – TEMPERATURAS MÍNIMAS, MÁXIMAS E MÉDIAS (°C) EM ESTUFA DE CULTIVO SEMI-HIDROPÔNICO ENTRE OS MESES DE DEZEMBRO/2018 A OUTUBRO/2019.



Fonte: O autor (2021).

5.2.2 Preparação do extrato aquoso de erva-mate para análises químicas

Amostras com 25 miniestacas (comprimento médio de 5 cm com um par de folhas) foram retiradas para preparar o extrato aquoso usado para a caracterização fitoquímica e atividade antioxidante. A quantidade total de material vegetal foi seca em forno micro-ondas por aproximadamente 5 minutos (1000- W, 2.450 MHz) e posteriormente triturada em moedor de laboratório (classificado como moagem fina - peneira 0,25 mm), e armazenada no freezer (-20°C) até a extração (TOMASI, 2020).

Para preparar o extrato aquoso, 0,1 g do material vegetal foi pesado e acondicionado em microtubos e acrescidos 2 mL de água ultrapura. A solução foi agitada em vórtex por 30 s e incubada por 1 h, a 60°C e 450 rpm usando equipamento Thermomixer®. Os extratos aquosos foram filtrados em Filtro de 0,22 µm e usados para determinar a capacidade antioxidante pelos métodos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico ácido)], teores de fenólicos totais e análises cromatográficas (cafeína e teobromina). A extração foi realizada em triplicata e o valor médio foi usado para análises estatísticas. O teor de umidade das amostras foi determinado em triplicada, com secagem em estufa a 105°C até massa constante (Método 920.151 - AOAC, 2000).

5.2.3 Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e proteínas

A capacidade antioxidante dos extratos aquosos por radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), foi verificada conforme o método descrito por Brand-Williams et al. (1995) com modificações. Uma quantidade de 0,1 mL de extrato aquoso foi adicionada em 3,9 mL de DPPH diluído em metanol (0,06 mmol L⁻¹) (ajustada para absorvância de 0,5 ± 0,05 nm). A solução foi mantida no escuro por 30 minutos em temperatura ambiente. Após este período, a absorvância foi determinada a 515 nm.

A atividade antioxidante dos extratos via radicais livres ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico ácido)] foi verificada pela reação de 10 mL de ABTS (7 mmol L⁻¹) com 176 µL de persulfato de potássio (140 mmol L⁻¹) no escuro à temperatura ambiente durante 16 horas. Uma alíquota de 1 mL dessa solução foi adicionada em 100 mL de tampão de acetato de sódio (20 mmol L⁻¹) e pH 4,5. A absorvância foi ajustada para 0,7 ± 0,05 nm e 3 mL foram adicionados a 30 µL de extrato. Após 2 horas (no escuro), a absorvância foi então determinada em

espectrofotômetro a 734 nm (RE et al., 1999; YIM et al., 2013) com modificações (TOMASI, 2020).

A atividade antioxidante para ambos os métodos foi estimada usando uma curva analítica Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido-carboxílico) (intervalo de 0-1000 e 0-2500 mg L⁻¹, para DPPH e ABTS, respectivamente). Os resultados foram expressos em µmol de capacidade antioxidante equivalente ao Trolox por grama de amostra seca (µmolTEAC g⁻¹).

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu conforme descrito por Singleton e Rossi (1965), com pequenas modificações. Uma alíquota de 0,1 mL de extrato aquoso foi adicionada em balão volumétrico, seguida da adição de 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu e 5 mL de água destilada. A solução foi agitada em vórtex por 1 minuto e na sequência adicionou-se 2 mL de solução aquosa de Na₂CO₃ a 15%. A solução foi agitada novamente por 30 segundos e o volume foi ajustado para 10 mL com água destilada. A solução foi mantida no escuro por 2 horas e posteriormente a absorbância foi determinada em espectrofotômetro a 760 nm. A curva padrão foi obtida com ácido gálico (ácido 3,4,5-tri-hidroxibenzóico) entre as concentrações de 0,25 e 10 mg L⁻¹ e os resultados expressos em mg equivalentes ao ácido gálico por grama de amostra seca (mgEAG g⁻¹).

O teor de proteínas totais foi determinado pelo método de combustão total, realizado em um analisador CHNS (Analisador Elementar modelo Vario Macro Cube), sendo o conteúdo de proteína determinado multiplicando o teor de nitrogênio total pelo fator 6,25 (fator universal). Os resultados foram expressos como mg de proteína por grama de tecido vegetal seco (mg g⁻¹).

5.2.4 Avaliação do conteúdo de cafeína e teobromina por cromatografia líquida

As análises cromatográficas foram realizadas utilizando cromatógrafo líquido Shimadzu® (UFLC), controlado pelo Software LC Solution e equipado com injetor automático e detector de UV (SPD-20A). Para a separação dos compostos utilizou-se a coluna Shim-Pack CLC-ODS (M)® (250 x 4,6 mm, Ø 5 µm), com pré-coluna Shim-Pack CLC G-ODS® (10 x 4,0 mm, Ø 5 µm), ambos Shimadzu®. O volume de injeção foi de 20 µL do extrato aquoso (TOMASI, 2020).

A separação dos compostos no extrato aquoso foi realizada a 30°C com uma taxa de fluxo de 0,5 mL min⁻¹. As fases móveis consistiram em um gradiente de eluição de água e ácido acético (Alphatec®) (99,9: 0,1 v/v, solvente A) e acetonitrila (100%, solvente B). O programa de eluição de gradiente foi: 0-15min (3% B), 15-20 min (3-20% B), 20-40 min (20% B), 40-45 min (20-30% B), 45-55 min (30-100% B), 55-5 (100% B), 75-80 (100-3% B) e 80-95 (3% B), com comprimento de onda em 280 nm (fixo).

A quantificação dos compostos cafeína (1,3,7-trimetilxantina) e teobromina (3,7-dimetilxantina) foi realizada a partir de curvas analíticas obtidas com padrões da Sigma® para cafeína ($R^2 = 0,9933$), e teobromina ($R^2 = 0,9827$). A identificação dos ácidos cafeoilquínicos [ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA), ácido 4-cafeoilquínico (4-CQA), ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA)] também foi realizada com padrão Sigma® e a semi quantificação foi obtida a partir de curva analítica entre as concentrações de 0 e 10 mg mL⁻¹ de 3-CQA ($R^2 = 0,9914$). Os resultados foram expressos em mg de composto por grama de amostra (mg g⁻¹), em base seca.

5.2.5 Análise metabolômica

A determinação dos metabólitos polares foi realizada segundo a metodologia de Fiehn et al. (2000), onde todo o processo foi realizado com as amostras congeladas em nitrogênio líquido e mantidas em ultra freezer (-80°C).

Para a extração, 20 mg de amostras trituradas e congeladas foram pesadas em Eppendorf® de 2 mL, acrescidos de 300 µL de metanol, pré-arrefecido a -20°C, misturados em Vortex®. Na sequência, foram adicionados 30 µL de éster metílico de ácido nonadecadônico (2 mg/mL de estoque em CHCl₃) para controle interno qualitativo para a fase lipídica e 30 µL de ¹³C₆-sorbitol (utilizada para padronização interna quantitativa para a fase polar). A amostra foi então agitada por 15 minutos a 70°C e, posteriormente esfriada até a temperatura ambiente. Após, foram acrescentados 200 µL de CHCl₃, agitando por 5 min a 37° C. Na sequência, 400 µL de H₂O foram adicionados à amostra, misturados em vórtex e colocados em centrífuga por 7 minutos a 12000 rpm.

Duas alíquotas (1/2) da fase polar superior foram transferidas para tubos eppendorff® cônicos de 1,5 mL e secadas em Speed Vac® durante a noite, sem aquecimento. Por fim, as amostras foram derivatizadas na sequência: cloridrato de

metoxiamina em piridina (50 μL , 20 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 40° C, 90 min) e MSTFA (N-metil-N-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida) (50 μL , 40°C por 90 min) e, analisadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas GC-MS, 1 μL de solução foi injetada por divisão de fluxo 1:25 (1 min) e a separação dos compostos foi realizado com a coluna cromatográfica DB-5 (30 m x 0,25 mm Thermo Scientific). A análise foi realizada com fluxo constante e compensação a vácuo com a temperatura do injetor à 230 °C, linha de transferência 250°C e gás de arraste hélio a 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A programação de temperatura interna do forno foi de 70°C com isoterma de 1 min; e aquecimento 320°C na taxa de 8°C min^{-1} , isoterma final de 18 min. A operação do espectrômetro de massas decorreu no modo positivo: eletroionização à 70 eV e temperatura da fonte de íons a 200°C.

No software AMDIS (*Automated Mass Spectral Deconvolution*, NIST) a identificação dos compostos ocorreu por meio dos espectros de massas, comparação do índice de retenção (IR), de acordo com a plataforma *Golm Metabolome Database* (HUMMEL et al., 2010). As intensidades dos metabólitos (i.e., altura dos picos) foram normalizadas pelo peso das amostras e pelo padrão interno ($^{13}\text{C}_6$ -Sorbitol), usando fragmentos (m/z) característicos de cada composto.

5.2.6 Análise estatística

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett ($p < 0,05$). As variáveis cujas variâncias se mostraram homogêneas foram submetidas à análise de variância ($p < 0,01$ e $p < 0,05$) e as que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey. As variáveis que não atenderam aos pressupostos de homogeneidade de variâncias foram transformadas pelas seguintes equações: $\text{Tan}(x/100)$ (compostos fenólicos totais), $\text{Log}_{10}(x + 10)$ (teobromina e 3-CQA) e raiz quadrada (produção de massa verde) para prosseguir com análise de variância.

Para os metabólitos, as variáveis com distribuição de probabilidade normal foram analisadas por meio da ANOVA com teste F ($p > 0,05$). As variáveis com outras distribuições de probabilidade foram analisadas utilizando GLM (Modelos Lineares Generalizados) com distribuição gama e teste CHISQ ($p < 0,05$). As comparações entre tratamentos e suas interações significativas foram avaliadas por contrastes de Tukey 5%. As variáveis que não se adequaram ao modelo ajustado

foram tratadas como não paramétricas, e analisadas com o teste Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Na comparação dos clones com diferentes potenciais de enraizamento, os valores semi-quantitativos dos metabólitos (discriminantes) foram transformados para centre log ratio CLR (CoDaPack®). A correlação entre os potenciais de enraizamento foi realizada por meio da análise discriminante (DA) usando *Partial Least Squares* (PLS, Unscrambler®), atribuindo os valores -1 para clones com baixo potencial de enraizamento e +1 para alto. Esta análise é similar à *Principle Component Analysis* (PCA), mas utiliza uma nova variável ou fator para correlacionar os dados, de modo a explicar ao máximo a sua variação (ESBENSEN et al., 2002).

5.3 RESULTADOS

Houve diferenças significativas entre os genótipos e estações do ano para todas as variáveis analisadas. Apenas para a atividade antioxidante via radical ABTS não houve interação dupla significativa entre os tratamentos (Tabela 1).

TABELA 1- TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (RADICAIS ABTS E DPPH) E PROTEÍNAS DE MINISTACAS DE TRÊS GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis* NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).

Genótipo	Estação do ano			
	VERÃO	OUTONO	INVERNO	PRIMAVERA
Compostos Fenólicos Totais (mg g⁻¹)				
EC21	91,40 b A	90,88 b A	95,16 ab A	101,08 a A
EC24	94,17 a A	73,98 bc B	60,10 c B	84,54 b B
EC26	97,68 a A	91,97 ab A	87,78 b A	88,79 b B
ABTS (μmolTEAC g⁻¹)				
EC21	1729,82	2053,44	1735,53	2109,09 A
EC24	1817,68	1638,79	1576,15	1592,48 B
EC26	1922,05	1903,85	1765,21	2004,58 A
	ab	ab	b	a
DPPH (μmolTEAC g⁻¹)				
EC21	733,71 b B	881,94 ab A	785,79 b A	997,76 a A
EC24	968,03 a A	717,03 b B	425,63 c B	675,38 b B
EC26	902,43 a A	812,43 ab AB	737,47 b A	958,77 a A
Proteínas (mg g⁻¹)				
EC21	115,48 b B	102,91 c AB	98,50 c B	126,35 a B
EC24	127,23 b A	107,65 c A	111,23 c A	136,38 a A
EC26	107,87 b B	99,26 b B	88,01 c C	136,57 a A

*Médias seguidas de uma mesma letra maiúscula na mesma coluna e minúscula na mesma linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Anexo 3).

O maior teor de compostos fenólicos totais foi obtido pelo genótipo EC21 na estação da primavera (101,08 mg g⁻¹), cujo valor não diferiu do obtido no inverno. Já

o menor teor foi obtido pelo genótipo EC24 no inverno (60,1 mg g⁻¹), não diferindo do outono e primavera (Tabela 1).

Para atividade antioxidante via radical ABTS, as médias gerais dos tratamentos mostraram que a primavera apresentou a maior média (2109,09 µmolTEAC g⁻¹), não diferindo, no entanto, do verão e do outono. Quando verificada a média geral entre os genótipos, EC24 apresentou valores inferiores aos demais (1592,48 µmolTEAC g⁻¹) (Tabela 1).

Já em relação à atividade antioxidante via radical DPPH, o maior valor foi observado no genótipo EC21 (997,76 µmolTEAC g⁻¹) na primavera, não diferindo do outono e nem do genótipo EC26, enquanto que a menor atividade foi obtida pelo EC24 no inverno (425,63 µmolTEAC g⁻¹) (Tabela 1).

Quanto ao conteúdo de proteínas, estas variaram de 88,01 a 136,57 mg g⁻¹ (EC26), no inverno e na primavera respectivamente (Tabela 1).

Em relação aos teores de cafeína, os extremos, menor e maior valor, foram observados no genótipo EC26, onde os teores variaram de 8,40 mg g⁻¹(inverno) a 14,17 mg g⁻¹(outono) (Tabela 2).

TABELA 2 - TEORES DE CAFEÍNA, TEOBROMINA E ÁCIDOS CAFEOILQUÍNICOS (3-CQA, 4-CQA e 5-CQA) EM MINIESTACAS DE TRÊS GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis* NAS DIFERENTES ÉSTAÇÕES DO ANO (2019).

Genótipo	Estação do ano			
	VERÃO	OUTONO	INVERNO	PRIMAVERA
Cafeína (mg g⁻¹)				
EC21	11,68 a A	11,68 a B	10,19 a A	11,65 a B
EC24	10,96 a A	11,47 a B	11,00 a A	10,30 a B
EC26	11,22 b A	14,17 a A	8,40 c B	13,34 a A
Teobromina (mg g⁻¹)				
EC21	6,73 a B	2,02 c A	1,45 d B	4,03 b B
EC24	9,49 a A	2,28 c A	4,03 b A	10,61 a A
EC26	5,05 a C	1,43 c B	0,82 d C	3,54 b B
3-CQA (mg g⁻¹)				
EC21	23,85 c A	26,30 c A	37,74 a A	32,17 b A
EC24	16,24 b B	24,04 a A	15,70 b C	23,78 a B
EC26	22,78 ab A	19,05 c B	25,26 a B	20,87 bc C
4-CQA (mg g⁻¹)				
EC21	20,96 a A	15,06 c B	16,41 c A	18,92 b A
EC24	14,00 ab B	15,35 a AB	7,64 c B	12,96 b B
EC26	22,80 a A	16,99 bc A	14,97 c A	17,39 b A
5-CQA (mg g⁻¹)				
EC21	48,15 b A	54,34 ab A	54,92 a A	54,47 ab A
EC24	32,75 b B	51,64 a A	23,69 c B	38,12 b B
EC26	52,68 a A	54,54 a A	52,47 a A	51,85 a A

*Médias seguidas de uma mesma letra maiúscula na mesma coluna e minúscula na mesma linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Anexo 3).

Quanto ao conteúdo de teobromina, este variou de 0,82 mg g⁻¹ (inverno) a 10,61 mg g⁻¹ (primavera), nos genótipos EC26 e EC24, respectivamente (Tabela 2).

Com relação aos ácidos cafeoilquínicos, 5-CQA foi o mais abundante, seguido de 3-CQA e posteriormente 4-CQA. Os teores de ácidos cafeoilquínicos apresentaram diferenças significativas entre genótipos e época para quase todas as interações. Apenas para 5-CQA não se observou diferença entre os genótipos no outono, bem como entre as épocas no genótipo EC26 (Tabela 2).

Para a variável produção de massa verde total (folhas e ramos), houve diferença significativa entre os genótipos em todas as estações do ano, com os valores variando de 439,62 a 4224,56 g m⁻², para os genótipos EC50 e EC21 respectivamente (Tabela 3).

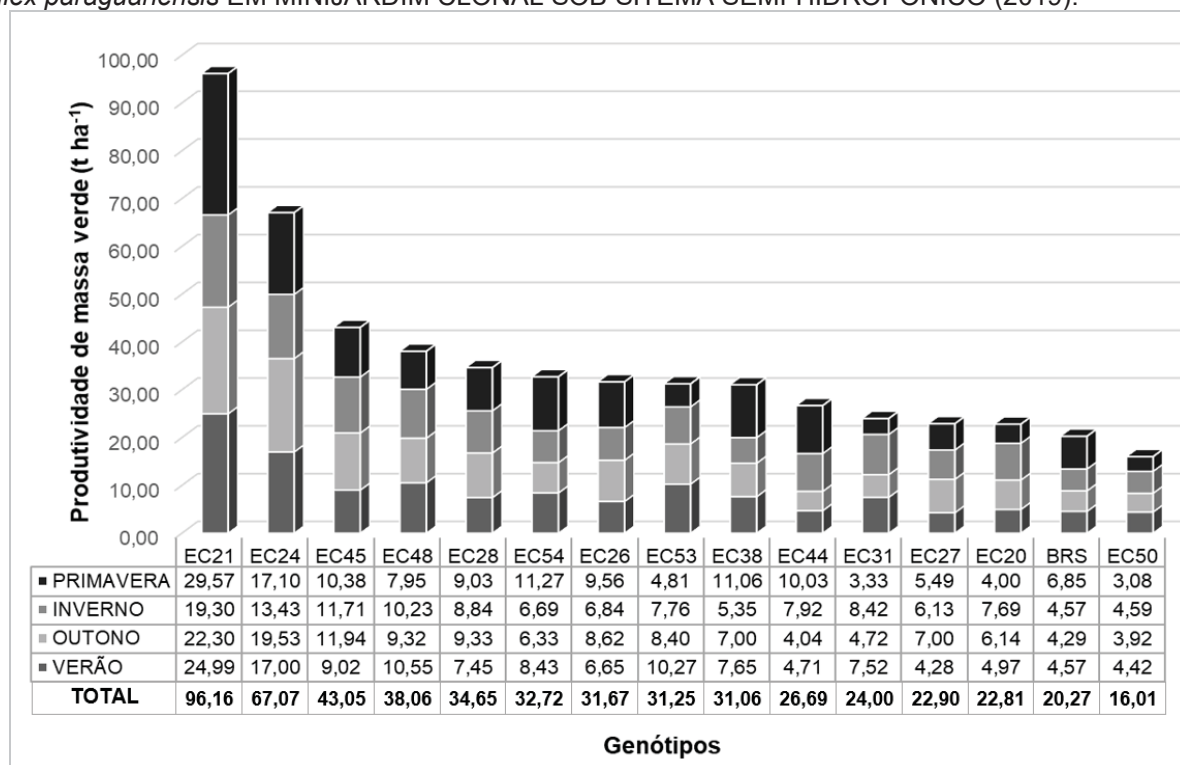
TABELA 3 - MÉDIAS DE MASSA VERDE TOTAL (g m⁻²) COLHIDA DE MINICEPAS DE GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis* NAS DIFERENTES ÉSTAÇÕES DO ANO (2019).

Genótipo	Estação do ano				TOTAL
	VERÃO	OUTONO	INVERNO	PRIMAVERA	
EC21	3570,11 bA	3185,25 cA	2756,97 dA	4224,56 aA	13736,89
EC26	949,35 bD	1231,25 aD	977,34 bE	1365,96 aC	4523,90
EC27	611,44 bE	999,88 Ae	875,18 aF	784,81 aE	3271,31
EC45	1288,65 bC	1705,55 aC	1672,95 aB	1483,23 bC	6150,38
EC48	1507,40 aC	1331,64 aD	1462,02 aC	1136,24 bD	5437,30
EC54	1204,22 bD	904,27 cF	956,05 cE	1610,26 aC	4674,80
BRS*	653,16 bE	612,42 bG	652,97 bG	977,88 aD	2896,43
EC24	2428,93 bB	2790,07 aB	1918,83 cB	2443,47 bB	9581,30
EC20	710,33 cE	877,81 bF	1098,73 aD	572,14 cF	3259,01
EC28	1064,48 bD	1332,45 aD	1262,63 aD	1290,45 aC	4950,01
EC53	1467,59 aC	1199,99 bD	1109,22 bD	687,52 cE	4464,32
EC50	631,63 aE	560,30 aG	656,08 aG	439,62 bF	2287,63
EC44	673,53 cE	576,58 cG	1130,78 bD	1432,28 aC	3813,17
EC38	1092,53 bD	1000,40 bE	764,37 cF	1579,59 aC	4436,89
EC31	1074,74 aD	674,97 bG	1202,55 aD	475,72 cF	3427,98

Médias seguidas de uma mesma letra maiúscula na mesma coluna e minúscula na mesma linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. *BRS= BRS BLD Aupaba.

Quando extrapolado para a produtividade (toneladas/hectare/ano), verifica-se que o genótipo EC21 proporcionou uma produtividade anual de 96,16 toneladas, seguido pelo EC24, com 67,07 toneladas. Já a menor produtividade total foi obtida pelo genótipo EC50, com 16,01 toneladas (Figura 3).

FIGURA 3– PRODUTIVIDADE DE MASSA VERDE (t ha⁻¹ ano⁻¹) DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis* EM MINIJARDIM CLONAL SOB SISTEMA SEMI-HIDROPONICO (2019).



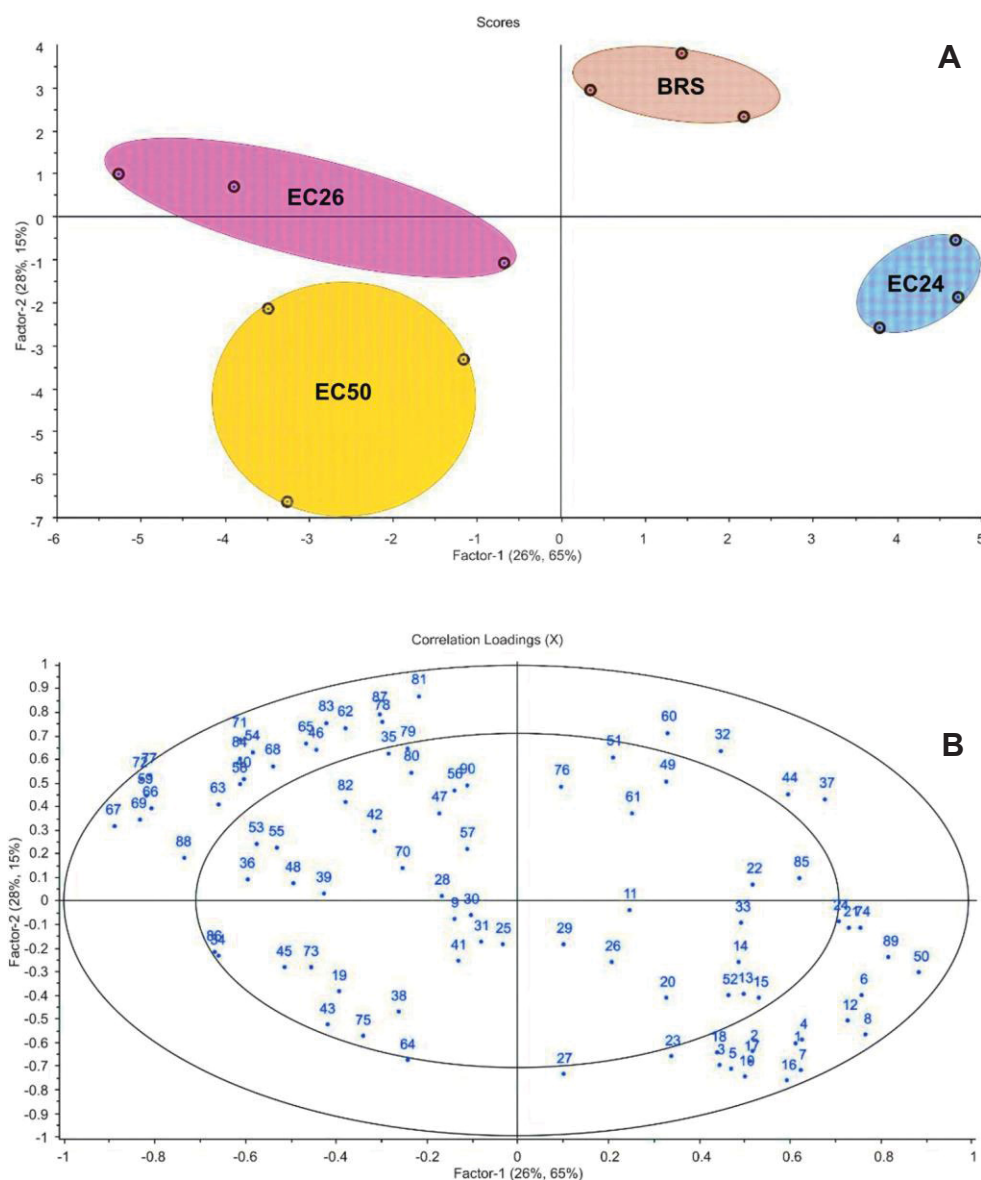
*BRS= BRS BLD Aupaba.

FONTE: O autor (2021).

Tratando-se de metabólitos polares, a análise via CG-EM proporcionou a extração de um total de 90 compostos em extratos metanólicos de miniestacas de erva-mate; todavia, desse total, 25 compostos não foram identificados. Sendo assim, foram identificados 65 compostos, incluindo aminoácidos (17), açúcares (12), ácidos orgânicos (12), açúcares ácidos (5), compostos fenólicos (8), compostos nitrogenados (6), orgânicos fosfatados (3), ciclitol (1), composto aromático (1).

A partir dos dados de porcentagem de enraizamento dos genótipos EC24 (72,5%), BRS (60%), EC26 (10%) e EC50(5%), na estação do outono (VIEIRA et al., 2021), cujos dois primeiros genótipos apresentaram porcentagens de enraizamento superiores, foi realizada análise de DA-PLS correlacionando os potenciais de enraizamento com os metabólitos detectados. Na análise de DA-PLS a soma dos fatores (funções) 1 e 2 explica 80% da variação do sistema, sendo que as amostras foram agrupadas em dois grupos considerando somente o fator 1 (65% de variância), com valores positivos para os clones com alto potencial de enraizamento, e valores negativos para clones de baixo potencial (Figura 4A). Os metabólitos (discriminantes) que apresentaram correlação >0,7 foram considerados importantes na construção do modelo e estão apresentados na Figura 4B e Tabela 4.

FIGURA 4 – (A) RESULTADOS DA ANÁLISE DE DA-PLS DOS PERFIS DE GC-MS DO EXTRATO METANÓLICOS DE MINIESTACAS DE *Ilex paraguariensis* INDICANDO O AGRUPAMENTO DE GENÓTIPOS COM DIFERENTES RESPOSTAS DE ENRAIZAMENTO; (B) CORRELAÇÃO DAS VARIÁVEIS (>70%, ENTRE OS CÍRCULOS) EM TERMOS DE CONTRIBUIÇÃO PARA AS RESPOSTAS OBSERVADAS NA FIGURA A.



Os números correspondem aos compostos presente na coluna ID da tabela 3; EC50= 5% de enraizamento; EC26= 10% de enraizamentos; BRS= 60% de enraizamento e EC24=72,5% de enraizamento.

Na Tabela 4 são apresentados 28 metabólitos, cujo agrupamento foi realizado com base na característica de porcentagem de enraizamento dos genótipos BRS, EC24, EC26 e EC50 (correlação > 0,7) (Tabela 4 e Figura 4B).

TABELA 4 – METABÓLITOS IDENTIFICADOS EM EXTRATO METANÓLICO DE MINIESTACAS DE *Ilex paraguariensis* NA ESTAÇÃO DO OUTONO (2019).

ID	COMPOSTO	CLASSE	GENÓTIPO/ ENRAIZAMENTO			
			EC24/ 72,5%	BRS*/ 60,0%	EC26/ 10,0 %	EC50/ 5,0%
			(µg g ⁻¹)			
35	Ribose	Açúcares	9,66 a	8,66 ab	5,00 bc	2,66 c
74	Sacarose	Açúcares	36528,98 a	9444,03 ab	6528,38 b	7480,44 b
59	Ácido galactárico	Açúcares ácidos	6,54 a	6,78 a	11,78 a	8,80 a
7	Valina	Aminoácidos	11,00 a	5,00 b	3,33 b	6,66 ab
10	Isoleucina	Aminoácidos	7,19 a	0,85 a	0,66 a	1,54 a
12	Glicina	Aminoácidos	10,66 a	6,33 b	10,66 a	7,00 b
16	Alanina	Aminoácidos	11,00 a	4,33 b	3,66 b	7,00 ab
17	Serina	Aminoácidos	235,80 a	58,54 b	29,86 b	112,33 ab
18	Treonina	Aminoácidos	43,88 a	5,61 b	8,67 b	9,72 ab
21	Ácido aspártico	Aminoácidos	394,53 a	126,63 b	47,49 b	82,85 b
24	Ácido 4-aminobutanóico	Aminoácidos	379,27 a	59,87 b	40,07 b	56,22 b
32	Ácido glutâmico	Aminoácidos	660,61 a	445,21 b	202,72 c	203,43 c
37	Asparagina	Aminoácidos	8,19 a	5,43 a	1,46 c	0,97 b
44	Glutamina	Aminoácidos	126,01 a	58,69 a	4,64 c	15,36 b
2	Ácido pirúvico	Ácidos orgânicos	10,66 a	6,33 b	2,00 c	7,00 b
3	Ácido láctico	Ácidos orgânicos	10,66 a	4,00 b	4,66 b	6,66 ab
4	Ácido glicólico	Ácidos orgânicos	10,66 a	6,33 ab	4,00 b	5,00 b
46	Ácido chiquímico	Ácidos orgânicos	66,89 a	38,18 a	65,66 a	23,08 a
50	Ácido quínico	Ácidos orgânicos	66801,29 a	11251,44 b	8124,53 b	9102,02 b
81	Ácido-3-cafeiolquínico (cis)	Compostos fenólicos	101,17 a	188,59 a	106,75 a	55,71 a
83	Ácido-5-cafeiolquínico (cis)	Compostos fenólicos	214,36 a	360,54 a	367,09 a	172,15 a
88	Quercetina	Compostos fenólicos	31,73 a	44,59 a	64,23 a	69,23 a
89	Ácido-5-cafeiolquínico (trans)	Compostos fenólicos	66790,71 a	18015,71 b	10996,28 b	15079,26 b
1	2 - hidroxipiridina	Composto nitrogendo	86,65 a	8,01 b	7,15 b	14,17 b
8	Etanolamina	Composto nitrogendo	11,00 a	5,66 b	2,00 c	7,33 b
67	Frutose-6-Fosfato	Orgânicos fosfatados	2,91 b	3,05 b	7,24 a	4,37 ab
69	Manose-6-Fosfato	Orgânicos fosfatados	5,94 a	4,79 a	9,97 a	6,96 a
6	Ácido Benzálico	Compostos aromáticos	10,33 a	7,00 ab	2,66 b	6,00 ab

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si. *: BRS BLD Aupaba.

Dentre os metabólitos correlacionados com os diferentes genótipos, predominam 11 aminoácidos, seguidos por cinco ácidos orgânicos, quatro compostos fenólicos, três açúcares, dois compostos orgânicos fosfatados, dois compostos nitrogenados e um composto aromático (Tabela 4).

5.4 DISCUSSÃO

De modo geral, os componentes químicos presentes nos extratos de erva-mate apresentaram uma grande variação na sua composição entre os genótipos estudados e diferentes estações de coleta do material. Houve interação significativa com a estação do ano, bem como diferentes respostas entre os genótipos. O genótipo EC21 apresentou os maiores teores de compostos fenólicos totais na primavera ($101,08 \text{ mg g}^{-1}$) e inverno ($95,16 \text{ mg g}^{-1}$), enquanto que os menores teores foram obtidos no verão ($91,4 \text{ mg g}^{-1}$). Por outro lado, para o genótipo EC26 ocorreu o inverso, com maiores valores encontrados no verão ($97,68 \text{ mg g}^{-1}$) e outono ($91,97 \text{ mg g}^{-1}$).

Resultados semelhantes em relação aos teores de compostos fenólicos totais observados no presente estudo foram obtidos por Duarte et al. (2020), os quais observaram que a tosta do mate resulta na diminuição dos teores de compostos fenólicos totais. Desta forma, a seleção de genótipos com maiores teores pode garantir uma maior concentração de fenólicos totais após o beneficiamento da erva-mate, ressaltando que no presente estudo a secagem das amostras de erva-mate foi realizada em micro-ondas.

Considerando que existe uma correlação negativa entre compostos fenólicos e índices de enraizamento de miniestacas (VIEIRA et al., 2021) e que pesquisas demonstram que alguns compostos fenólicos (especialmente monofenóis), podem ocasionar a inibição da indução radicial (SHANG et al., 2017), o comportamento do perfil fitoquímico durante as estações do ano pode ser uma importante ferramenta no estudo da propagação da espécie, de modo que, por exemplo, um determinado genótipo que produz menor conteúdo de compostos fenólicos em uma determinada época, poderá proporcionar melhores taxas de enraizamento. Assim sendo, os protocolos de propagação para o genótipo específico podem fazer parte de um planejamento da produção e manejo em uma época apropriada.

Da mesma forma, no manejo para a produção de massa verde e compostos de interesse, um genótipo específico poderá produzir mais ou menos compostos, conforme a época, podendo adequar-se à época apropriada para a colheita da matéria-prima conforme as características desejadas pela indústria. Tomasi (2020), observou que o genótipo de erva-mate EC22 [classificado como descafeinado (teor de cafeína de, no máximo, 0,1% de cafeína)], cultivado em sistema semi-hidropônico com diferentes doses de N, apresentou teores de cafeína variável conforme a época, sendo que no verão, o genótipo apresentou maiores valores de cafeína, sendo considerado cafeinado.

Para os antioxidantes expressos pelo radical ABTS, o maior valor observado foi pelo genótipo EC21 ($2109,09 \mu\text{mol g}^{-1}$), que por sua vez não diferiu significativamente entre os demais. Por outro lado, quando observadas as médias gerais entre os genótipos, verificou-se que o genótipo EC24 apresentou atividade antioxidante inferior aos demais ($1656,28 \mu\text{mol g}^{-1}$).

A atividade antioxidante expressa pelo radical DPPH variou de $425,63 \mu\text{mol g}^{-1}$ (EC24/inverno) a $997,76 \mu\text{mol g}^{-1}$ (EC21/primavera). Isso significa que embora estudos com erva-mate tenham mostrado que os teores de antioxidantes tenham baixa herdabilidade, estando associados em maior parte com o ambiente (CARDOZO JUNIOR et al., 2007), os genótipos de erva-mate apresentam diferentes exigências quanto aos fatores ambientais que influenciam na síntese de antioxidantes.

Em relação aos teores de proteínas totais, na primavera foram constatados os maiores teores ($126,35$ a $136,57 \text{ mg g}^{-1}$) em tecidos de miniestacas de erva-mate em todos os genótipos estudados. No inverno, por sua vez, foram verificados os menores teores ($88,01$ a $111,23 \text{ mg g}^{-1}$). É importante mencionar que as proteínas são compostos bioquímicos envolvidos no enraizamento, as quais atuam na divisão e diferenciação celular (HUSEN, 2008), bem como no controle da biossíntese de auxinas e outros processos fisiológicos, especialmente com função enzimática (SAIRANEN et al., 2012).

Apesar de não apresentar uma resposta semelhante para todos os genótipos avaliados, é importante mencionar que para o EC21 e EC24, os maiores índices de enraizamento foram obtidos na primavera, estação em que foram quantificados os maiores teores de proteínas ($126,35$ e $136,38 \text{ mg g}^{-1}$, respectivamente).

Para todos os genótipos, os teores de proteínas quantificados na primavera (12,6 a 13,7%) foram superiores aos relatados por Braghini et al. (2014), que obtiveram valor máximo de 11,83% avaliando a erva-mate comercial de cinco marcas de chimarrão.

Os teores de cafeína quantificados nas diferentes estações se mantiveram estáveis para os genótipos EC21 e EC24, com valores próximos, caracterizados por apresentarem teores de média cafeína (10 a 15 mg g⁻¹). Já o genótipo EC26, apresentou variações durante as estações, com teores de baixa (2 a 9,99 mg g⁻¹) a média cafeína (10 a 15 mg g⁻¹).

Os resultados do presente estudo diferiram dos obtidos por Duarte (2020), que avaliando os valores de cafeína e teobromina em folhas dos genótipos EC21 e EC24 (mesmos do presente estudo) em condições de cultivo a campo, observou variações de média a alta cafeína durante as estações. Desta forma, o sistema de cultivo e a aplicação de genótipos quanto a composição química são fatores importantes a serem considerados no cultivo de genótipos de erva-mate visando uma composição diferenciada.

Schubert et al. (2006) também observaram diferenças nos teores de metilxantinas em erva-mate e afirmam que o conteúdo total de tais compostos é maior na época do verão, reduzindo-se no inverno. De modo semelhante, Coelho, Athayde e Schenkel (2001) constataram maiores quantidades de cafeína (14,83 mg g⁻¹) e teobromina (3,50 mg g⁻¹) em amostras coletadas no verão quando comparadas às coletadas no início da primavera (4,94 mg g⁻¹ e 085 mg g⁻¹, respectivamente). Todavia, não é possível afirmar uma tendência semelhante no presente estudo, uma vez que houve diferentes respostas entre os genótipos.

Com relação à produção de massa verde, esta foi extremamente alta quando comparada com a produção a campo. O sistema de produção de erva-mate “Erva 20” desenvolvido pela Embrapa, indica a possibilidade de obtenção de uma produtividade de 20 t ha⁻¹ (em condições de campo), atingível em ervais comerciais bem manejados (com alto grau de adoção tecnológica) e com colheitas realizadas em um intervalo de 18 meses (PENTEADO JUNIOR; GOULART, 2019). Os resultados observados na presente pesquisa mostram que o genótipo EC21 possibilita a produção superior a 190 t ha⁻¹ em 24 meses, ou seja, considerando proporcionalmente os 18 meses, seriam 6,1 vezes a mais do que o proporcionado

pelo Erva20 (em condições de campo), sem contar que o sistema semi-hidropônico é possível organizar contínuas colheitas ao longo do ano.

Dos genótipos avaliados, todos apresentaram produtividade superior a 20 toneladas em sistema semi-hidropônico em apenas 12 meses, com exceção do EC50, que foi de 16,01 t. Quando comparado às produtividades máximas de erva-mate comercial (folhas e galhos finos, com diâmetro menor que 7 mm) em cultivo convencional, os estudos mostram produtividades que variam de 10,5 t ha⁻¹ ano⁻¹ (SANTIN et al., 2017) a 14,5 t ha⁻¹ ano⁻¹ (SANTIN et al., 2014).

Vários estudos tem sido realizados para avaliar a utilização do sistema semi-hidropônico para a produtividade de propágulos vegetativos (miniestacas) (WENDLING, DUTRA GROSSI, 2007; WENDLING, DUTRA, 2008; PIMENTEL et al., 2019). Todavia, a utilização desse sistema visando a produção de massa verde (folhas e ramos) para a indústria, tem sido pouco discutido, talvez principalmente pelo fato de exigir um maior custo inicial com estrutura e insumos, bem como o desconhecimento de genótipos que viabilizem este sistema. No entanto, com esse estudo, verificou-se que alguns genótipos apresentam alta capacidade de produção de massa verde, possibilitando um sistema com fornecimento de matéria prima constante durante o ano.

O genótipo EC21 foi superior aos demais em todas as estações, com diferenças de produtividade de até 5 vezes maior (9616 t ha⁻¹ ano⁻¹). Esta característica mostra que esse material apresenta uma produtividade excepcional e diferenciada, merecendo uma atenção especial para ser inserido como cultivar comercial.

Além da alta produtividade proporcionada pelo EC21, este genótipo também apresentou uma boa capacidade de enraizamento quando comparado aos demais (60%) (VIEIRA et al., 2021), característica de grande importância para a propagação vegetativa em grande escala.

Aguiar (2021), avaliou a produtividade de massa verde no mesmo sistema, verificou que o cultivo de erva-mate em sistema semi-hidropônico pode resultar em alta produtividade de massa comercial; no entanto, a autora obteve produtividade máxima de 36,91 t ha⁻¹ ano⁻¹ com o genótipo EC40, inferior à obtida pelos genótipos EC21 (96,16 t ha⁻¹ ano⁻¹), EC24 (67,07 t ha⁻¹ ano⁻¹), EC45 (43,05 t ha⁻¹ ano⁻¹) e EC48 (38,06 t ha⁻¹ ano⁻¹) no presente estudo.

Embora o sistema semi-hidropônico em estufa possa apresentar um alto investimento inicial quando comparado ao sistema de produção tradicional, fica evidente que a alta produtividade observada por alguns genótipos pode compensar. Sendo assim, este pode ser um sistema inovador e diferenciado para a produção de massa verde de erva-mate utilizando genótipos altamente produtivos.

É conveniente mencionar também a importância de se estudar a formulação de soluções nutritivas (WENDLIG; DUTRA, 2008) para cada genótipo visando a produtividade de massa verde, visto que os diferentes genótipos apresentam diferentes respostas e exigências. Além disso, a nutrição pode influenciar também na composição bioquímica das plantas (TOMASI, 2020).

Em relação aos metabólitos, embora a análise de DA-PLS (Figura 4) tenha possibilitado um agrupamento dos compostos com base nos resultados de enraizamento dos genótipos, a análise estatística (Tabela 4) de cada composto mostrou que apenas os aminoácidos Asparagina e Glutamina apresentaram diferença significativa entre os dois grupos de genótipos. Os genótipos EC24 (72,5% de enraizamento e 126,01 $\mu\text{g g}^{-1}$ de glutamina) e BRS (60% de enraizamento e 58,69 $\mu\text{g g}^{-1}$ de glutamina) apresentaram valores superiores ao EC26 (10% de enraizamento e 4,64 $\mu\text{g g}^{-1}$ de glutamina) e EC50 (5% de enraizamento e 15,36 $\mu\text{g g}^{-1}$ de glutamina). Resposta semelhante foi observado para a asparagina.

Glutamina e asparagina são associadas como compostos envolvidos no transporte de N na planta, sendo os principais produtos da assimilação do N, (KERBAUY,2004). Schwambach et al. (2015) avaliaram a aplicação de glutamina e asparagina como fontes de nitrogênio em um estudo com microestacas de *Eucalyptus globulus* e constataram que o uso de ácido glutâmico, glutamina ou asparagina promoveu maior número de raízes, porém de menor comprimento.

Considerando que a biossíntese de glutamina é a etapa chave da assimilação de nitrato nas plantas (JOY, 1988; TAIZ et al., 2017) e trata-se de uma fonte de nitrogênio inorgânico para a síntese de aminoácidos, a translocação basípeta de glutamina é um processo importante para atender à demanda das células durante a formação da raiz (AHKAMI et al., 2009).

Embora tais aminoácidos tenham importantes funções fisiológicas, os mesmos não são frequentemente associados diretamente ao enraizamento adventício, não havendo até então relatos desses componentes no enraizamento da erva-mate. Sendo assim, estudos mais específicos com esses compostos, bem

como a aplicação exógena de reguladores vegetais podem ser interessantes na busca de melhores índices de enraizamento para alguns genótipos.

Outro componente que merece ser mencionado é o açúcar sacarose, onde novamente o genótipo EC24 ($36528,98 \mu\text{g g}^{-1}$) apresentou resultado superior a EC26 ($6528,38 \mu\text{g g}^{-1}$) e EC50 ($7480,44 \mu\text{g g}^{-1}$). O genótipo BRS, entretanto, não diferiu dos demais, não apresentando uma resposta precisa que explique a influência direta desse composto sobre os índices de enraizamento. Todavia, sabe-se que durante a iniciação radicial ocorre a diferenciação celular, que por sua vez, envolve a divisão celular e o aumento do número de células, requerendo energia e moléculas de carbono, sendo a sacarose uma importante fonte de carbono (AHKAMI et al., 2009).

Estacas com altos teores de carboidratos geralmente resultam em melhores porcentagens de enraizamento, sendo que a presença de carboidratos influencia na resposta de enraizamento por serem fonte de carbono e de energia necessária para a atividade bioquímica (HARTMANN et al., 2011).

Quanto aos demais compostos, EC24 apresentou valores superiores para os compostos ácido 4-aminobutanóico ($379,27 \mu\text{g g}^{-1}$), ácido glutâmico (glutamato) ($660,61 \mu\text{g g}^{-1}$), ácido pirúvico ($10,66 \mu\text{g g}^{-1}$), ácido quínico ($66801,29 \mu\text{g g}^{-1}$), ácido-5-cafeiolquínico (trans) ($66790,71 \mu\text{g g}^{-1}$) e etanolamina ($11,00 \mu\text{g g}^{-1}$). Embora tenha apresentado maiores valores desses compostos, seus índices de enraizamento não diferiram de BRS, que por sua vez, não diferiu dos genótipos de baixo enraizamento em relação a esses compostos. Sendo assim, não é possível afirmar uma relação direta desses compostos com o enraizamento.

Todavia, é importante ressaltar que alguns compostos presentes em maiores quantidades possivelmente podem ter tido uma ação indireta com o enraizamento. Por exemplo, a maior presença de ácido-5-cafeiolquínico (trans), presente no genótipo EC24 ($66790,71 \mu\text{g g}^{-1}$), foi de até cinco vezes maior quando comparada aos demais, enquanto que os teores de ácido quínico ($66801,29 \mu\text{g g}^{-1}$), foram até sete vezes maiores. Sendo assim, destaca-se um possível benefício destes compostos no enraizamento adventício, recomendando-se estudos mais específicos com estes componentes.

Uma possível ação de tais compostos, pode ser a atuação destes na inibição da atividade de enzimas degradadoras de IAA. Conforme Shiozaki et al. (2013), os

ácidos clorogênicos, por exemplo, previnem a degradação das auxinas pelas peroxidases, auxiliando no enraizamento.

A maior presença de ácido pirúvico também foi observado no genótipo EC24 (10,66 $\mu\text{g g}^{-1}$). O ácido pirúvico está relacionado diretamente com o início do ciclo de Krebs (TAIZ et al., 2017), então certamente uma planta com maior atividade metabólica, pode gerar maiores quantidades de compostos, os quais participarão de importantes rotas metabólicas, resultando ao final, em melhores porcentagens de enraizamento como um todo.

O ácido glutâmico (glutamato), por sua vez, também encontrado em maior teor no EC24 (660,61 $\mu\text{g g}^{-1}$), desempenha papel semelhante ao da glutamina, no transporte de N na planta.

Além do potencial de enraizamento, é importante ressaltar a importância de estudos que avaliem o potencial alimentício da erva-mate com ênfase em seus compostos. Verificou-se, por exemplo, a presença de quatro aminoácidos essenciais nas amostras de erva-mate (valina, isoleucina, treonina e fenilalanina), trazendo um destaque em seu valor alimentício. A diferença de concentração dos aminoácidos nos diferentes genótipos de erva-mate também se mostrou uma característica importante na seleção de genótipos de interesse industrial e farmacêutico.

Cabe destacar também o potencial proteico encontrado na erva-mate (até 136,57 m g^{-1} nesse estudo). Conforme Borges et al. (2010), além do aspecto quantitativo de proteínas, deve-se levar em consideração o aspecto qualitativo, ou seja, o valor nutricional, que dependerá da composição, digestibilidade, biodisponibilidade de aminoácidos essenciais, ausência de toxicidade e de fatores antinutricionais.

Dada a importância de tais compostos para a alimentação, a seleção de genótipos com alta produtividade de massa verde em combinação com a qualidade dos compostos químicos pode ser uma excelente ferramenta para a aplicação comercial.

5.5 CONCLUSÕES

Os teores de proteínas e compostos fenólicos totais, bem como a atividade antioxidante via radical DPPH, de miniestacas de erva-mate, variam de acordo com o genótipo e a estação do ano.

Maiores porcentagens de enraizamento podem estar associadas com as maiores concentrações dos aminoácidos glutamina e asparagina.

Em cultivo semi-hidropônico, foi comprovado que há a possibilidade de obtenção de produtividade de massa foliar da ordem de 96,16 t ha⁻¹ ano⁻¹.

5.6 REFERÊNCIAS

AGUIAR N, S. **Níveis de sombreamento na produção de massa foliar e compostos bioativos em clones de erva-mate cultivados em sistema semi-hidropônico** 124 f. Dissertação (Mestrado em engenharia florestal) - Universidade Federal do Paraná, 2021.

AHKAMI, A. H.; LISCHESKI, S.; HAENSCH, K. T.; PORFIROVA, S.; HOFMANN, J.; ROLLETSCHEK, H.; HAJIREZAEI, M. R. Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings: involvement of wound response and primary metabolism. **New Phytologist**, v. 181, n. 3, p. 613-625, 2009.

BRACESCO, N.; SANCHEZ, A. G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 3, p. 378-384, 2011.

BORGES, J. T. D. S.; PIROZI, M. R.; COSTA, N. M. B.; VIDIGAL, J. G. Qualidade protéica de pão de sal contendo farinha de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) Protein quality of “french” bread containing flaxseed flour. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 1, p. 109-118, 2010.

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

CORRÊA, L. D. R.; PAIM, D. C.; SCHWAMBACH, J.; FETT-NETO, A. G. Carbohydrates as regulatory factors on the rooting of *Eucalyptus saligna* Smith and *Eucalyptus globulus* Labill. **Plant Growth Regulation**, v. 45, n. 1, p. 63–73, 2005.

COELHO, G. C.; ATHAYDE, M. L.; SCHENKEL, E. P. Methylxanthines of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. var. *vestita* Loes. and var. *paraguariensis*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 2, p. 153-158, 2001.

DUARTE, M. M. ***Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.: caracterização de morfotipos e genótipos para produção de compostos bioativos e propagação.** 149 f. Tese (Doutorado em engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2020.

DUARTE, M. M.; MIRESKI, M. C.; OLISZESKI, A.; WENDLING, I.; STUEPP, C. A. Rooting of yerba mate cuttings with different lengths. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**. v. 5, n. 1, p. 05-11, 2019.

ESBENSEN, K. H.; GUYOT, D.; WESTAD, F.; HOUMOLLER, L. P. **Multivariate data analysis: in practice: an introduction to multivariate data analysis and experimental design**. 5th ed. Camo Process AS: Oslo, Norway, 2002.

ESMELINDRO, Â. A.; DOS SANTOS GIRARDI, J.; MOSSI, A.; JACQUES, R. A.; DARIVA, C. Influence of agronomic variables on the composition of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*) extracts obtained from CO₂ extraction at 30°C and 175 bar. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 7, p. 1990–1995, 2004.

FIEHN, O.; KOPKA, J.; TRETHERWEY, R. N.; WILLMITZER, L. Identification of uncommon plant metabolites based on calculation of elemental compositions using gas chromatography and quadrupole mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 72, n.15, p. 3573-3580, 2000.

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

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation: principles and practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.

HECK, C. I.; MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, p.138–151, 2007.

HORNITSCHKE, P.; KOHNEN, M. V.; LORRAIN, S.; ROUGEMONT, J.; LJUNG, K.; LÓPEZ-VIDRIERO, I.; FANKHAUSER, C. Phytochrome interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. **Plant Journal**, v. 71, n. 5, p. 699–711, 2012.

HUMMEL, J.; STREHMEL, N.; SELBIG, J.; WALTHER, D.; KOPKA, J. Decision tree supported substructure prediction of metabolites from GC-MS profiles. **Metabolomics**, v. 6, n. 2, p. 322-333, 2010.

JOY, K. W. Ammonia, glutamine, and asparagine: a carbon–nitrogen interface. **Canadian Journal of Botany**, v. 66, n. 10, p. 2103-2109, 1988.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452 p.

KRATZ, D.; PIRES, P. P.; STUEPP, C. A.; WENDLING, I. Produção de mudas de erva-mate por miniestaquia em substratos renováveis. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 45, n. 3, p. 609-616, 2015.

MELO, T. O. de; MARQUES, F. A.; WENDLING, I.; KOPKA, J.; ERBAN, A.; HANSEL, F. A. **Compostos presentes em extrato metanólico de tecido foliar de erva-mate, por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas**. Colombo: Embrapa Florestas (Comunicado técnico, 458), 2020. 19 p.

PENTEADO JUNIOR, J. F.; GOULART, I. C. G. dos R. **Erva 20: sistema de produção de erva-mate**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 152 p.

PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; KIELSE, P.; RODRIGUES, M. B.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Ciência Florestal**, v. 29, p. 559-570, 2019.

REICHERT, C. L.; FRIEDRICH, J. C.; CASSOL, G. H.; PENSIN, C. F.; MITSUI, M. L.; DONADUZZI, C. M.; CARDOZO JUNIOR, E. L. Chemical stability and dissolution study of mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) extract and some formulations. **International Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 8, n. 1 p. 33-49, 2013.

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

SAIRANEN, I.; NOVÁK, O.; PĚNČÍK, A.; IKEDA, Y.; JONES, B.; SANDBERG, G.; LJUNG, K. Soluble Carbohydrates Regulate Auxin Biosynthesis via PIF Proteins in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 24, n. 12, p. 4907-4916, 2012.

SANTIN, D.; WENDLING, I.; BENEDETTI, E. L.; MORANDI, D.; DOMINGOS, D. M. Sobrevivência, crescimento e produtividade de plantas de erva-mate produzidas por miniestacas juvenis e por sementes. **Ciência Florestal**, v. 25, p. 571-579, 2015.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F.; FONTES, L. L.; ALMEIDA, I. C.; NEVES, J. C. L.; WENDLING, I. Manejo de colheita e adubação fosfatada na cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em fase de produção. **Ciência Florestal**, v. 27, p. 783-797, 2017.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F. D.; ALMEIDA, I. C. D.; LEAL, G. P.; FONTES, L.; REISSMANN, C. B. Effect of potassium fertilization on yield and nutrition of yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 5, p. 1469-1477, 2014.

SCHWAMBACH, J.; RUEDELL, C. M.; ALMEIDA, M. R.; FETT-NETO, A. G. Nitrogen sources and adventitious root development in *Eucalyptus globulus* micro-cuttings. **Journal of Plant Nutrition**, v. 38, n. 10, p. 1628-1638, 2015.

SCHUBERT, A.; ZANIN, F. F.; PEREIRA, D. F.; ATHAYDE, M. L. Variação anual de metilxantinas totais em amostras de *Ilex paraguariensis* A. St. - Hil. (erva-mate) em Ijuí e Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1233-1236, 2006.

SHANG, W.; WANG, Z.; HE, S.; HE, D.; LIU, Y.; FU, Z. Research on the relationship between phenolic acids and rooting of tree peony (*Paeonia suffruticosa*) plantlets in vitro. **Scientia Horticulturae**, v. 224, p. 53-60, 2017.

SORIN, C.; NEGRONI, L.; BALLIAU, T.; CORTI, H.; JACQUEMOT, M. P.; DAVANTURE, M.; BELLINI, C. Proteomic analysis of different mutant genotypes of

Arabidopsis Led to the Identification of 11 Proteins Correlating with adventitious root development. **Plant Physiology**, v. 140, n. 1, p. 349–364, 2006.

TAIZ L, ZEIGER E., MØLLER I. M., MURPHY A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6th ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TOMASI J, C. **Bioactive compounds of yerba mate according to genotype, nitrogen fertigation and drying methods and acceptance of mate tea by consumers**. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2020.

THOMAS, P.; LEE, M. M.; SCHIEFELBEIN, J. Molecular identification of proline-rich protein genes induced during root formation in grape (*Vitis vinifera* L.) stem cuttings. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, n. 9, p. 1497–1504, 2003.

VIEIRA, L. M.; MAGGIONI, R. A.; TOMASI, J. C.; GOMES, E. N.; WENDLING, I.; HELM, C. V.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Vegetative propagation, chemical composition and antioxidant activity of yerba mate genotypes. **Plant Genetic Resources**, v. 19, n. 2, 112-121, 2021.

WENDLING, I.; SANTIN, D. **Propagação e nutrição de erva-mate**. 1 Ed. Brasília: EMBRAPA, 2015. 195p.

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**, v.42, p. 289–292, 2007.

WOODWARD, A. W.; BARTEL, B. Auxin: Regulation, action, and interaction. **Annals of Botany**, v. 95, n. 5, p. 707–735, 2005.

YAN, S. P.; YANG, R. H.; WANG, F.; SUN, L. N.; SONG, X. S. Effect of auxins and associated metabolic changes on cuttings of hybrid aspen. **Forests**, v. 8, n. 4, 2017.

ZHANG, W.; FAN, J.; TAN, Q.; ZHAO, M.; ZHOU, T.; CAO, F. The effects of exogenous hormones on rooting process and the activities of key enzymes of *Malus hupehensis* stem cuttings. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–14, 2017.

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, (Circular Técnica 157), 5 p. 2008.

6 CONCLUSÕES GERAIS

Conforme os resultados do presente estudo, verificou-se que o enraizamento adventício e o perfil fitoquímico de miniestacas de erva-mate são dependentes do genótipo.

A retenção foliar é um fator relevante no enraizamento de miniestacas de erva-mate e os teores de compostos fenólicos totais, antioxidantes e teobromina presentes nas miniestacas são componentes negativos para o enraizamento adventício de *Ilex paraguariensis*.

O genótipo EC31 apresenta altos teores de compostos fenólicos totais, proteínas, cafeína e alta atividade antioxidante.

Genótipos como EC50, que apresenta altos teores de compostos fenólicos totais, proteínas e atividade antioxidante; e EC44, que possui alto conteúdo da teobromina, apresentam perfil químico interessante, no entanto têm um desempenho de enraizamento insatisfatório.

A necessidade de aplicação de IBA é uma variável dependente do genótipo e da estação do ano de coleta dos propágulos, sendo que outono é a estação com maior necessidade de aplicação de IBA para o enraizamento adventício.

A aplicação de IBA pode proporcionar maior número e comprimento de raízes/miniestaca para alguns genótipos de erva-mate;

A primavera foi a estação que proporcionou os maiores índices de enraizamento para o maior número de genótipos de erva-mate estudados;

O genótipo EC21 proporcionou maior produtividade de miniestacas/minicepa.

Os teores de proteínas e compostos fenólicos totais, bem como a atividade antioxidante via radical DPPH, de miniestacas de erva-mate, variam de acordo com o genótipo e a estação do ano.

Maiores porcentagens de enraizamento podem estar associadas com as maiores concentrações dos aminoácidos glutamina e asparagina.

Em cultivo semi-hidropônico, foi comprovado que há a possibilidade de obtenção de produtividade de massa foliar da ordem de 96,16 t ha⁻¹ ano⁻¹.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES FUTURAS

De modo geral, genótipos de erva-mate apresentam características específicas quanto a composição química, produtividade, propagação, necessidade de utilização de reguladores vegetais, sazonalidade, intervalo entre colheitas, dentre outros aspectos.

As diferenças encontradas entre genótipos, exigem estudos contínuos e específicos, visto que cada genótipo responde de maneira diferente aos estímulos proporcionados. Nesse sentido, o presente estudo contribuiu para um melhor entendimento da propagação vegetativa da erva-mate, bem como para compreender a possível relação de alguns compostos bioquímicos que podem influenciar direta e indiretamente na indução radicial.

Genótipos altamente produtivos e com características químicas diferenciadas podem resultar em produtos diferenciados de grande interesse para a indústria da erva-mate. Assim, o conhecimento das características de cada genótipo quanto a exigência nutricional, forma de cultivo, poda, propagação, dentre outros fatores, resultam em melhores respostas para a eficiência na multiplicação e cultivo da erva-mate.

Vários genótipos avaliados no presente estudo apresentaram baixo índice de enraizamento e alta mortalidade, o que implica em dificuldades na sua multiplicação a nível comercial. Tendo em vista que tais genótipos foram previamente selecionados a campo pelas suas características de interesse, existe a necessidade de novos estudos visando melhorar estas respostas. Visto isso, recomenda-se estudos avaliando maiores concentrações de IBA, diferentes padrões de miniestacas (diferentes tamanhos e número de folhas), substratos, ambiente de enraizamento, tempo de permanência, nutrição diferenciada das plantas matrizes (com boro e zinco por exemplo), dentre outros tratamentos.

O genótipo EC31, por exemplo, apresentou uma composição química interessante quando comparado aos demais, no entanto apresentou índice máximo de enraizamento em torno de 30%, e mortalidade de até 65%. Esse mesmo genótipo apresentou apenas 2,5% de enraizamento no verão. A partir destas informações recomenda-se estabelecer tratamentos e estratégias para diminuir a mortalidade e aumentar o enraizamento deste material.

A produção de massa verde em sistema semi-hidropônico se mostrou diferenciada e com resultados inéditos, na qual futuramente poderá vir a ser um sistema de cultivo visando a produção de matéria prima para indústria da erva-mate. Para isso recomendam-se novos estudos com: viabilidade econômica, tempo ideal para a colheita, avaliação de soluções nutritivas, bem como a aceitação industrial de produtos originados desse sistema.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2009. 500 p.
- ALTIMARI, R. A.; MORAES, A. C.; TIRAPEGUI, J.; MOREAU R. L. M. Cafeína e performance em exercícios anaeróbios. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 17-27, 2006.
- ASLMOSHTAGHI, E.; REZA-SHAHSAVAR, A. Endogenous soluble sugars, starch contents and phenolic compounds in easy and difficult to root olive cuttings. **Journal of Biological & Environmental Sciences**, v.4, n.11, p.83-86, 2010.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. **Fruit and Fruit Products**. 17th ed. Fruit and Fruit Products, Gaithersburg: AOAC, 2000. 32 p.
- ATHAYDE, M. L. **Saponinas e triterpenos em algumas espécies do gênero *Ilex***. Tese de Doutorado.(Pos-Graduação em Farmácia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, 1993.
- BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul: guia de identificação e interesse ecológico**.1. ed. Santa Cruz do Sul: Instituto Souza Cruz, 2002. 320p.
- BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I.; KOELER HS Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 277–281, 2009.
- BLUMBERG, J.; CAPPELLANO, K. Columns-Phytochemical Research at Tufts Nutrition-Nutraceuticals and Functional Foods. **Food Technology-Chicago**, v. 56, n. 3, p. 23-23, 2002.
- BRACESCO, N.; SANCHEZ, A. G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p 378–384, 2011.
- 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**, v. 8, n. 3, p. 257–267, 2007.
- BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; GROSSI, F.; DUTRA, L. F.; ARAUJO, M. A. Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* × *Eucalyptus dunnii*: (ii) sobrevivência e enraizamento de miniestacas em função das coletas e estações do ano. **Ciência Florestal**, v.20, n.3, p.453-465, 2010.
- CARDOZO JUNIOR, E. L.; DONADUZZI, C.; STURION, J.; CORREA, G. Variação no teor de cafeína em dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três municípios do Paraná. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 3., 2003, Chapecó. **Anais...** EPAGRI, Chapecó, p. 2-7. 2003.

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

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Vol. 1. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.

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

COSTA, C. T.; DE ALMEIDA, M. R.; RUEDELL, C. M.; SCHWAMBACH, J.; MARASCHIN, F. D. S.; FETT-NETO, A. G. When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 133, 2013.

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

DA CROCE, D. M. Cadeias produtivas do estado de Santa Catarina: erva-mate. Epagri, **Boletim Técnico- Epagri**, Florianópolis, SC, n. 112, 41p, 2000.

DANIEL, O. **Erva-mate: sistema de produção e processamento industrial**. 1. Ed. Dourados: UFGD, 2009, 288p.

DARTORA, N.; SOUZA, L. M.; PAIVA, S. M.; SCOPARO, C. T.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A.; RATTMANN, Y. D.; SASSAKI, G. L. Rhamnogalacturonan from *Ilex paraguariensis*: A potential adjuvant in sepsis treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p.1776-1782, 2013

DORIGON, E. B.; OLIVEIRA, A. C. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* st. Hil.). **Jornada Integrada em Biologia**, p. 75-82, 2016.

DUARTE, M. M. ***Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.: caracterização de morfotipos e genótipos para produção de compostos bioativos e propagação**. 149 f. Tese (Doutorado em engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2020a.

DUARTE, M. M.; GABIRA, M. M.; TOMASI, J. T; VIEIRA, L. M.; AGUIAR, N. S.; MAGGIONI, R. A.; WENDLING, I. Adubação nitrogenada na miniestaquia de erva-mate. **Advances in Forestry Science**, v. 7, n. 2, 981-988, 2020b.

DUARTE, M. M.; TOMASI, J. C.; HELM, C. V.; AMANO, E.; LAZZAROTTO, M.; GODOY, R. C. B.; WENDLING, I. Caffeinated and decaffeinated mate tea: effect of toasting on bioactive compounds and consumer acceptance. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 15, p. 1–10, 2020c.

DUKE, J.A. **Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants**. Boca Raton, Fla.: CRC Press. 1992.

ESMELINDRO, M. C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. D. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 193–204, 2002.

ETENG, M. U.; EYONG, U. E.; AKPANYUNG, E. O.; AGIANG, M. A.; AREMU, C. Y. Recent advances in caffeine and theobromine toxicities: a review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 51, n. 3, p. 231-243, 1997.

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

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

FILIP, R.; LÓPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, n. 7, p. 774-778, 2001.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) (2020). **Food and agriculture data**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em 16 de outubro de 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) (2021). **Food and agriculture data**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>> Acesso em 09 de setembro de 2021.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A. **Dormência em sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 27p.

FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Variação do desenvolvimento embrionário das sementes de erva-mate. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 54, n. 1, p. 105–108, 2007.

FREITAS, A. F. D.; PAIVA, H. N. D.; XAVIER, A.; NEVES, J. C. L. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de híbridos de *Eucalyptus globulus* Labill. em resposta a nitrogênio. **Ciência Florestal**, v. 27, p. 193-202, 2017.

GILBERT, G. C. *Ilex* en sudamerica: florística sistemática y potencialidades com relación a un banco de germoplasma para la yerba mate. In: WINGE, H.; FERREIRA, A.G.; MARIATH, J.E.A. **Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: UFRGS, 1995. p.303-312.

GIRARDI, J. S. **Avaliação da influência das condições de cultivo sobre os teores de compostos de interesse presentes nos extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) obtidos por CO₂ a altas pressões**. 125 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

GONZALEZ, A., FERREIRA, F., VAZQUEZ, A., MOYNA, P., PAZ, E. A. Biological screening of Uruguayan medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39, n. 3, p. 217-220, 1993.

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

GUERRA, R. O.; BERNARDO, G. C.; GUTIÉRREZ, C. V. Cafeína e esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 6, n. 2, p. 60-62, 2000.

HAISSIG, B. E. Carbohydrate and amino acid concentrations during adventitious root primordium development in *Pinus banksiana* Lamb. cuttings. **Forest Science**, v. 28, n. 4, p. 813-821, 1982.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation: principles and practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.

HECK, C. I.; MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, p.138–151, 2007.

HIGA, R. C. V. **Estaquia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): resultados preliminares**. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: EMBRAPA. Unidade Regional de Pesquisa Florestal Centro-Sul (Curitiba). Contribuição da URPFCS ao 4. Congresso Florestal Brasileiro. Curitiba: EMBRAPA-URPFCS, p. 43-47, 1982.

HUSEN, A.; PAL, M. Variation in shoot anatomy and rooting behaviour of stem cuttings in relation to age of donor plants in teak (*Tectona grandis* Linn. f.). **New Forests**, v. 31, n. 1, p. 57–73, 2006.

HUSEN, A. Clonal propagation of *Dalbergia sissoo* Roxb. and associated metabolic changes during adventitious root primordium development. **New Forests**, v. 36, n. 1, p. 13–27, 2008.

ISOLABELLA, S.; COGOI, L.; LÓPEZ, P.; ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. Estudo da variação de compostos bioativos durante o processamento da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Food Chemistry**, v. 122, 695–699, 2010.

JANICK, J. **A ciência da horticultura**. Rio de Janeiro: F. Bastos, 1966. 485 p.

KIBBLER, H.; JOHNSTON, M. E.; WILLIAMS, R. R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell: 2. Seasonal influences of temperature, rainfall, flowering and auxins on the stock plant. **Scientia Horticulturae**, v. 102, n. 3, p. 343–358, 2004

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452 p.

KOMISSAROVIC, D. A. **Biological basis for the propagation of woody plants by cuttings**. Jerusalem: Israel program for scientific translations, 1969. 250 p.

KRATZ, D.; PIRES, P. P.; STUEPP, C. A.; WENDLING, I. Produção de mudas de erva-mate por miniestaquia em substratos renováveis. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 45, n. 3, p. 609-616, 2015.

LATOH, L. P.; DALLAGRANA, J. F.; PORTES, D. C.; MAGGIONI, R. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Propagação vegetativa via miniestaquia caulinar seriada e produtividade de minijardim e de espécies de *Tibouchina* spp. **Revista Eletrônica Científica Da UERGS**, v. 4, n. 3, p. 343-357, 2018.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**, vol. 1. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

LI, S. W.; XUE, L.; XU, S.; FENG, H.; AN, L. Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. **Botanical Review**, v. 75, n. 2, p. 230–247, 2009.

MACCARI JÚNIOR, A.; QUEIROZ, M. R.; MACCARI, L. D. B. R.; RÜCKER, N. G. A.; Indústria ervateira no estado do Paraná II – Fornecimento de matéria-prima. **Revista Acadêmica**, v. 4, p 63-70, 2006.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, E. M.; ZARPELON, T. G.; SIQUEIRA, L. D. Crescimento de mudas e produtividade de minijardins clonais de Eucalipto tratados com rizobactérias selecionadas. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 843–851, 2005.

MARINHO, C. S.; MILHEM, L. M. A.; ALTOÉ, J. A.; BARROSO, D. G.; POMMER, C. V. Propagação da goiabeira por miniestaquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 607-611, 2009.

MAZUCHOWSKI, J. Z. **Manual da Erva-mate (*Ilex Paraguarienses* St. Hil.)**. Curitiba: EMATER-Paraná, 1991. 104 p.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; RÜCKER, N. G. A. Erva-mate - Prospecção **Tecnológica da Cadeia Produtiva**. Documento Executivo. Curitiba: Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. Departamento de Economia Rural, 27p, 1997.

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

MELLO, D. V. **Morfologia e germinação da semente de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.)**. Pelotas: UFPEL, 49p. 1980. Dissertação Mestrado - Universidade Federal de Pelotas, 1980.

MELO, T. O. de; MARQUES, F. A.; WENDLING, I.; KOPKA, J.; ERBAN, A.; HANSEL, F. A. **Compostos presentes em extrato metanólico de tecido foliar de erva-mate, por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas**. Colombo: Embrapa Florestas (Comunicado técnico, 458), 2020. 19 p.

MELO, T, O. **Metabólitos como ferramenta de seleção de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill.) para fins industriais**. 204 f. Tese (Doutorado em química), Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2018.

OHEM, N.; HÖLZL, J. Some new investigations on *Ilex paraguariensis*: flavonoids and triterpenes. **Planta Medica**, v. 54, n. 06, p. 576-576, 1988.

OLIVEIRA, Y. M. M.; ROTTA, E. **Área de distribuição natural de erva-mate**. In: Anais do Seminário sobre atualidades e perspectivas florestais: Silvicultura da Erva-mate, 1983, Curitiba. Curitiba: EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Florestas, (Documentos, n. 15). 1985. 145 p.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83p.

PACURAR, D. I.; PERRONE, I.; BELLINI, C. Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. **Physiologia Plantarum**, v. 151, n. 1, p. 83–96, 2014.

PAGLIOSA, C. M. **Caracterização química do resíduo de ervais e folhas" in natura" de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.)**. 146f. Tese (Pós-Graduação em Ciências de Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

PEER, W. A.; MURPHY, A. S. Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators?. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 12, p. 556–563, 2007.

PEER, W. A.; BLAKESLEE, J. J.; YANG, H.; MURPHY, A. S. Seven things we think we know about auxin transport. **Molecular Plant**, v. 4, n. 3, p. 487–504, 2011.

PIMENTEL, N. **Miniestaquia e qualidade de mudas de erva-mate**, 221 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais e Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016,

PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; PEDROSO, M. F.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Morphophysiological quality of yerba mate plantlets produced by mini-cuttings. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, p. 3515–3528, 2017.

PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; KIELSE, P.; RODRIGUES, M. B.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Ciência Florestal**, v. 29, p. 559-570, 2019.

PIRES, D. A. C. K; PEDRASSANI, D.; DALLABRIDA, V. R.; BENEDETTI, E. L. A erva-mate no planalto norte catarinense: os compostos bioativos como variável na determinação das especificidades necessárias ao reconhecimento como indicação geográfica. **Desenvolvimento Regional em Debate**, v. 6, n. 2, p. 207-227, 2016.

RAVEN, P. H.; EVERT R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 876p.

ROCHA JÚNIOR, W. F. **Análise do agronegócio da erva-mate com o enfoque da nova economia institucional e o uso da matriz estrutural prospectiva**. 133f. Tese (Doutorado Engenharia de Produção) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2001.

ROSSA, U. B. **Produtividade e compostos foliares de erva-mate sob efeitos de luminosidade e fertilização**, 208 f. Tese. (Doutorado Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

RUIZ, H. Z.; HELM, C. V. **Avaliação dos teores de cafeína, teobromina e compostos fenólicos totais em um programa de melhoramento genético de erva-mate**. In: Embrapa Florestas-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 14., 2015, Colombo. **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas, 2015.

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

SAIRANEN, I.; NOVÁK, O.; PĚNČÍK, A.; IKEDA, Y.; JONES, B.; SANDBERG, G.; LJUNG, K. Soluble Carbohydrates Regulate Auxin Biosynthesis via PIF Proteins in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 24, n. 12, p. 4907–4916, 2012.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F. de; ALMEIDA, I. C. de; et al. Intervalos de colheita e adubação potássica influenciam a produtividade da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no Estado do Paraná. **Floresta**, v. 46, n. 4, p. 509–518, 2017a.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F. de; FONTES, L. L.; et al. Manejo de colheita e adubação fosfatada na cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em fase de produção. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 3, p. 783–797, 2017b.

SANTIN, D.; WENDLING, I.; BENEDETTI, E. L.; MORANDI, D.; DOMINGOS, D. M. Sobrevivência, crescimento e produtividade de plantas de erva-mate produzidas por miniestacas juvenis e por sementes. **Ciência Florestal**, v. 25, p. 571-579, 2015.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F. D.; ALMEIDA, I. C. D.; SIMIQUELI, G. F.; NEVES, J. C. L.; REISSMANN, C. B. Adubação nitrogenada e intervalos de colheita na produtividade e nutrição da erva-mate e em frações de carbono e nitrogênio do solo. **Ciência Florestal**, v. 29, n. 3, p. 1199-1214, 2019.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F. D.; ALMEIDA, I. C. D.; LEAL, G. P.; FONTES, L.; REISSMANN, C. B. Effect of potassium fertilization on yield and nutrition of yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 5, p. 1469–1477, 2014.

SHIOZAKI, S.; MAKIBUCHI, M.; OGATA, T. Indole-3-Acetic Acid, Polyamines, and Phenols in Hardwood Cuttings of Recalcitrant-to-Root Wild Grapes Native to East Asia: *Vitis davidii* and *Vitis kiusiana*. **Journal of Botany**, p. 1–9, 2013.

SOUZA, E. R.; LENK, F. L.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Conteúdo de carboidratos em estacas de videira do porta-enxerto cv. IAC 572. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v. 8, n. 2, p. 7–15, 2015.

SOUZA R.; OLDONI T. L. C.; CABRAL, I. S. R.; ALENCAR, S. M. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de chás comercializados no Brasil. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 29, p. 229–236, 2011.

SORIN, C.; NEGRONI, L.; BALLIAU, T.; CORTI, H.; JACQUEMOT, M. P.; DAVANTURE, M.; BELLINI, C. Proteomic analysis of different mutant genotypes of *Arabidopsis* Led to the Identification of 11 Proteins Correlating with adventitious root development. **Plant Physiology**, v. 140, n. 1, p. 349–364, 2006.

STUEPP, C. A.; BITENCOURT, J.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Age of stock plants, seasons and IBA effect on vegetative, propagation of *Ilex paraguariensis*. **Revista Árvore**, v. 41, n. 2, 2017.

STURION, J. A. **Programa de melhoramento genético da erva-mate conduzido pela Embrapa Florestas: situação atual e perspectivas futuras**. Colombo: Embrapa Florestas-Documentos (INFOTECA-E), 2009.

STURION, J. A.; RESENDE, M. D. V. Programa de melhoramento genético da erva-mate no Centro Nacional de Pesquisa de Florestas da Embrapa. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIAO TECNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. **Anais...** Colombo: EMBRAPA-CNPF, 1997. p. 285-298., 1997.

STURION, J. A.; RESENDE, M. D. V. Melhoramento genético da erva-mate. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: WORKSHOP SOBRE MELHORAMENTO DE ESPÉCIES FLORESTAIS E PALMÁCEAS NO BRASIL, 2001, Curitiba. **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas, p. 51-60., 2001.

TAIZ L.; ZEIGER E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre-RS: Artmed, 5. ed. 2013. 918 p.

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. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 1992. p. 626-640.

TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Dinâmica do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 26, n. 6, p. 665-673, 2002.

TOMASI J, C. **Bioactive compounds of yerba mate according to genotype, nitrogen fertigation and drying methods and acceptance of mate tea by consumers**. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2020.

TOMASI, J. C.; LIMA, G. G.; WENDLING, I.; HELM, C. V.; HANSEL, F. A.; GODOY, R. C. B.; DESCHAMPS, C. Effects of different drying methods on the chemical, nutritional and colour of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) leaves. **International Journal of Food Engineering**, 2021.

VALDUGA, A. T.; GONÇALVES, I. L.; MAGRI, E.; FINZER, J. R. D. Chemistry, pharmacology and new trends in traditional functional and medicinal beverages. **Food Research International**, v. 120, p. 478-503, 2019.

WANG, L.; RUAN, Y. Regulation of cell division and expansion by sugar and auxin signaling. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1–9, 2013.

WENDLING, I. Melhoramento de erva-mate: perspectivas. In Embrapa Florestas- Artigo em anais de congresso (ALICE). In: SEMINÁRIO ERVA-MATE XXI: Modernização no cultivo e diversificação do uso da erva-mate, 2016, Curitiba. **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas, 2016.

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Ambiente inicial e composição de substratos no enraizamento miniestacas juvenis de *Ilex paraguariensis* St. Hil. In: Congreso Sudamericano de la Yerba Mate. 4. Reunión Técnica de la Yerba Mate. 4. Feria de Agronegocios de la Yerba Mate. 2006. **Anais...** Posadas, Misiones. AR. 2006.

WENDLING, I.; SANTIN, D. **Propagação e nutrição de erva-mate**. 1 Ed. Brasília: EMBRAPA, 2015. 195p.

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**, v.42, p. 289–292, 2007.

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, (Circular Técnica 157), 5 p. 2008.

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

WENDLING, I.; FERRARI, M. P.; DUTRA, L. F. **Produção de mudas de corticeira-do-banhado por miniestaquia a partir de propágulos juvenis**. Colombo: Embrapa Florestas (Documento n. 130), 2005. 5p.

WENDLING, I.; SANTAROSA, E.; PENTEADO JUNIOR, J.; AUER, C.; PENTEADO, S.; QUEIROZ, D. L.; SANTOS, A. F. **Manual de produção de mudas clonais de erva-mate**. Colombo: Embrapa Florestas, 2020. 47 p.

WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. Viçosa. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal), Universidade Federal de Viçosa, 1999.

WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry-Part I: Concepts, regulation and consequences of phase change. **New Forests**, v. 45, n. 4, p. 449–471, 2014.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2013. 279 p.

ZHANG, W.; FAN, J.; TAN, Q.; ZHAO, M.; ZHOU, T.; CAO, F. The effects of exogenous hormones on rooting process and the activities of key enzymes of *Malus hupehensis* stem cuttings. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–14, 2017a.

ZHANG, W.; FAN, J.; TAN, Q.; ZHAO, M.; CAO, F. Mechanisms underlying the regulation of root formation in *Malus hupehensis* stem cuttings by using exogenous hormones. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 36, n. 1, p. 174–185, 2017b.

ZANON, A. **Produção de sementes de erva-mate**. Colombo: Embrapa-CNPQ (Circular Técnica n. 16), 1988.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba: [K. C. Zuffellato-Ribas], 2001, 39p.

REFERÊNCIAS GERAIS

- AGUIAR N, S. **Níveis de sombreamento na produção de massa foliar e compostos bioativos em clones de erva-mate cultivados em sistema semi-hidropônico** 124 f. Dissertação (Mestrado em engenharia florestal) - Universidade Federal do Paraná, 2021.
- AHKAMI, A. H.; LISCHEWSKI, S.; HAENSCH, K. T.; PORFIROVA, S.; HOFMANN, J.; ROLLETSCHEK, H.; HAJIREZAEI, M. R. Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings: involvement of wound response and primary metabolism. **New Phytologist**, v. 181, n. 3, p. 613-625, 2009.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2009. 500 p.
- ALTIMARI, R. A.; MORAES, A. C.; TIRAPEGUI, J.; MOREAU R. L. M. Cafeína e performance em exercícios anaeróbios. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 17-27, 2006.
- ASLMOSHTAGHI, E.; REZA-SHAHSAVAR, A. Endogenous soluble sugars, starch contents and phenolic compounds in easy and difficult to root olive cuttings. **Journal of Biological & Environmental Sciences**, v.4, n.11, p.83-86, 2010.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. **Fruit and Fruit Products**. 17th ed. Fruit and Fruit Products, Gaithersburg: AOAC, 2000. 32 p.
- AOAC. Official Methods of analysis. **The Association of Official Analytical Chemists International**, v. 38, n. 8, p. 431, 2016.
- ATHAYDE, M. L. **Saponinas e triterpenos em algumas espécies do gênero *Ilex***. Tese de Doutorado.(Pos-Graduação em Farmácia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, 1993.
- BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul: guia de identificação e interesse ecológico**.1. ed. Santa Cruz do Sul: Instituto Souza Cruz, 2002. 320p.
- BARBOSA, J. Z.; MOTTA, A. C. V.; CONSALTER, R.; POGGERE, G. C.; SANTIN, D.; WENDLING, I. Plant growth.; nutrients and potentially toxic elements in leaves of yerba mate clones in response to phosphorus in acid soils. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 557–571, 2018.
- BASTOS, D. H. M.; FORNARI, A. C.; QUEIROZ, Y. S.; TORRES, E. A. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 399–404, 2006.
- BELNIAKI, A. C.; RABEL, L. A. D. N.; GOMES, E. N.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Does the presence of leaves on coleus stem cuttings influence their rooting? **Ornamental Horticulture**, v. 24, p. 206–210, 2018.

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

BLUMBERG, J.; CAPPELLANO, K. Columns-Phytochemical Research at Tufts Nutrition-Nutraceuticals and Functional Foods. **Food Technology-Chicago**, v. 56, n. 3, p. 23-23, 2002.

BLUM-SILVA, C. H.; CHAVES, V. C.; SCHENKEL, E. P.; COELHO, G. C.; REGINATTO, F. H. The influence of leaf age on methylxanthines, total phenolic content.; and free radical scavenging capacity of *Ilex paraguariensis* aqueous extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 1–6, 2015.

BORGES, J. T. D. S.; PIROZI, M. R.; COSTA, N. M. B.; VIDIGAL, J. G. Qualidade protéica de pão de sal contendo farinha de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) Protein quality of “french” bread containing flaxseed flour. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 1, p. 109-118, 2010.

BRACESCO, N.; SANCHEZ, A. G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p 378–384, 2011.

BRAGHINI, F.; CARLI, C. G.; BONSAGLIA, B.; JUNIOR, J. F. D. S. S.; OLIVEIRA, D. F.; TRAMUJAS, J.; TONIAL, I. B. Composição físico-química de erva-mate.; antes e após simulação do chimarrão. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 20, p. 7–15. 2014.

BRANCO, S. C.; SCOLA, G.; RODRIGUES, A. D.; CESIO, V.; LAPROVITERA, M.; HEINZEN, H. Anticonvulsant, neuroprotective and behavioral effects of organic and conventional yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) on pentylenetetrazol-induced seizures in Wistar rats. **Brain Research Bulletin**, v. 92, p. 60–68, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E .; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRAVO, L.; MATEOS, R.; SARRIÁ, B.; BAEZA, G.; LECUMBERRI, E.; RAMOS, S.; GOYA, L. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats. **Fitoterapia**, v. 92, p. 219–229, 2014.

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**, v. 8, n. 3, p. 257–267, 2007.

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; GROSSI, F.; DUTRA, L. F.; ARAUJO, M. A. Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* × *Eucalyptus dunnii*: (ii) sobrevivência e enraizamento de miniestacas em função das coletas e estações do ano. **Ciência Florestal**, v.20, n.3, p.453-465, 2010.

CARDOZO JUNIOR, E. L.; DONADUZZI, C.; STURION, J.; CORREA, G. Variação no teor de cafeína em dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três municípios do Paraná. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 3., 2003, Chapecó. **Anais...** EPAGRI, Chapecó, p. 2-7. 2003.

CARDOZO JUNIOR, E. L.; FERRARESE-FILHO, O.; FILHO, L. C.; FERRARESE, M. L. L.; DONADUZZI, C. M.; STURION, J. A. Methylxanthines and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 553–558, 2007.

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

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Vol. 1. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.
CASAGRANDE JUNIOR, J. G.; BIANCHI, V. J.; STRELOW, E. Z.; BACARIN, M. A.; FACHINELLO, J. C. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 34, p. 2219–2223, 1999.

CHAVES, N.; SANTIAGO, A.; ALÍAS, J. C. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 76, 2020.

CHIESA, L.; SCHLABITZ, C.; SOUZA, C. F. V. Efeito da adição de erva-mate nas características sensoriais e físico-químicas de barras de cereais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 71, p. 105–110, 2012.

COELHO, G. C.; ATHAYDE, M. L.; SCHENKEL, E. P. Methylxanthines of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. var. *vestita* Loes. and var. *paraguariensis*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 2, p. 153-158, 2001.

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

CORRÊA, L. D. R.; PAIM, D. C.; SCHWAMBACH, J.; FETT-NETO, A. G. Carbohydrates as regulatory factors on the rooting of *Eucalyptus saligna* Smith and *Eucalyptus globulus* Labill. **Plant Growth Regulation**, v. 45, n. 1, p. 63–73, 2005.

COSTA, C. T.; DE ALMEIDA, M. R.; RUEDELL, C. M.; SCHWAMBACH, J.; MARASCHIN, F. D. S.; FETT-NETO, A. G. When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 133, 2013.

CROGE, C. P.; CUQUEL, F. L.; PINTRO, P. T. M. Yerba mate: cultivation systems, processing and chemical composition. A review. **Scientia Agricola**, v. 78, p. 1–11, 2020.

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 Agrícola**, v. 51, n. 3, p. 415-421, 1994.

DA CROCE, D. M. Cadeias produtivas do estado de Santa Catarina: erva-mate. Epagri, **Boletim Técnico- Epagri**, Florianópolis, SC, n. 112, 41p, 2000.

DANIEL, O. **Erva-mate: sistema de produção e processamento industrial**. 1. Ed. Dourados: UFGD, 2009, 288p.

DARTORA, N.; SOUZA, L. M.; PAIVA, S. M.; SCOPARO, C. T.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A.; RATTMANN, Y. D.; SASSAKI, G. L. Rhamnogalacturonan from *Ilex paraguariensis*: A potential adjuvant in sepsis treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p.1776-1782, 2013

DORIGON, E. B.; OLIVEIRA, A. C. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* st. Hil.). **Jornada Integrada em Biologia**, p. 75-82, 2016.

DUARTE, M. M. ***Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.: caracterização de morfotipos e genótipos para produção de compostos bioativos e propagação**. 149 f. Tese (Doutorado em engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2020a.

DUARTE, M. M.; GABIRA, M. M.; TOMASI, J. T; VIEIRA, L. M.; AGUIAR, N. S.; MAGGIONI, R. A.; WENDLING, I. Adubação nitrogenada na miniestaquia de erva-mate. **Advances in Forestry Science**, v. 7, n. 2, 981-988, 2020b.

DUARTE, M. M.; MIRESKI, M. C.; OLISZESKI, A.; WENDLING, I.; STUEPP, C. A. Rooting of yerba mate cuttings with different lengths. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**. v. 5, n. 1, p. 05-11, 2019.

DUARTE, M. M.; TOMASI, J. C.; HELM, C. V.; AMANO, E.; LAZZAROTTO, M.; GODOY, R. C. B.; WENDLING, I. Caffeinated and decaffeinated mate tea: effect of toasting on bioactive compounds and consumer acceptance. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 15, p. 1–10, 2020c.

DUKE, J.A. **Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants**. Boca Raton, Fla.: CRC Press. 1992.

ESMELINDRO, M. C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. D. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 193–204, 2002.

ESBENSEN, K. H.; GUYOT, D.; WESTAD, F.; HOUMOLLER, L. P. **Multivariate data analysis: in practice: an introduction to multivariate data analysis and experimental design**. 5th ed. Camo Process AS: Oslo, Norway, 2002.

ESMELINDRO, Â. A.; DOS SANTOS GIRARDI, J.; MOSSI, A.; JACQUES, R. A.; DARIVA, C. Influence of agronomic variables on the composition of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*) extracts obtained from CO₂ extraction at 30°C and 175 bar. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 7, p. 1990–1995, 2004.

ETENG, M. U.; EYONG, U. E.; AKPANYUNG, E. O.; AGIANG, M. A.; AREMU, C. Y. Recent advances in caffeine and theobromine toxicities: a review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 51, n. 3, p. 231-243, 1997.

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

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

FIEHN, O.; KOPKA, J.; TRETHERWEY, R. N.; WILLMITZER, L. Identification of uncommon plant metabolites based on calculation of elemental compositions using gas chromatography and quadrupole mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v 72, n.15, p. 3573-3580, 2000.

FILIP, R.; LÓPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, n. 7, p. 774-778, 2001.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) (2020). **Food and agriculture data**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em 16 de outubro de 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) (2021). **Food and agriculture data**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>> Acesso em 09 de setembro de 2021.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A. **Dormência em sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 27p.

FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Variação do desenvolvimento embrionário das sementes de erva-mate. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 54, n. 1, p. 105–108, 2007.

FREITAS, A. F. D.; PAIVA, H. N. D.; XAVIER, A.; NEVES, J. C. L. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de híbridos de *Eucalyptus globulus* Labill. em resposta a nitrogênio. **Ciência Florestal**, v. 27, p. 193-202, 2017.

GILBERT, G. C. *Ilex* en sudamerica: florística sistemática y potencialidades com relación a un banco de germoplasma para la yerba mate. In: WINGE, H.; FERREIRA, A.G.; MARIATH, J.E.A. **Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: UFRGS, 1995. p.303-312.

GIRARDI, J. S. **Avaliação da influência das condições de cultivo sobre os teores de compostos de interesse presentes nos extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) obtidos por CO₂ a altas pressões**. 125 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

GOMES, E. N.; MACHADO, M. P.; MIOLA, J.; DESCHAMPS, C. Leaf area and intermittent misting on hop plants propagation by stem cuttings. **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, v. 12, p. 508–513, 2018.

GONZALEZ, A., FERREIRA, F., VAZQUEZ, A., MOYNA, P., PAZ, E. A. Biological screening of Uruguayan medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39, n. 3, p. 217-220, 1993.

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

GUERRA, R. O.; BERNARDO, G. C.; GUTIÉRREZ, C. V. Cafeína e esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 6, n. 2, p. 60-62, 2000.

HAISSIG, B. E. Carbohydrate and amino acid concentrations during adventitious root primordium development in *Pinus banksiana* Lamb. cuttings. **Forest Science**, v. 28, n. 4, p. 813-821, 1982.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation: principles and practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, 2011. 915 p.

HECK, C. I.; MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, p.138–151, 2007.

HIGA, R. C. V. **Estaquia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): resultados preliminares**. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: EMBRAPA. Unidade Regional de Pesquisa Florestal Centro-Sul (Curitiba). Contribuição da URPFCs ao 4. Congresso Florestal Brasileiro. Curitiba: EMBRAPA-URPFCS, p. 43-47, 1982.

HORNITSCHKE, P.; KOHNEN, M. V.; LORRAIN, S.; ROUGEMONT, J.; LJUNG, K.; LÓPEZ-VIDRIERO, I.; FANKHAUSER, C. Phytochrome interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. **Plant Journal**, v. 71, n. 5, p. 699–711, 2012.

HUMMEL, J.; STREHMEL, N.; SELBIG, J.; WALTHER, D.; KOPKA, J. Decision tree supported substructure prediction of metabolites from GC-MS profiles. **Metabolomics**, v. 6, n. 2, p. 322-333, 2010.

HUSEN, A.; PAL, M. Variation in shoot anatomy and rooting behaviour of stem cuttings in relation to age of donor plants in teak (*Tectona grandis* Linn. f.). **New Forests**, v. 31, n. 1, p. 57–73, 2006.

HUSEN, A. Clonal propagation of *Dalbergia sissoo* Roxb. and associated metabolic changes during adventitious root primordium development. **New Forests**, v. 36, n. 1, p. 13–27, 2008.

ISOLABELLA, S.; COGOI, L.; LÓPEZ, P.; ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. Estudo da variação de compostos bioativos durante o processamento da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Food Chemistry**, v. 122, 695–699, 2010.

JANICK, J. **A ciência da horticultura**. Rio de Janeiro: F. Bastos, 1966. 485 p.

JOY, K. W. Ammonia, glutamine, and asparagine: a carbon–nitrogen interface. **Canadian Journal of Botany**, v. 66, n. 10, p. 2103-2109, 1988.

KIBBLER, H.; JOHNSTON, M. E.; WILLIAMS, R. R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell: 2. Seasonal influences of temperature, rainfall, flowering and auxins on the stock plant. **Scientia Horticulturae**, v. 102, n. 3, p. 343–358, 2004

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452 p.

KOMISSAROVIC, D. A. **Biological basis for the propagation of woody plants by cuttings**. Jerusalem: Israel program for scientific translations, 1969. 250 p.

KRATZ, D.; PIRES, P. P.; STUEPP, C. A.; WENDLING, I. Produção de mudas de erva-mate por miniestaquia em substratos renováveis. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 45, n. 3, p. 609-616, 2015.

LATOH, L. P.; DALLAGRANA, J. F.; PORTES, D. C.; MAGGIONI, R. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Propagação vegetativa via miniestaquia caulinar seriada e produtividade de minijardim e de espécies de *Tibouchina* spp. **Revista Eletrônica Científica Da UERGS**, v. 4, n. 3, p. 343-357, 2018.

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

LI, S. W.; XUE, L.; XU, S.; FENG, H.; AN, L. Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. **Botanical Review**, v. 75, n. 2, p. 230–247, 2009.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**, vol. 1. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MACCARI JÚNIOR, A.; QUEIROZ, M. R.; MACCARI, L. D. B. R.; RÜCKER, N. G. A.; Indústria ervateira no estado do Paraná II – Fornecimento de matéria-prima. **Revista Acadêmica**, v. 4, p 63-70, 2006.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, E. M.; ZARPELON, T. G.; SIQUEIRA, L. D. Crescimento de mudas e produtividade de minijardins clonais de Eucalipto tratados com rizobactérias selecionadas. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 843–851, 2005.

MAREČEK, V.; MIKYŠKA, A.; HAMPEL, D.; ČEJKA, P.; NEUWIRTHOVÁ, J.; MALACHOVÁ, A.; CERKAL, R. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. **Journal of Cereal Science**, v. 73, p. 40-45, 2017.

MARINHO, C. S.; MILHEM, L. M. A.; ALTOÉ, J. A.; BARROSO, D. G.; POMMER, C. V. Propagação da goiabeira por miniestaquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 607-611, 2009.

MARTIN, J. G. P.; PORTO, E.; ALENCAR, S. M.; GLÓRIA, E. M.; CORRÊA, C. B.; CABRAL, I. S. R. Atividade antimicrobiana de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) contra patógenos alime. **Revista Argentina de Microbiologia**. v. 45, n. 2, p. 93-98, 2013.

MAYER, L.; NIENOW, A. A.; TRES, L. Cutting propagation of 'Cambona 4' yerba mate clones. **Comunicata Scientiae**, v. 11, p. 3287-3287, 2020.

MAZUCHOWSKI, J. Z. **Manual da Erva-mate (*Ilex Paraguarienses* St. Hil.)**. Curitiba: EMATER-Paraná, 1991. 104 p.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; RÜCKER, N. G. A. Erva-mate - Prospecção **Tecnológica da Cadeia Produtiva**. Documento Executivo. Curitiba: Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. Departamento de Economia Rural, 27p, 1997.

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

MELLO, D. V. **Morfologia e germinação da semente de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.)**. Pelotas: UFPEL, 49p. 1980. Dissertação Mestrado - Universidade Federal de Pelotas, 1980.

MELO, T. O. de; MARQUES, F. A.; WENDLING, I.; KOPKA, J.; ERBAN, A.; HANSEL, F. A. **Compostos presentes em extrato metanólico de tecido foliar de erva-mate, por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas**. Colombo: Embrapa Florestas (Comunicado técnico, 458), 2020. 19 p.

MELO, T. O. **Metabólitos como ferramenta de seleção de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill.) para fins industriais**. 204 f. Tese (Doutorado em química), Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2018.

MUSACCHI, S. Aspetti biochimici della disaffinità d'innesto. **Rivista di Frutticoltura e di Ortofloricoltura**, v. 56, n. 3, p. 73-79, 1994.

NAVROSKI, M. C.; NICOLETTI, M. F.; LOVATEL Q. C.; PEREIRA M. O.; TONETT, E. L.; MAZZO, M. V.; MENEGUZZI, A.; FELIPPE, D. Efeito do volume do tubete e doses de fertilizantes no crescimento inicial de mudas de *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Agrarian**, v. 9, n. 31, p. 26-33, 2016.

OHEM, N.; HÖLZL, J. Some new investigations on *Ilex paraguariensis*: flavonoids and triterpenes. **Planta Medica**, v. 54, n. 06, p. 576-576, 1988.

OLIVEIRA, Y. M. M.; ROTTA, E. **Área de distribuição natural de erva-mate**. In: Anais do Seminário sobre atualidades e perspectivas florestais: Silvicultura da Erva-mate, 1983, Curitiba. Curitiba: EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Florestas, (Documentos, n. 15). 1985. 145 p.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83p.

PACURAR, D. I.; PERRONE, I.; BELLINI, C. Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. **Physiologia Plantarum**, v. 151, n. 1, p. 83–96, 2014.

PAGLIOSA, C. M. **Caracterização química do resíduo de ervais e folhas" in natura" de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.)**. 146f. Tese (Pós-Graduação em Ciências de Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

PEER, W. A.; MURPHY, A. S. Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators?. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 12, p. 556–563, 2007.

PEER, W. A.; BLAKESLEE, J. J.; YANG, H.; MURPHY, A. S. Seven things we think we know about auxin transport. **Molecular Plant**, v. 4, n. 3, p. 487–504, 2011.

PENTEADO JUNIOR, J. F.; GOULART, I. C. G. dos R. **Erva 20: sistema de produção de erva-mate**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 152 p.

PIMENTEL, N. **Miniestaquia e qualidade de mudas de erva-mate**, 221 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais e Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016,

PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; PEDROSO, M. F.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Morphophysiological quality of yerba mate plantlets produced by mini-cuttings. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, p. 3515–3528, 2017.

PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; KIELSE, P.; RODRIGUES, M. B.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Ciência Florestal**, v. 29, p. 559-570, 2019.

PIMENTEL, N.; LENCINA, K. H.; KIELSE, P.; RODRIGUES, M. B.; SOMAVILLA, T. M.; BISOGNIN, D. A. Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Ciência Florestal**, v. 29, p. 559-570, 2019.

PIMENTEL, N.; PEDROSO, M. F.; LENCINA, K. H.; OLIVEIRA, J. M. S. D.; BISOGNIN, D. A. Anatomical characterization of the adventitious roots of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) mini-cuttings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, 2020.

PIRES, D. A. C. K.; PEDRASSANI, D.; DALLABRIDA, V. R.; BENEDETTI, E. L. A erva-mate no planalto norte catarinense: os compostos bioativos como variável na determinação das especificidades necessárias ao reconhecimento como indicação geográfica. **Desenvolvimento Regional em Debate**, v. 6, n. 2, p. 207-227, 2016.

RAVEN, P. H.; EVERT R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 876p.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

REICHERT, C. L.; FRIEDRICH, J. C.; CASSOL, G. H.; PENSIN, C. F.; MITSUI, M. L.; DONADUZZI, C. M.; CARDOZO JUNIOR, E. L. Chemical stability and dissolution study of mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) extract and some formulations. **International Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 8, n. 1 p. 33–49, 2013.

ROCHA JÚNIOR, W. F. **Análise do agronegócio da erva-mate com o enfoque da nova economia institucional e o uso da matriz estrutural prospectiva**. 133f. Tese (Doutorado Engenharia de Produção) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2001.

ROSSA, U. B. **Produtividade e compostos foliares de erva-mate sob efeitos de luminosidade e fertilização**, 208 f. Tese. (Doutorado Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

RUIZ, H. Z.; HELM, C. V. **Avaliação dos teores de cafeína, teobromina e compostos fenólicos totais em um programa de melhoramento genético de erva-mate**. In: Embrapa Florestas-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 14., 2015, Colombo. **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas, 2015.

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

SAIRANEN, I.; NOVÁK, O.; PĚNČÍK, A.; IKEDA, Y.; JONES, B.; SANDBERG, G.; LJUNG, K. Soluble Carbohydrates Regulate Auxin Biosynthesis via PIF Proteins in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 24, n. 12, p. 4907–4916, 2012.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F. de; ALMEIDA, I. C. de; et al. Intervalos de colheita e adubação potássica influenciam a produtividade da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no Estado do Paraná. **Floresta**, v. 46, n. 4, p. 509–518, 2017a.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F. de; FONTES, L. L.; et al. Manejo de colheita e adubação fosfatada na cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em fase de produção. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 3, p. 783–797, 2017b.

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

SANTIN, D.; WENDLING, I.; BENEDETTI, E. L.; MORANDI, D.; DOMINGOS, D. M. Sobrevivência, crescimento e produtividade de plantas de erva-mate produzidas por miniestacas juvenis e por sementes. **Ciência Florestal**, v. 25, p. 571-579, 2015.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F. D.; ALMEIDA, I. C. D.; SIMIQUELI, G. F.; NEVES, J. C. L.; REISSMANN, C. B. Adubação nitrogenada e intervalos de colheita na produtividade e nutrição da erva-mate e em frações de carbono e nitrogênio do solo. **Ciência Florestal**, v. 29, n. 3, p. 1199-1214, 2019.

SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BARROS, N. F. D.; ALMEIDA, I. C. D.; LEAL, G. P.; FONTES, L.; REISSMANN, C. B. Effect of potassium fertilization on yield and nutrition of yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 5, p. 1469–1477, 2014.

SCHWAMBACH, J.; RUEDELL, C. M.; ALMEIDA, M. R.; FETT-NETO, A. G. Nitrogen sources and adventitious root development in *Eucalyptus globulus* micro-cuttings. **Journal of Plant Nutrition**, v. 38, n. 10, p. 1628-1638, 2015.

SCHUBERT, A.; ZANIN, F. F.; PEREIRA, D. F.; ATHAYDE, M. L. Variação anual de metilxantinas totais em amostras de *Ilex paraguariensis* A. St. - Hil. (erva-mate) em Ijuí e Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1233-1236, 2006.

SHANG, W.; WANG, Z.; HE, S.; HE, D.; LIU, Y.; FU, Z. Research on the relationship between phenolic acids and rooting of tree peony (*Paeonia suffruticosa*) plantlets in vitro. **Scientia Horticulturae**, v. 224, p. 53–60, 2017.

SHIOZAKI, S.; MAKIBUCHI, M.; OGATA, T. Indole-3-Acetic Acid, Polyamines, and Phenols in Hardwood Cuttings of Recalcitrant-to-Root Wild Grapes Native to East Asia: *Vitis davidii* and *Vitis kiusiana*. **Journal of Botany**, p. 1–9, 2013.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOUZA, E. R.; LENK, F. L.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Conteúdo de carboidratos em estacas de videira do porta-enxerto cv. IAC 572. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v. 8, n. 2, p. 7–15, 2015.

SOUZA R.; OLDONI T. L. C.; CABRAL, I. S. R.; ALENCAR, S. M. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de chás comercializados no Brasil. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 29, p. 229–236, 2011.

SORIN, C.; NEGRONI, L.; BALLIAU, T.; CORTI, H.; JACQUEMOT, M. P.; DAVANTURE, M.; BELLINI, C. Proteomic analysis of different mutant genotypes of *Arabidopsis* Led to the Identification of 11 Proteins Correlating with adventitious root development. **Plant Physiology**, v. 140, n. 1, p. 349–364, 2006.

STUEPP, C. A.; BITENCOURT, J.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Age of stock plants, seasons and IBA effect on vegetative, propagation of *Ilex paraguariensis*. **Revista Árvore**, v. 41, n. 2, 2017.

STURION, J. A. **Programa de melhoramento genético da erva-mate conduzido pela Embrapa Florestas: situação atual e perspectivas futuras.** Colombo: Embrapa Florestas-Documents (INFOTECA-E), 2009.

STURION, J. A.; RESENDE, M. D. V. Programa de melhoramento genético da erva-mate no Centro Nacional de Pesquisa de Florestas da Embrapa. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIAO TECNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. **Anais...** Colombo: EMBRAPA-CNPF, 1997. p. 285-298., 1997.

STURION, J. A.; RESENDE, M. D. V. Melhoramento genético da erva-mate. In: Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: WORKSHOP SOBRE MELHORAMENTO DE ESPÉCIES FLORESTAIS E PALMÁCEAS NO BRASIL, 2001, Curitiba. **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas, p. 51-60., 2001.

STURION, J. A.; STUEPP, C. A.; WENDLING, I. Genetic parameters estimates and visual selection for leaves production in *Ilex paraguariensis*. **Bragantia**, v. 76, n. 4, p. 492-500, 2017.

TAIZ L.; ZEIGER E. **Fisiologia vegetal.** Porto Alegre-RS: Artmed, 5. ed. 2013. 918 p.

TAMURA, A.; SASAKI, M.; YAMASHITA, H.; MATSUI-YUASA, I.; SAKU, T.; HIKIMA, T.; TABUCHI, M.; MUNAKATA, H.; KOJIMA-YUASA, A. Yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) extract prevents ethanol-induced liver injury in rats. **Journal of Functional Foods**. v. 5, n. 4, p. 1714-1723, 2013.

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**, v. 103, n. 4, p. 479-488, 2005.

TARRAGÓ J.; FILIP R.; MROGINSKI L AND SANSBERRO P. Influence of the irradiance on phenols content and rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings collected from adult plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, n. 6, p. 2419-2424, 2012.

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. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 1992. p. 626-640.

TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Dinâmica do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 26, n. 6, p. 665-673, 2002.

TOMASI J, C. **Bioactive compounds of yerba mate according to genotype, nitrogen fertigation and drying methods and acceptance of mate tea by consumers.** 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2020.

TOMASI, J. C.; LIMA, G. G.; WENDLING, I.; HELM, C. V.; HANSEL, F. A.; GODOY, R. C. B.; DESCHAMPS, C. Effects of different drying methods on the chemical, nutritional and colour of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) leaves. **International Journal of Food Engineering**, 2021.

THOMAS, P.; LEE, M. M.; SCHIEFELBEIN, J. Molecular identification of proline-rich protein genes induced during root formation in grape (*Vitis vinifera* L.) stem cuttings. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, n. 9, p. 1497–1504, 2003.

TSAKALDIMI, M.; GANATSAS, P.; JACOBS, D. F. Prediction of planted seedling survival of five Mediterranean species based on initial seedling morphology. **New Forests**, v. 44, n. 3, p. 327-339, 2013.

VALDUGA, A. T.; GONÇALVES, I. L.; MAGRI, E.; FINZER, J. R. D. Chemistry, pharmacology and new trends in traditional functional and medicinal beverages. **Food Research International**, v. 120, p. 478-503, 2019.

VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, n. 4, p. 105-113, 2015.

VIEIRA, L. M.; MAGGIONI, R. A.; TOMASI, J. C.; GOMES, E. N.; WENDLING, I.; HELM, C. V.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Vegetative propagation, chemical composition and antioxidant activity of yerba mate genotypes. **Plant Genetic Resources**, v. 19, n. 2, 112-121, 2021.

WANG, L.; RUAN, Y. Regulation of cell division and expansion by sugar and auxin signaling. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1–9, 2013.

WENDLING, I. Melhoramento de erva-mate: perspectivas. In Embrapa Florestas- Artigo em anais de congresso (ALICE). In: SEMINÁRIO ERVA-MATE XXI: Modernização no cultivo e diversificação do uso da erva-mate, 2016, Curitiba. **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas, 2016.

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Ambiente inicial e composição de substratos no enraizamento miniestacas juvenis de *Ilex paraguariensis* St. Hil. In: Congreso Sudamericano de la Yerba Mate. 4. Reunión Técnica de la Yerba Mate. 4. Feria de Agronegocios de la Yerba Mate. 2006. **Anais...** Posadas, Misiones. AR. 2006.

WENDLING, I.; SANTIN, D. **Propagação e nutrição de erva-mate**. 1 Ed. Brasília: EMBRAPA, 2015. 195p.

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

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**, v.42, p. 289–292, 2007.

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, (Circular Técnica 157), 5 p. 2008.

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

WENDLING, I.; FERRARI, M. P.; DUTRA, L. F. **Produção de mudas de corticeira-do-banhado por miniestaquia a partir de propágulos juvenis**. Colombo: Embrapa Florestas (Documento n. 130), 2005. 5p.

WENDLING, I.; SANTAROSA, E.; PENTEADO JUNIOR, J.; AUER, C.; PENTEADO, S.; QUEIROZ, D. L.; SANTOS, A. F. **Manual de produção de mudas clonais de erva-mate**. Colombo: Embrapa Florestas, 2020. 47 p.

WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. Viçosa. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal), Universidade Federal de Viçosa, 1999.

WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry-Part I: Concepts, regulation and consequences of phase change. **New Forests**, v. 45, n. 4, p. 449–471, 2014.

WOODWARD, A. W.; BARTEL, B. Auxin: Regulation, action, and interaction. **Annals of Botany**, v. 95, n. 5, p. 707–735, 2005.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2013. 279 p.

YAN, S. P.; YANG, R. H.; WANG, F.; SUN, L. N.; SONG, X. S. Effect of auxins and associated metabolic changes on cuttings of hybrid aspen. **Forests**, v. 8, n. 4, 2017.

YIM, H. S.; CHYE, F. Y.; RAO, V.; LOW, J. Y.; MATANJUN, P.; HOW, S. E.; HO, C. W. Optimization of extraction time and temperature on antioxidant activity of *Schizophyllum commune* aqueous extract using response surface methodology. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 275-283, 2013.

ZHANG, W.; FAN, J.; TAN, Q.; ZHAO, M.; ZHOU, T.; CAO, F. The effects of exogenous hormones on rooting process and the activities of key enzymes of *Malus hupehensis* stem cuttings. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–14, 2017a.

ZHANG, W.; FAN, J.; TAN, Q.; ZHAO, M.; CAO, F. Mechanisms underlying the regulation of root formation in *Malus hupehensis* stem cuttings by using exogenous hormones. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 36, n. 1, p. 174–185, 2017b.

ZANON, A. **Produção de sementes de erva-mate**. Colombo: Embrapa-CNPQ (Circular Técnica n. 16), 1988.

ZHAO, H.; FAN, W.; DONG, J.; LU, J.; CHEN, J.; SHAN, L.; KONG, W. Evaluation of antioxidant activities and total phenolic contents of typical malting barley varieties. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 296-304, 2008.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba: [K. C. Zuffellato-Ribas], 2001, 39p.

ANEXOS

ANEXO 1. RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM RAÍZES (R), NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES POR MINIESTACA (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES POR MINIESTACA (CMR), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM CALOS E SEM RAÍZES (C), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS COM CALOS E RAÍZES (CR), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS VIVAS (V), PORCENTAGEM DE MINIESTACAS MORTAS (M) E PORCENTAGEM DE RETENÇÃO FOLIAR (RF) DE 15 GENÓTIPOS (GEN.) DE *Ilex Paraguariensis* APÓS 120 DIAS EM CASA DE VEGETAÇÃO (2019).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio							
		R	NR	CMR	C	CR	V	M	RF
Genótipo (GEN)	14	1994,52**	21,69*	5,92**	1185,71**	849,52**	0,12**	0,23**	2460,24**
CV (%)		52,13	81,29	69,28	54,01	90,65	15,81	14,35	31,01

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); CV: coeficiente de variação.

ANEXO 2. RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TP), CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (MÉTODOS ABTS E DPPH) E TEORES DE PROTEÍNAS, CAFEÍNA E TEOBROMINA EM MINIESTACAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis*.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio					
		TP	ABTS	DPPH	PROTEÍNA	CAFEÍNA	TEOBROMINA
Genótipo (GEN)	14	382,15**	325477,24*	24827,41**	749,20**	61,03**	5,32**
CV (%)		4,75	19,79	10,85	2,05	2,75	5,40

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); CV: coeficiente de variação.

ANEXO 3. RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TP), ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (RADICAIS ABTS E DPPH) E PROTEÍNAS DE MINIESTACAS DE TRÊS GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis* NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		TP	ABTS	DPPH	PROTEÍNA
Estação (EST)	14	0,16**	391984,22 ^{ns}	99699,88**	1405,01**
Genótipo (GEN)	14	0,45**	268892,87**	95838,86**	354,52**
EST * GEN	14	0,11**	70001,33 ^{ns}	58694,71**	70,06**
CV (%)		8,24	9,72	8,54	2,70

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ns: não significativo ($p \geq .05$); CV: coeficiente de variação.

ANEXO 4. RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA TEORES DE CAFEÍNA, TEOBROMINA E ÁCIDOS CAFEÓILQUÍNICOS (3-CQA, 4-CQA e 5-CQA) EM MINIESTACAS DE TRÊS GENÓTIPOS DE *Ilex paraguariensis* NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO (2019).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio				
		CAFEÍNA	TEOBROMINA	3-CQA	4-CQA	5-CQA
Estação (EST)	14	10,70**	0,49**	0,01**	59,17**	179,49**
Genótipo (GEN)	14	2,19*	0,29**	0,09**	119,10**	1072,69**
EST * GEN	14	5,76**	0,02**	0,02**	14,69**	132,86**
CV (%)		6,17	3,93	1,51	5,61	6,31

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$); * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < .05$); ns: não significativo ($p \geq .05$); CV: coeficiente de variação.