

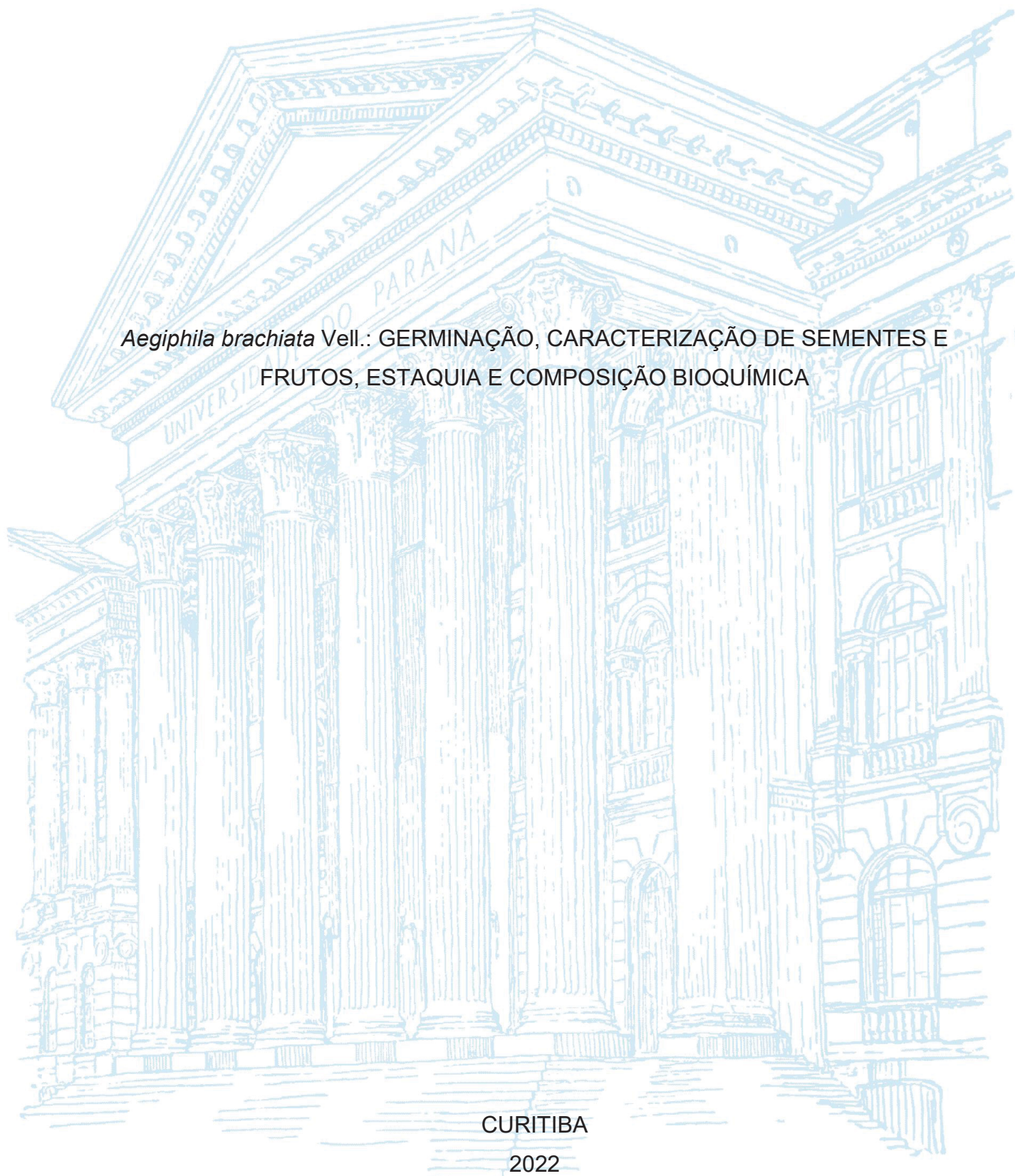
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RENATA DE ALMEIDA MAGGIONI

Aegiphila brachiata Vell.: GERMINAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES E FRUTOS, ESTAQUIA E COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA

CURITIBA

2022



RENATA DE ALMEIDA MAGGIONI

Aegiphila brachiata Vell.: GERMINAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES E
FRUTOS, ESTAQUIA E COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA

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 parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas

Coorientador: Dr. Antonio Aparecido Carpanezi

Coorientadora: Dra. Cristiane Vieira Helm

Coorientador: Prof. Dr. Bruno Francisco

Sant'Anna dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Henrique Soares Koehler

CURITIBA

2022

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

Maggioni, Renata de Almeida

Aegiphila brachiata Vell.: germinação, caracterização de sementes e frutos, estaquia e composição bioquímica. / Renata de Almeida Maggioni. – 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. Antonio Aparecido Carpanezi.

Coorientadora: Dra. Cristiane Vieira Helm.

Coorientador: Prof. Dr. Bruno Francisco Sant'Anna dos Santos.

Coorientador: Prof. Dr. Henrique Soares Koehler.

1. Árvores - Dormencia. 2. Árvores - mudas. 3. Propagação vegetativa. I. Zuffellato-Ribas, Katia Christina. II. Carpanezi, Antonio Aparecido. III. Helm, Cristiane Vieira. IV. Santos, Bruno Francisco Sant'Anna dos. V. Koehler, Henrique Soares. VI. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação Agronomia (Produção Vegetal). VII. Título.

Bibliotecário: Douglas Alex Jankoski CRB-9/1167

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 **RENATA DE ALMEIDA MAGGIONI** intitulada: ***Aegiphila brachiata* Vell.: GERMINAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES E FRUTOS, ESTAQUIA E COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA**, sob orientação da Profa. Dra. KATIA CHRISTINA ZUFFELLATO-RIBAS, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutora 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, 30 de Maio de 2022.

Assinatura Eletrônica

30/05/2022 16:28:42.0

KATIA CHRISTINA ZUFFELLATO-RIBAS

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

02/06/2022 11:47:57.0

ANTONIO APARECIDO CARPANEZZI

Avaliador Externo (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA
AGROPECUÁRIA)

Assinatura Eletrônica

03/06/2022 11:56:53.0

HENRIQUE SOARES KOEHLER

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

01/06/2022 08:35:12.0

CRISTIANE VIEIRA HELM

Avaliador Externo (EMBRAPA FLORESTAS)

Assinatura Eletrônica

30/05/2022 11:51:47.0

BRUNO FRANCISCO SANT'ANNA DOS SANTOS

Coorientador(a)

Dedico
a todas as mulheres cientistas do Brasil.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todo caminho iluminado, pelas portas abertas e pelas pessoas que tive a oportunidade de conhecer e conviver.

Ao meu companheiro Emilio Romanini Netto, por ter ficado ao meu lado em toda essa jornada acadêmica, me apoiando, incentivando e fortalecendo. Obrigada por me inspirar todos os dias, por fazer a vida ser mais leve e prazerosa, por todo amor, carinho e companheirismo. Eu te amo e amo dividir a vida com você.

Ao meu filho Caíque Maggioni Romanini, que nasceu no meio disso tudo e me trouxe inspiração e força para seguir em frente. Tudo tem mais sentido com você. Te amo muito, filho!

Ao meu pai Roberto Amadeu Maggioni e ao meu padrinho Pedro Paulo Dezinho que, em vida, foram a razão de eu chegar até aqui. Em todos os meus passos, em cada atitude, sempre carregarei um pouco de vocês.

À minha madrinha Elena Maria Maggioni, por ser minha rede de apoio desde que me mudei para Curitiba, por me acolher como filha, me incentivar e sempre torcer pelo meu sucesso. Te amo!!

Aos meu primos Simone Maggioni Dezinho e Bruno Dezinho, meus irmãos de coração e alma, pelo acolhimento, amparo, confiança e pelos tantos aprendizados de vida. Sem vocês tudo seria muito mais difícil.

À minha orientadora Katia Christina Zuffellato-Ribas, por tornar o trabalho gratificante e prazeroso, por ser fonte de inspiração e admiração diária, por ser exemplar em tudo que faz, por esses nove anos de parceria e amizade, por ter se tornado FAMÍLIA. Eu te amo e espero levar tudo que aprendi contigo por toda minha caminhada profissional.

À pesquisadora Dra. Cristiane Vieira Helm, por todos ensinamentos, auxílios e incentivos durante a realização desse trabalho. Por ser carinhosa, atenciosa e paciente em tudo que faz.

Ao pesquisador Dr. Antonio Aparecido Carpanezzi que, assim como esse trabalho, apareceu como um presente em minha vida. Obrigada por ter me ensinado tanto, por ser gentil, solícito e paciente. Sinto-me honrada por ter trabalhado contigo.

Aos professores Dr. Henrique Soares Koehler e Bruno Francisco Sant'Anna dos Santos, por todas contribuições, atenção, paciência e amizade.

A todos os integrantes do Grupo de Estudo e Pesquisa em Estaquia (GEPE) da Universidade Federal do Paraná, pela convivência, amizade e parceria na realização dos trabalhos. Em especial aos meus queridos e inseparáveis amigos Leandro Marcolino Vieira e Sofia Foladori Invernizzi, por estarem sempre de prontidão e boa vontade para me ajudar com os experimentos, tornando a minha caminhada muito mais leve e divertida. Não sei o que seria de mim sem vocês.

Às minhas amigas Francielen Paola de Sá, Jéssica Tomasi, Juliana de Oliveira Amatussi, Natália Aguiar Saudade, Manoela Mendes Duarte e Mônica Moreno Gabira, pelos auxílios nos experimentos, pelos inúmeros aprendizados acadêmicos e de vida, pela amizade, diversão e por todo carinho que sempre tiveram comigo e com o meu filho.

À Fabrícia Lorrane Rodrigues Oliveira, por toda disponibilidade em me ajudar e por fazer isso com atenção, paciência e carinho, sempre.

Às técnicas da Embrapa Florestas, Dayanne Andrade, Tiélidy de Lima e Simone Sopchaki, por todo auxílio e acompanhamento nas análises laboratoriais. Por transmitirem conhecimento de forma atenciosa, amorosa e divertida. Muito obrigada por toda paciência e carinho comigo. E ao Fabrício Hansel, por me auxiliar com a análise metabólica com atenção, humildade e paciência.

Aos funcionários do Núcleo de Ecologia Florestal da Embrapa Florestas, Sr. Wilson Maschio, Irineu Antonio Olinisky, Paulino Graff, Jonatas Gueller e Carlos Amilcar de Carvalho Silva, por todo auxílio nas coletas de campo e instalação dos experimentos. Pelos aprendizados e pelas risadas.

Aos funcionários do Laboratório de Propagação da Embrapa Florestas, Décio, Vero, Joel e Nide, por toda ajuda e acolhimento, pelos cafés, churrascos e risadas. E em especial, ao pesquisador Dr. Ivar Wendling, por todos ensinamentos e trabalhos realizados.

À secretária da Pós-graduação Lucimara Antunes, por sempre me ajudar de forma atenciosa e prestativa.

Ao Laboratório de Sementes Florestais da UFPR, em especial ao professor Dr. Antonio Carlos Nogueira e à professora Dra. Dagma Kratz, por toda infraestrutura disponibilizada para realização dos meus trabalhos, pelos ensinamentos e acompanhamento. E à Manoela Mendes Duarte, pelo auxílio e apoio no trabalho com sementes, do começo ao fim.

À Universidade Federal do Paraná, que foi minha casa por esses longos anos de graduação e pós-graduação. Por me formar como profissional e como pessoa e me proporcionar experiências únicas. Por acolher à mim e ao meu filho no Hospital de Clínicas (HC - UFPR) no final do meu pré-natal e parto. Tenho muito orgulho em fazer parte dessa instituição renomada e pública, que deu oportunidade à filha de borracheiro de se tornar doutora.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela oportunidade de realizar o mestrado e doutorado. Por todos excelentes profissionais que tive o privilégio de conhecer e aprender.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por ter financiado essa pesquisa e ter tornado esse sonho possível.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Florestas, por todo apoio técnico, insumos e infraestrutura para realização dessa pesquisa.

Enfim, a todos que de alguma forma acreditaram, torceram e me ajudaram a chegar até aqui e, por ventura, não foram mencionados, de coração, MUITO OBRIGADA!

“A planta não é burra!”

(Katia Christina Zuffellato-Ribas)

“A natureza, com seus caprichos e mistérios, condensa em pequenas coisas o poder de dirigir as grandes, nas sutis a potência de dominar as mais grosseiras, nas coisas simples a capacidade de reger as complexas”

(Ana Maria Primavesi)

RESUMO

Aegiphila brachiata (Lamiaceae) é uma espécie florestal nativa do Brasil, popularmente conhecida como peloteiro; possui uma elevada capacidade de produção de biomassa e resistência a perturbações ambientais, sendo considerada potencial para uso em ecossistemas degradados. Ainda há uma enorme carência de informações referentes ao peloteiro. Pesquisas que visem identificar o processo de produção de mudas de espécies florestais nativas e suas limitações são primordiais e dão suporte aos programas de restauração em larga escala. Nesse contexto, a presente tese teve como objetivos fornecer subsídios para a produção de mudas seminal e vegetativa de *A. brachiata*, buscando identificar os principais fatores que influenciam a germinação e o enraizamento adventício. Para tanto, o trabalho foi dividido em três capítulos. O primeiro abordou o potencial germinativo de sementes do peloteiro submetidas a escarificação e diferentes concentrações de giberelina, bem como a propagação vegetativa por estaquia a partir de materiais com diferentes idades fisiológicas, submetidos a tratamentos com *Azospirillum brasilense* e ácido indol butírico. Os resultados indicaram ausência de germinação por existir uma barreira mecânica no endocarpo à emissão da radícula. A estaquia por meio de plantas rejuvenescidas é recomendada para produção de mudas (53,75% de enraizamento), sendo necessária aplicação de 6000 mg L⁻¹ IBA. O segundo capítulo analisou a morfobiometria de fruto, semente e plântula e o efeito de diferentes métodos de superação de dormência mecânica e temperaturas na germinação de *A. brachiata*. Os frutos são do tipo carnoso indeiscente, com cálice persistente. O pirênio é constituído pelo endocarpo e a semente, exalbuminosa, com embrião axial. A germinação é hipógea e a plântula criptocotiledonar. A retirada total do endocarpo e temperaturas de 25 e 30°C são recomendadas para a germinação da espécie (28,50% de germinação). Por fim, o terceiro capítulo visou avaliar o potencial rizogênico de estacas oriundas de matrizes rejuvenescidas e adultas coletadas em diferentes estações do ano, além de identificar compostos fenólicos, proteínas e metabólitos polares presentes nas estacas e caracterizar anatomicamente a base caulinar das mesmas. Concluiu-se que propágulos oriundos de matrizes rejuvenescidas coletados na primavera são indicados para produção de mudas (25,25% de enraizamento), sem efeito favorável do uso de ácido indol butírico. Os maiores valores de compostos fenólicos foram obtidos na primavera, tanto para estacas de matrizes rejuvenescidas (37,39 mg g⁻¹) como de matrizes adultas (25,81 mg g⁻¹). O teor de proteínas foi obtido em maior quantidade em estacas coletadas no outono de matrizes rejuvenescidas (146,74 mg g⁻¹). Os compostos ácido maleico, 2-hidroxi-ácido glutárico, manose-6-fosfato, ácido ribônico, glicina e ácido fosfórico foram obtidos em maiores concentrações em estacas de matrizes rejuvenescidas, com efeito benéfico ao enraizamento adventício. Não há diferenças anatômicas entre os propágulos coletados de diferentes matrizes.

Palavras-chave: Produção de mudas. Dormência mecânica. Propagação vegetativa. Peloteiro. Metabólitos secundários.

ABSTRACT

Aegiphila brachiata (Lamiaceae) is a forest species native to Brazil, popularly known as peloteiro; it has a high capacity for biomass production and resistance to environmental disturbances, being considered potential for use in degraded ecosystems. There is still a huge lack of information regarding the peloteiro. Research aimed at identifying the seedling production process of native forest species and its limitations are essential and support large-scale restoration programs. In this context, the present thesis aimed to provide subsidies for the production of seminal and vegetative seedlings of *A. brachiata*, seeking to identify the main factors that influence germination and adventitious rooting. Therefore, the work was divided into three chapters. The first addressed the germination potential of pellet seeds submitted to scarification and different concentrations of gibberellin, as well as the vegetative propagation by cuttings from materials with different physiological ages, submitted to treatments with *Azospirillum brasilense* and indole butyric acid. The results indicated absence of germination due to the existence of a mechanical barrier in the endocarp to the emission of the radicle. Cutting using rejuvenated plants is recommended for seedling production (53.75% rooting), requiring the application of 6000 mg L⁻¹ IBA. The second chapter analyzed the morphobiometry of fruit, seed and seedling and the effect of different methods of overcoming mechanical dormancy and temperatures on the germination of *A. brachiata*. The fruits are fleshy indehiscent, with a persistent chalice. The pyrene is constituted by the endocarp and the seed, exalbuminous, with axial embryo. Germination is hypogeal and the seedling is cryptocotyledonary. The total removal of the endocarp and temperatures of 25 and 30°C are recommended for germination of the species (28.50% germination). Finally, the third chapter aimed to evaluate the rhizogenic potential of cuttings from rejuvenated and adult matrices collected in different seasons, in addition to identifying phenolic compounds, proteins and polar metabolites present in the cuttings and anatomically characterizing their stem base. It was concluded that propagules from rejuvenated matrices collected in the spring are indicated for the production of seedlings (25.25% rooting), with no favorable effect of the use of indole butyric acid. The highest values of phenolic compounds were obtained in spring, both for cuttings from rejuvenated matrices (37.39 mg g⁻¹) and from adult matrices (25.81 mg g⁻¹). The protein content was obtained in greater quantity in cuttings collected in autumn from rejuvenated matrices (146.74 mg g⁻¹). The compounds maleic acid, 2-hydroxy-glutaric acid, mannose-6-phosphate, ribonic acid, glycine and phosphoric acid were obtained in higher concentrations in cuttings from rejuvenated matrices, with a beneficial effect on adventitious rooting. There are no anatomical differences between the propagules collected from different matrices.

Keywords: Seedling production. Mechanical numbness. Vegetative propagation. Peloteiro. Secondary metabolites.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1	CURVA DE EMBEBIÇÃO DE SEMENTES DE <i>A. brachiata</i> EM ÁGUA DESTILADA.....	47
FIGURA 3.2	SEMENTES DE <i>A. brachiata</i> : EMBRIÃO EXPANDINDO PARA FORA DO ENDOCARPO (A); ENDOCARPO FORMANDO UMA BARREIRA FÍSICA (B).....	48
FIGURA 3.3	PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO (A) E CALOGÊNESE (B) EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE <i>A. brachiata</i> EM DIFERENTES TRATAMENTOS. T1: controle; T2: 1500 mg L ⁻¹ IBA; T3: 3000 mg L ⁻¹ IBA; T4: 6000 mg L ⁻¹ IBA; T5: 50% Azo Total® e T6: 100% Azo Total®.....	49
FIGURA 3.4	<i>A. brachiata</i> : ALTA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DAS MUDAS APÓS 90 DIAS DO TRANSPLANTIO (A); DETALHE DO FLORESCIMENTO DAS MUDAS APÓS 30 DIAS DO TRANSPLANTIO (B).....	50
FIGURA 3.5	PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS ADULTAS DE <i>A. brachiata</i> EM DIFERENTES TRATAMENTOS. T1: controle; T2: 1500 mg L ⁻¹ IBA; T3: 3000 mg L ⁻¹ IBA; T4: 6000 mg L ⁻¹ IBA; T5: 50% Azo Total® e T6: 100% Azo Total®.....	51
FIGURA 4.1	METODOLOGIA DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA MECÂNICA EM <i>A. brachiata</i> : GRAMPO SARGENTO (A); RETIRADA PARCIAL DO ENDOCARPO (B); RETIRADA TOTAL DO ENDOCARPO (C).....	68
FIGURA 4.2	TRATAMENTOS COM DIFERENTES MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM <i>A. brachiata</i> : TESTEMUNHA (A); RETIRADA TOTAL DO ENDOCARPO (B); RETIRADA PARCIAL DO ENDOCARPO (C); ENDOCARPO ENFRAQUECIDO COM PIRÓGRAFO (D).....	70

FIGURA 4.3	METODOLOGIA DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM <i>A. brachiata</i> : PIRÓGRAFO (A); TRATAMENTO COM ENDOCARPO ENFRAQUECIDO COM PIRÓGRAFO (B).....	71
FIGURA 4.4	FRUTOS DE <i>A. brachiata</i> : RAMO COM FRUTOS VERDES PRESOS AO CÁLICE (A); FRUTOS MADUROS (B); FRUTO MADURO EM CORTE LONGITUDINAL (C).....	72
FIGURA 4.5	SEMENTE E PLÂNTULA DE <i>A. brachiata</i> : PIRÊNIO (A); APARÊNCIA INTERNA DO ENDOCARPO (B); SEMENTE EM SEÇÃO LONGITUDINAL (C); SEMENTE EM SEÇÃO TRANSVERSAL (D); PROTRUSÃO DA RAIZ PRIMÁRIA (E); INÍCIO DO CRESCIMENTO DA PARTE ÁREA (F); PLÂNTULA (G).....	74
FIGURA 4.6	PLÂNTULAS DE <i>A. brachiata</i> : TRATAMENTO COM RETIRADA TOTAL DO ENDOCARPO (A); TRATAMENTO COM RETIRADA PARCIAL DO ENDOCARPO (B); PLÂNTULAS EM DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO (C).....	82
FIGURA 5.1	NÚMERO DE RAÍZES (NR) (A) E COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES (CMR) (B) ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE <i>A. brachiata</i> COLETADAS NA PRIMAVERA E VERÃO, EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA.....	99
FIGURA 5.2	TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (FT) EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS E ADULTAS DE <i>A. brachiata</i> , COLETADAS NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO, NO MOMENTO DA INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO (T0) E APÓS 45 DIAS (T45).....	106

FIGURA 5.3	TEOR DE PROTEÍNAS TOTAIS (PT) EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS E ADULTAS DE <i>A. brachiata</i> , COLETADAS NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO, NO MOMENTO DA INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO (T0) E APÓS 45 DIAS (T45).....	107
FIGURA 5.4	MÉDIAS DAS VARIÁVEIS PRESENTES NAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES, PARA CADA TIPO DE MATRIZ, PARA OS GRUPOS 1 E 4 (FATORES 1 E 4)..	114
FIGURA 5.5	SEÇÕES TRANVERSAIS DA BASE CAULINAR DE ESTACAS DE <i>A. brachiata</i> : VISÃO GERAL DE ESTACAS ORIUNDAS DE MATRIZES REJUVENESCIDAS (A); VISÃO GERAL DE ESTACAS ORIUNDAS DE MATRIZES ADULTAS (B); DETALHES DA SEÇÃO TRANSVERSAL DE ESTACAS ORIUNDAS DE MATRIZES REJUVENESCIDAS (C); DETALHES DA SEÇÃO TRANSVERSAL DE ESTACAS ORIUNDAS DE MATRIZES ADULTAS (D); DETALHE DA PORÇÃO BASAL DA ESTACA ENRAIZADA (E); DESENVOLVIMENTO DO PRIMÓRDIO RADICIAL A PARTIR DO CÂMBIO VASCULAR (F).....	118

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1	NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACAS (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DAS TRÊS MAIORES RAÍZES (CMR), RETENÇÃO FOLIAR (RF) E EMISSÃO DE NOVAS BROTAÇÕES (EB) EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE <i>A. brachiata</i> APÓS 30 DIAS DE PLANTIO, EM DIFERENTES TRATAMENTOS.....	50
TABELA 3.2	NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACAS (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES (CMR), PORCENTAGEM DE CALOGÊNESE (C), SOBREVIVÊNCIA (S), EMISSÃO DE NOVAS BROTAÇÕES (EB) E RETENÇÃO FOLIAR (RF) EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE <i>A. brachiata</i> APÓS 30 DIAS DE PLANTIO, EM DIFERENTES TRATAMENTOS.....	52
TABELA 4.1	COMPRIMENTO, DIÂMETRO, MASSA, NÚMERO DE SEMENTES/FRUTO E PORCENTAGEM DE POLPA DE FRUTOS DE <i>A. brachiata</i>	73
TABELA 4.2	COMPRIMENTO, DIÂMETRO E MASSA FRESCA DE PIRÊNIOS DE <i>A. brachiata</i>	75
TABELA 4.3	COMPRIMENTO, LARGURA E ESPESSURA DE SEMENTES DE <i>A. brachiata</i>	76
TABELA 4.4	ANÁLISE DA VARIÂNCIA PARA PERCENTUAL DE GERMINAÇÃO (G), ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) E TEMPO MÉDIO DE GERMINAÇÃO (TMG) DE SEMENTES DE <i>A. brachiata</i> EM DIFERENTES MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E DIFERENTES TEMPERATURAS.....	78

TABELA 4.5	COMPARAÇÃO DE MÉDIAS PARA PERCENTUAL DE GERMINAÇÃO (G), ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) DE SEMENTES DE <i>A. brachiata</i> EM DIFERENTES MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E DIFERENTES TEMPERATURAS.....	78
TABELA 4.6	COMPARAÇÃO DE MÉDIAS PARA TEMPO MÉDIO DE GERMINAÇÃO (TMG) DE SEMENTES DE <i>A. brachiata</i> EM DIFERENTES MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E DIFERENTES TEMPERATURAS.....	80
TABELA 5.1	PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO DE ESTACAS (EE) ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE <i>A. brachiata</i> COLETADAS NO VERÃO E PRIMAVERA, EM DIFERENTES TRATAMENTOS COM IBA.....	97
TABELA 5.2	ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PORCENTAGEM DE CALOGÊNESE (EC), MORTALIDADE (EM), NOVAS BROTAÇÕES (EB) E MANUTENÇÃO FOLIAR (MF) DE ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE <i>A. brachiata</i> NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO E EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA.....	100
TABELA 5.3	PORCENTAGEM DE CALOGÊNESE (EC), MORTALIDADE (EM), NOVAS BROTAÇÕES (EB) E MANUTENÇÃO FOLIAR (MF) DE ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE <i>A. brachiata</i> NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO E EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA.....	101
TABELA 5.4	PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO (EE), CALOGÊNESE (EC) E MORTALIDADE DE ESTACAS (EM) ORIUNDAS DE PLANTAS ADULTAS DE <i>A. brachiata</i> NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO E CONCENTRAÇÕES DE IBA.....	102

TABELA 5.5	NÚMERO DE RAÍZES (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES (CMR) E NOVAS BROTAÇÕES (EB) DE ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS ADULTAS DE <i>A. brachiata</i> NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA.....	103
TABELA 5.6	METABÓLITOS IDENTIFICADOS EM EXTRATO METANÓLICO DE ESTACAS DE <i>A. brachiata</i>	109
TABELA 5.7	TOTAL DA VARIÂNCIA EXPLICADA PELOS FATORES EXTRAÍDOS.....	110
TABELA 5.8	COEFICIENTES DOS QUATRO FATORES ESCOLHIDOS, ONDE CADA COEFICIENTE REPRESENTA A CORRELAÇÃO ENTRE A VARIÁVEL INCLUÍDA E O FATOR.....	111
TABELA 5.9	RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA MULTIVARIADA, ENTRE OS PROPÁGULOS DE DIFERENTES MATRIZES, PARA O GRUPO DE VARIÁVEIS PRESENTES DO PRIMEIRO AO QUARTO FATOR.....	112
TABELA 5.10	COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS ORIGINAIS E A FUNÇÃO DISCRIMINANTE E VALOR DE F COM SUA SIGNIFICÂNCIA, PARA OS GRUPOS 1 e 4 DE VARIÁVEIS (FATORES 1 E 4).....	113

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	21
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1 HISTÓRICO E CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE	23
2.2 PROPAGAÇÃO SEMINAL	25
2.2.1 Morfobiometria de frutos, sementes e plântulas	25
2.2.2 Germinação	26
2.3 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA	28
2.3.1 Propagação vegetativa via estaquia.....	29
2.3.2 Fatores que influenciam o enraizamento adventício	30
2.3.2.1 Balanço hormonal e reguladores vegetais	30
2.3.2.2 Maturação/Juvenilidade.....	32
2.3.2.3 Época no ano	33
2.3.2.4 Compostos bioquímicos	34
2.3.2.5 Anatomia caulinar.....	37
3 CAPÍTULO I – POTENCIAL GERMINATIVO E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE <i>Aegiphila brachiata</i> Vell.*	39
3.1 INTRODUÇÃO	41
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	43
3.2.1 Experimento I – Potencial germinativo de sementes de <i>A. brachiata</i>	43
3.2.2 Experimento II - Estaquia de <i>A. brachiata</i> a partir de matrizes rejuvenescidas	44
3.2.3 Experimento III – Estaquia de <i>A. brachiata</i> a partir de matrizes adultas	46
3.2.4 Análises estatísticas	46
3.3 RESULTADOS	46
3.3.1 Experimento I - Potencial germinativo de sementes de <i>A. brachiata</i>	46
3.3.2 Experimento II – Estaquia de <i>A. brachiata</i> a partir de matrizes rejuvenescidas.....	48
3.3.3 Experimento III – Estaquia de <i>A. brachiata</i> a partir de matrizes adultas	51
3.4 DISCUSSÃO	52
3.4.1 Experimento I - Potencial germinativo de sementes de <i>A. brachiata</i>	52
3.4.2 Experimento II – Estaquia de <i>A. brachiata</i> a partir de matrizes rejuvenescidas.....	54
3.4.3 Experimento III – Estaquia de <i>A. brachiata</i> a partir de matrizes adultas	56

3.5 CONCLUSÕES	58
3.6 REFERÊNCIAS	59
4 CAPÍTULO II - ANÁLISES MORFOBIOMÉTRICAS DE FRUTO, SEMENTE E PLÂNTULA E GERMINAÇÃO DE <i>Aegiphila brachiata</i> Vell.	63
4.1 INTRODUÇÃO	65
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	66
4.2.1 Coleta e beneficiamento	66
4.2.2 Morfobiometria de frutos, sementes e plântulas e caracterização física das sementes.....	66
4.2.3 Superação de dormência e temperaturas para germinação em laboratório	68
4.2.3 Métodos de superação de dormência na germinação em viveiro	69
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
4.3.1 Morfobiometria de frutos, sementes e plântulas e caracterização física das sementes.....	71
4.3.2 Superação de dormência e temperaturas para germinação em laboratório	77
4.3.3 Métodos de superação de dormência na germinação em viveiro	81
4.4 CONCLUSÕES	83
4.5 REFERÊNCIAS	83
5 CAPÍTULO III – ESTAQUIA E DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS, METABOLÔMICAS E ANATÔMICAS DE <i>Aegiphila brachiata</i> Vell.	87
5.1 INTRODUÇÃO	89
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	91
5.2.1 Estaquia de <i>A. brachiata</i> a partir de matrizes rejuvenescidas	91
5.2.2 Estaquia de <i>A. brachiata</i> a partir de matrizes adultas	92
5.2.3 Análises bioquímicas.....	92
5.2.4 Análises metabolômicas.....	94
5.2.5 Análises anatômicas	95
5.2.6 Análises estatísticas	95
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	96
5.3.1 Estaquia de <i>A. brachiata</i> a partir de matrizes rejuvenescidas	96
5.3.2 Estaquia de <i>A. brachiata</i> a partir de matrizes adultas	102
5.3.3 Composição bioquímica	105
5.3.4 Análises metabolômicas.....	108
5.3.5 Análises anatômicas	117

5.4 CONCLUSÕES	119
5.5 REFERÊNCIAS	120
6 CONCLUSÕES GERAIS.....	127
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES PARA PESQUISAS	128
8 REFERÊNCIAS GERAIS	130

1 INTRODUÇÃO GERAL

Com a popularização da questão ambiental, pesquisas relacionadas às espécies florestais nativas são de extrema importância do ponto de vista ecológico, silvicultural e econômico, pois auxiliam na elaboração de projetos de restauração florestal, a fim de conservar a biodiversidade, mitigar as mudanças climáticas e reforçar o fornecimento de produtos ecossistêmicos (ROCHA et al., 2014; LAESTADIUS et al., 2015; SABOGAL; BESACIER; MCGUIRE, 2015; GARRET et al., 2020). No entanto, a oferta de mudas de espécies florestais é ainda bastante limitada, tornando indispensáveis conhecimentos técnicos sobre propagação para aumentar a cadeia produtiva de mudas nativas (BENDOR et al., 2015; SILVA et al., 2016; SCHMIDT et al., 2019).

Aegiphila brachiata Vell. (Lamiaceae), espécie florestal nativa do Brasil (FRANÇA, 2003), possui um elevado potencial para uso em restauração de ecossistemas degradados. No entanto, é notória a escassez de estudos referentes a ela, principalmente no que tange à produção de mudas. Viveiristas relatam germinação nula após longos períodos de observação.

Uma das limitações na produção de mudas de espécies nativas está relacionada à dormência nas sementes, que retardam a germinação (SANTOS et al., 2003). Pesquisas que esclarecem os aspectos morfológicos de sementes auxiliam na identificação e compreensão do comportamento de plantas em seu ambiente natural, contribuindo para o processo de produção de mudas (GOGOSZ et al., 2015). Diversos fatores estão associados ao processo germinativo, apresentando respostas diferentes para cada espécie, sendo indispensável a obtenção de um acervo de informações que auxiliem na compreensão das respostas germinativas das espécies (DUARTE et al., 2021).

Em espécies nativas que possuem limitações na propagação seminal, a produção de mudas pode ser realizada por propagação vegetativa, como a estaquia, que é a técnica de maior utilização na produção de mudas florestais (HARTMANN et al., 2018). A etapa mais importante na propagação vegetativa é a formação de um sistema radicial, sendo este um processo bastante complexo e influenciado por diversos fatores endógenos, relacionados à planta doadora de propágulos como

idade, características anatômicas, bioquímicas e fisiológicas, e por fatores exógenos como condições ambientais, às quais tanto a planta matriz como os propágulos estão expostos (SÁ, 2018).

Diante dessa problemática, esta tese foi estruturada em três capítulos, a fim de elucidar o processo de produção de mudas de *A. brachiata*:

- Capítulo I, *Potencial germinativo e propagação vegetativa de Aegiphila brachiata Vell.*, expõe a capacidade germinativa de sementes da espécie submetidas à escarificação e a diferentes concentrações de GA₃, bem como a viabilidade da propagação vegetativa por meio de estaquia a partir de materiais com idades fisiológicas diferentes e submetidos a tratamentos com rizobactérias (*Azospirillum brasilense*) e ácido indol butírico (IBA).

- Capítulo II, *Análises morfobiométricas de fruto, semente e plântula e germinação de Aegiphila brachiata Vell.*, caracteriza os aspectos morfológicos e biométricos do fruto, semente e plântula da espécie e avalia a germinação das sementes submetidas a diferentes métodos de superação de dormência mecânica e diferentes temperaturas.

- Capítulo III, *Estaquia e determinações bioquímicas, metabolômicas e anatômicas de Aegiphila brachiata Vell.*, trata da avaliação do potencial rizogênico de propágulos de plantas rejuvenescidas e adultas submetidos à aplicação de diferentes concentrações de IBA em diferentes estações do ano, e relaciona o perfil bioquímico, metabolômico e anatômico das estacas com a rizogênese.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO E CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE

Aegiphila brachiata Vell., conhecida popularmente como peloteiro, é uma espécie nativa do Brasil, com ocorrência principalmente no bioma Mata Atlântica, e pertencente à família Lamiaceae Martinov. Esta família é grande e cosmopolita, sendo dividida em sete subfamílias contendo cerca de 236 gêneros e quase 7300 espécies, com seu centro de diversidade principalmente em savanas tropicais e subtropicais (HARLEY et al., 2004). No Brasil, existem 70 gêneros e cerca de 590 espécies nativas, com vários gêneros e espécies introduzidas e naturalizadas (BFG, 2020; ANTAR et al., 2022).

As espécies pertencentes a esta família apresentam hábitos variados, sendo composta por árvores, subarbustos, arbustos e ervas perenes ou anuais e, raramente, trepadeiras. Suas folhas são simples ou compostas, opostas, frequentemente decussadas, raramente alternas, pecioladas ou sésseis, possuem inflorescências arrançadas em címulas, tirsos, verticilastro, capítulos ou panículas frequentemente bracteoladas, flores zigomorfas ou actinomorfa e frutos carnosos (drupa), ou secos indeiscentes (núculas) (HARLEY et al., 2004).

A família Lamiaceae possui considerável importância econômica, contendo diversas árvores de madeira com valor comercial, espécies de valor hortícola e ervas aromáticas utilizadas para perfumaria e cosméticos (HARLEY; PASTORE, 2012). Ainda, as espécies desta família podem produzir uma variedade de compostos secundários, sendo conhecidas por apresentarem óleos essenciais presentes nos tricomas glandulares, localizados nas superfícies das folhas e nas inflorescências (HARLEY et al., 2004), apresentando atividades biológicas como antioxidante, bactericida, fungicida e inseticida (LIMA; CARDOSO, 2007).

Diversos gêneros foram transferidos de Verbenaceae para Lamiaceae, como *Aegiphila*, *Clerodendrum* e *Vitex*, tornando Lamiaceae a família com maior número de espécies da ordem Lamiales (CANTINO, 1992). *Aegiphila* Jacq. (subfamília Ajugoideae) é um gênero representado por árvores ou arbustos dioicos, com folhas opostas, muitas vezes com glândulas na lâmina foliar, flores geralmente pequenas e

de cor creme, gineceu com estilo terminal, fruto drupáceo, ovóide, com persistente cálice cupular (FRANÇA, 2003; HARLEY et al., 2004).

O gênero contém cerca de 116 espécies, em sua maioria neotropicais, com 32 espécies em todo o Brasil (FRANÇA, 2003; HARLEY et al., 2004). Várias espécies de *Aegiphila* são conhecidas por seu uso na medicina popular por meio de suas folhas, pela sua ação contra o mosquito *Aedes aegypti* (MENDONÇA et al., 2005), atividade anti-microbiana (FERREIRA et al., 2010) e potencial antioxidante (PRADO, 2014).

A. brachiata é uma espécie nativa do Brasil, de estágio inicial de sucessão (COLONETTI et al., 2009), com ocorrências nas regiões Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul). Trata-se de arbusto ou arvoreta com caule ereto, podendo atingir até 7 metros de altura (FRANÇA, 2003; OLIVEIRA FILHO et al., 2008; HARLEY et al., 2015). Em estudo realizado por Caiafa (2008) em fragmentos de Floresta Ombrófila Densa, a espécie foi considerada rara, com distribuição geográfica restrita, ocorrendo em habitats únicos com populações escassas.

A espécie apresenta polinização por zoofilia e síndrome de dispersão zoocórica (SANTOS et al., 2016), embora nenhum animal tenha sido relatado a consumir, de fato, os frutos/sementes. Possui filotaxia decussada, com folhas opostas, pecíolo conspícuo, limbo elíptico de margem inteira e base cuneada, inflorescência pauciflora com flores tetrâmeras, cor da coroa branca a amarelada com androceu de até quatro estames. O peloteiro floresce de agosto a outubro e frutifica em janeiro, fevereiro, junho e outubro, dependendo da região em que se encontra (FRANÇA, 2003; HARLEY et al., 2015). Os frutos são vistosos e chamam a atenção pela cor e pela carga; há diversos relatos que eles são comestíveis, com sabor e textura agradáveis (ROLIM; REIS, 2016; BRACK et al., 2020).

São raras as informações referentes a *A. brachiata* na literatura, porém em observações a campo nota-se que a espécie apresenta elevada capacidade de produção de biomassa, rápido crescimento em condições adversas, rebrotações da cepa e da copa após o corte, expressiva brotação de raízes e alta resistência às perturbações ambientais, apresentando potencial para restauração de áreas degradadas.

2.2 PROPAGAÇÃO SEMINAL

Segundo Santos et al. (2003), a limitação na produção de mudas de espécies nativas está relacionada a dificuldades na obtenção de sementes, além da ocorrência de dormência nas sementes, que retardam a germinação. Não existem informações na literatura a respeito da propagação de *A. brachiata*; no entanto, viveiristas mencionam que a germinação da espécie é nula, mesmo em períodos longos de observação. Desta forma, pesquisas específicas são de importância para identificar a eficiência ou não da propagação seminal da espécie.

2.2.1 Morfobiometria de frutos, sementes e plântulas

O conhecimento das estruturas morfológicas de espécies florestais é de grande importância, para identificação botânica e para entender o comportamento da espécie em relação a dispersão, sucessão, regeneração natural e conservação. Além disso, ele contribui para a compreensão do processo reprodutivo, servindo de subsídios para produção de mudas e para uma melhor entender o estabelecimento da plântula no ambiente natural (BARRETTO; FERREIRA, 2011; ALVES et al., 2013; GOGOSZ et al., 2015).

A semente é um importante órgão de garantia de sobrevivência das espécies vegetais, e seus elementos como embrião, tecidos de reserva e envoltório, são influenciados por diferenças ambientais ou adaptações evolutivas, podendo variar morfológicamente entre espécies ou até mesmo entre indivíduos (ABUD et al., 2010). A descrição morfológica das espécies em fase de plântula auxilia em estudos relacionados aos mecanismos de regeneração natural, permitindo a distinção de espécies na família e no mesmo gênero (HARTMANN; RODRIGUES, 2014; GOGOSZ et al., 2015).

Aspectos biométricos de frutos e sementes permitem a diferenciação de espécies do mesmo gênero e a identificação da variabilidade genética dentro de uma população da mesma espécie, além da relação entre a variabilidade genética e as condições ambientais (MACEDO et al., 2009; GONÇALVES et al., 2013). A caracterização biométrica de frutos e sementes pode ser utilizada em diversas

pesquisas, incluindo trabalhos de melhoramento genético de populações, e na melhoria das condições de armazenamento de sementes e frutos, produção de mudas e padronizações de testes em laboratórios (CRUZ; MARTINS; CARVALHO, 2001; GONÇALVES et al., 2013).

Barroso et al. (1999) descrevem as sementes da espécie como exalbuminosas, apresentando tegumento fino, de coloração marrom clara. As espécies exalbuminosas utilizam os cotilédones como fonte de reserva da plântula, durante as fases de desenvolvimentos (BEWLEY; BLACK, 1994; MELO et al., 2004).

2.2.2 Germinação

A germinação das sementes inicia após a embebição de água, possibilitando a retomada do crescimento do embrião, que irá culminar no rompimento do tegumento pela radícula e posterior desenvolvimento até o estabelecimento da plântula. Este processo ocorre segundo um padrão trifásico de embebição, e é estabelecido numa curva específica para cada espécie (BEWLEY; BLACK, 1994).

De acordo com Marcos-Filho (2015), a primeira fase do padrão trifásico é caracterizada por uma rápida absorção de água, e dá-se em todas as sementes, sendo elas viáveis ou inviáveis. A fase II do processo de embebição é restrita a semente vivas, ocorrendo uma redução na velocidade de absorção de água seguida por estabilização, devido à turgidez das células. Nesta fase, ocorre intenso transporte das substâncias quebradas na fase I, do tecido de reserva para o tecido meristemático. Na fase III verifica-se um novo pico de absorção de água, como consequência do crescimento do embrião, culminando na protrusão da radícula (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS-FILHO, 2015).

Para que a germinação ocorra, são necessárias condições favoráveis, seja em campo ou em ambiente controlado, sendo intrínsecas ou extrínsecas às sementes. As condições intrínsecas estão relacionadas com as características genéticas das sementes, e as extrínsecas são condições ambientais como umidade, luz e temperatura (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Ainda, o tipo de substrato e possíveis barreiras à germinação determinam diferentes respostas para cada

espécie, tornando indispensável o conhecimento sobre o potencial germinativo em espécies florestais.

Como já mencionado, pouco se sabe sobre a propagação de *A. brachiata*; porém, em estudos relacionados com espécies do mesmo gênero, observou-se baixa porcentagem de germinação em *Aegiphila lhotzkiana* Cham. (WETZEL; REIS; RAMOS, 2003) e a presença de dormência tegumentar em sementes de *Aegiphila sellowiana* Cham., na qual o tegumento da semente é um fator de restrição à absorção de água (FERREIRA, 2016). Diante disso, estudos sobre a biologia e germinação das sementes do peloteiro são essenciais para o entendimento do funcionamento da espécie e de sua regeneração.

A dormência, comum em espécies, é um processo caracterizado por um atraso na germinação, decorrente da combinação de condições específicas de ambiente, como fotoperíodo, temperatura, umidade e disponibilidade hídrica, que provoca a interferência de um ou mais mecanismos de bloqueio, impedindo a transcrição da mensagem genética para ativação do processo metabólico que resulta na germinação (MARCOS-FILHO, 2015). Assim, dormência constitui uma estratégia de adaptação às condições adversas de ambiente, para o desenvolvimento adequado da plântula.

As principais causas de dormência nas sementes estão relacionadas a fatores exógenos, como impermeabilidade da “cobertura” (tegumento ou epicarpo) à água e/ou gases, resistência mecânica da “cobertura” e presença de inibidores, ou a fatores endógenos relacionados ao próprio embrião, como embrião rudimentar e imaturidade fisiológica e, ainda, a combinação de fatores (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; MARCOS-FILHO, 2015). Um dos reguladores vegetais mais utilizados na germinação, pela quebra da dormência fisiológica das sementes, é a giberelina (GA_3), a qual promove a síntese de enzimas, como a α -amilase, envolvidas no enfraquecimento de tecidos que circundam o embrião, ou que ativam a hidrólise de reservas (TAIZ et al., 2017).

A escarificação mecânica pode promover a germinação de sementes com tegumento impermeável à água (MARCOS-FILHO, 2015). Já a resistência mecânica da “cobertura”, associada à possível ação mecânica de tecidos que circundam o embrião, impondo restrição à sua expansão, é superada quando a barreira existente

ao crescimento do embrião é enfraquecida ou eliminada para permitir a protrusão radicular (MARCOS-FILHO, 2015). A definição do procedimento mais adequado de superação de dormência para diferentes espécie é baseada no desempenho delas em testes de germinação conduzidos em laboratório (MARCOS-FILHO, 2015).

2.3 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA

A utilização de espécies nativas na silvicultura clonal pode ser dividida de acordo com seus objetivos, podendo ser para fins produtivos ou para fins ambientais (STUEPP et al., 2018). Para que a utilização da propagação vegetativa em espécies com fins ambientais não seja incoerente, alguns aspectos devem ser considerados, no que tange à garantia de manutenção de uma variabilidade genética adequada com a utilização de um maior número de matrizes para a produção dos propágulos iniciais (CARPANEZZI; CARPANEZZI, 2006).

A propagação vegetativa surge como uma oportunidade para produção de mudas de espécies nativas que apresentam limitações na propagação seminal, como sementes que apresentam dormência, espécies com indisponibilidade de sementes e alto custo de aquisição, baixa porcentagem de germinação, e um longo período para a formação das mudas seminais (CARPANEZZI; CARPANEZZI, 2006; OLIVEIRA; RIBEIRO, 2013). Além disso, a propagação vegetativa apresenta vantagens como a uniformidade no plantio, maior produtividade, multiplicação de indivíduos adaptados a sítios específicos e baixo custo, permitindo a produção de mudas durante o ano todo (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009; WENDLING; STUEPP; ZUFFELLATO-RIBAS, 2016).

Esta forma de propagação baseia-se na multiplicação assexuada de partes de plantas, originando indivíduos com características idênticas à planta matriz. Uma das etapas fundamentais na propagação vegetativa é a formação do sistema adventício de raízes (COSTA et al., 2013). O processo de formação de novas estruturas celulares está relacionado com a aquisição de competência da célula em responder de forma definida a um sinal hormonal específico (CEDZICH et al., 2008; THOMPSON, 2008; SILVEIRA et al. 2013; ALMEIDA et al., 2015), seguido pela indução a uma rota morfogênica específica, diferenciação e, finalmente,

desenvolvimento (ALMEIDA et al., 2015). Assim, os métodos de propagação vegetativa baseiam-se no princípio da totipotência das células vegetais, ou seja, apresentam informação genética capaz de gerar uma planta completa (ALMEIDA et al., 2015).

2.3.1 Propagação vegetativa via estaquia

A estaquia é considerada uma das técnicas mais importantes na propagação vegetativa, apresentando maior simplicidade, rapidez e baixo custo, sendo um dos métodos mais utilizados na produção de mudas florestais em escala comercial (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; HARTMANN et al., 2018). A viabilidade desta técnica depende da capacidade de formação de raízes dos propágulos utilizados, da qualidade do sistema radicular formado e do desenvolvimento posterior da planta propagada por esse método na área de produção.

O processo de formação de raízes adventícias consiste em três fases fisiológicas sucessivas, porém interdependentes, com exigências diferentes: indução, iniciação e expressão. A fase de indução compõe-se por eventos moleculares e bioquímicos sem alterações visíveis; a fase de iniciação engloba divisões celulares e organização do primórdio radicial; a fase de expressão é conhecida pelo desenvolvimento do primórdio radicial e o surgimento da raiz (LI et al., 2009).

O sucesso do enraizamento e da sobrevivência das estacas envolve diversos fatores como as condições fisiológicas da planta matriz (presença de carboidratos, substâncias nitrogenadas, aminoácidos e compostos fenólicos fornecidos pelas folhas e acumulados na zona de regeneração de raízes), balanço hormonal, época de coleta dos propágulos, juvenilidade dos propágulos, dentre outros (WENDLING; XAVIER, 2001; XAVIER; WENDLING, SILVA, 2009). Esses fatores são requeridos de forma diferente em cada etapa do processo de formação de raízes adventícias, o que torna indispensável a compreensão dos aspectos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na formação do sistema radicial (LI et al., 2009).

Não existem informações na literatura a respeito da propagação vegetativa de *A. brachiata*, tampouco sobre estaquia de espécies do gênero *Aegiphila*. No entanto, em observações a campo, nota-se que a espécie apresenta elevada capacidade de rebrota após situações de distúrbio, como o corte ou quebra de ramos e tronco pelo vento, demonstrando potencial de regeneração e possibilidade de propagação por segmentos de caule.

2.3.2 Fatores que influenciam o enraizamento adventício

2.3.2.1 Balanço hormonal e reguladores vegetais

Vários fatores influenciam o enraizamento das estacas, tanto os intrínsecos, relacionados à própria planta, como os extrínsecos, relacionados aos fatores ambientais (COSTA et al., 2013; ZHANG et al., 2017). Em relação às condições internas da planta matriz, elas podem ser traduzidas pelo balanço hormonal entre inibidores, promotores e cofatores do enraizamento, interferindo na emissão e crescimento das raízes.

Os hormônios vegetais promovem, inibem ou modificam diversos fatores fisiológicos e morfológicos (SANTNER; ESTELLE, 2009; VIEIRA et al., 2010), além de executar papéis complexos, desempenhando efeitos diretos (divisão celular ou crescimento celular) ou indiretos (interação com outras moléculas ou hormônios) (LI et al., 2009). O principal hormônio envolvido no enraizamento adventício é a auxina, estudada e utilizada nos protocolos de propagação de plantas, sendo o ácido indol acético (IAA) um dos principais indutores desse processo (COSTA et al., 2013; STEFFENS; RASMUSSEN, 2016).

O IAA é considerado um hormônio do crescimento, por induzir a dominância apical, a expansão, divisão e diferenciação celular, além de promover o desenvolvimento de frutos e de raízes adventícias (SAIRANEN et al., 2012; STEFFENS; RASMUSSEN, 2016; TAIZ et al., 2017). Este hormônio é sintetizado nas partes das plantas com crescimento ativo como meristema apical, gemas axilares e folhas jovens (fonte) (POP; PAMFIL; BELLINI, 2011) e transportado através do floema para a base das estacas (dreno), onde se concentram e, em

conjunto com outras substâncias nutritivas, são responsáveis pela formação das raízes (HARTMANN et al., 2018). Assim, a presença de folhas e brotos pode afetar a disponibilidade de auxina.

As auxinas podem coexistir na forma livre ou conjugada com açúcares, peptídeos, aminoácidos e proteínas. A forma conjugada é inativa, representando-se como uma das formas de controle dos níveis endógenos deste hormônio; apenas a auxina na sua forma livre induz os processos fisiológicos (LUDWIG-MÜLLER, 2011; PORFÍRIO et al, 2016). Desta forma, o efeito do IAA é variável, dependendo do nível de biossíntese e conjugação, além de ter influência na capacidade de resposta dos tecidos, estágio de enraizamento, sazonalidade, nível de açúcares, dentre outros (SAIRANEN et al., 2012).

Uma das formas mais comuns de favorecer o balanço hormonal é a aplicação de reguladores vegetais na base das estacas, os quais elevam o teor de auxinas no tecido, provendo maior número, vigor e uniformidade de raízes (DIAS et al., 2012; PIRES; WENDLING; BRONDANI, 2013). Esta suplementação exógena de auxina acelera a divisão celular do câmbio, promove o catabolismo do hormônio inibidor da formação de raiz (ácido abscísico) e a síntese de hormônios endógenos (IAA, ácido giberélico, citocinina), além de aumentar o metabolismo de carboidratos e proteínas solúveis, desencadeando o processo de formação de raízes (AGULLÓ-ANTÓN et al., 2011; AGULLÓ-ANTÓN et al., 2014; ZHANG et al., 2017).

O ácido indol butírico (IBA) é o regulador vegetal mais empregado no enraizamento adventício de espécie florestais (DIAS et al., 2012; PIRES; WENDLING; BRONDANI, 2013), por tratar-se de um composto não tóxico para a maioria das plantas e por ser relativamente estável, sendo considerado um dos melhores estimulantes ao enraizamento, com boa estabilidade à luz e de ação localizada (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005). No entanto, a concentração ideal da aplicação desse composto varia com a espécie e com o grau de juvenildade do tecido, tornando-se primordial a realização de pesquisas que visem determinar a melhor concentração, em custo/benefício, para cada espécie.

Na busca por alternativas ao uso de substâncias sintéticas, vários estudos vêm sendo realizados com rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP), por exemplo, as do gênero *Azospirillum*, as quais apresentam, como

principais características, capacidade de fixação biológica de N, aumento da atividade da redutase do nitrato e produção de hormônios vegetais como auxinas, citocininas e giberelinas (RODRIGUEZ et al., 2004; CASSÁN et al., 2009). Estudos confirmam que o uso de RPCP (como *Bacillus*, *Azospirillum* e *Pseudomonas*) em estacas pode aumentar a indução radicial e a qualidade da raiz (número e comprimento) devido a essas bactérias auxiliarem na síntese de auxina endógena (IAA) (KARAKURT et al., 2009; ERTURK et al., 2010; RAJAN; RADHAKRISHNA, 2013; SAYED; EL-NAGGAR, 2014; MARIOSIA et al., 2017).

A influência da auxina na promoção do sistema radicial é evidente (LI et al., 2009; COSTA et al., 2013; ZHANG et al., 2017); no entanto, de acordo com Raven, Evert e Eichhorn (2014), os hormônios vegetais dificilmente atuam de modo isolado, sendo as respostas provenientes da interação com outros fatores.

2.3.2.2 Maturação/Juvenilidade

A idade da planta doadora de propágulos é um fator determinante no processo de formação do sistema radicial. De maneira geral, estacas coletadas de plantas em crescimento juvenil possuem capacidade de enraizamento do que aquelas coletadas de plantas adultas (ZHANG et al., 2017; HARTMANN et al., 2018).

No entanto, para um uso adequado de espécies nativas na silvicultura clonal, quando para fins ambientais (recuperação de ecossistemas degradados), alguns aspectos devem ser considerados, principalmente no que tange à garantia da manutenção de variabilidade genética adequada nos plantios clonais. Dessa forma, a utilização de matrizes maduras na propagação vegetativa é importante por possibilitar a coleta de um maior número de genótipos para a produção dos propágulos iniciais (CARPANEZZI; CARPANEZZI, 2006). Todavia, a maior consequência da utilização de propágulos oriundos de plantas cronologicamente adultas (maduras) deve-se à redução da capacidade regenerativa (WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014).

O material vegetal que contém características juvenis possui condições fisiológicas com maior propensão à formação de raízes, como níveis de auxina

endógena e cofatores do enraizamento (DIAS et al., 2012; WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014; HARTMANN et al., 2018; STUEPP et al., 2018). Já os efeitos da maturação em espécies lenhosas se apresentam por meio de alterações fisiológicas e bioquímicas das plantas matrizes, refletindo em perda da capacidade de enraizamento (OSTERC; ŠTAMPAR, 2011; HUSEN, 2012; WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014) e do vigor radicial (BITENCOURT et al., 2009).

O efeito da maturação pode ser superado com a utilização de técnicas de rejuvenescimento, visando a manutenção da juvenilidade dos propágulos pela aplicação de tratamentos culturais, como poda, micropropagação, enxertia ou estaquia seriada, ou mesmo pela aplicação de reguladores vegetais (WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014), podendo, dessa forma, aumentar a capacidade de enraizamento e vigor radicial da planta.

A propagação vegetativa como alternativa à produção de mudas de espécies nativas vem sendo muito discutida e é uma ferramenta para produção florestal no Brasil, podendo viabilizar a inserção de espécies que apresentam limitações na propagação seminal. No entanto, ainda há uma carência no conhecimento do potencial de utilização e de tecnologias de produção, sendo estes os grandes limitantes à sua aplicação (STUEPP et al., 2017).

2.3.2.3 Época no ano

As variações de temperatura e fotoperíodo entre as estações do ano são fatores de grande influência nas condições fisiológicas da planta matriz e, conseqüentemente, interferem na capacidade de enraizamento. Temperaturas elevadas coincidem com elevação no metabolismo da planta; as folhas se encontram em máxima expansão, sendo eficientes na utilização da luz, o que torna as reações químicas mais aceleradas e com maior síntese de auxina, resultando em índices satisfatórios de enraizamento. Temperaturas mais baixas resultam em diminuição no metabolismo e, conseqüente, redução nos índices de enraizamento (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; RASMUSSEN et al., 2015; HARTMANN et al., 2018).

Outro fator importante, dependente das estações do ano, é a fenologia da planta matriz. Quando a planta se encontra em floração ou frutificação, os metabólitos produzidos são translocados para o crescimento reprodutivo, ou seja, produção de flores e frutos, tornando-se menos disponíveis para o enraizamento adventício (HARTMANN et al., 2018). A época de coleta também afeta a consistência dos propágulos vegetativos, que tendem a ser mais herbáceos nos períodos de crescimento vegetativo intenso, facilitando a emissão de raízes (PIVETTA et al., 2012) e mais lenhosos e lignificados quando coletados em períodos de repouso vegetativo, resultando em menores índices de enraizamento (WENDLING; BROOKS; TRUEMAN, 2015; ZHANG et al. 2016; STUEPP et al., 2017).

A temperatura ideal de enraizamento é altamente variável, fazendo-se necessário identificar a melhor estação do ano para coleta dos propágulos para cada espécie. Também é importante destacar que as estações possuem características muito distintas em diferentes regiões, o que pode levar a resultados diversos.

2.3.2.4 Compostos bioquímicos

No processo de formação do sistema radicial ocorrem alterações metabólicas que incluem a ação enzimática, hormonal e de outros compostos bioquímicos atuando como indutores do enraizamento. Os principais compostos bioquímicos endógenos envolvidos no enraizamento adventício são os carboidratos (DIAS; ONO; RODRIGUES, 2011; DENAXA; VEMMOS; ROUSSOS, 2012), as proteínas (ZHANG et al., 2016) e compostos fenólicos (ASLMOSHTAGHI; REZA-SHAHSAVAR, 2010; DE KLERK et al., 2011).

A importância dos carboidratos na emissão e formação de raízes vem sendo bastante estudada. Sabe-se que os açúcares solúveis são produzidos pela fotossíntese e são fonte de carbono e de energia para a biossíntese de ácidos nucléicos e proteínas e de outras substâncias essenciais à formação de raízes (LIMA et al., 2011). Ainda, atuam na expressão gênica (COSTA et al., 2013), como componente estrutural celular (TAKAHASHI et al., 2003) e como molécula de

sinalização, desencadeando inúmeras respostas fisiológicas (ROLLAND; BAENA-GONZALEZ; SHEEN, 2006).

A sacarose é uma fonte de carbono essencial, formada em tecidos fotossinteticamente ativos como as folhas, e translocada para o local de consumo, como a base das estacas, onde serão formadas as raízes adventícias (AHKAMI et al., 2009). Esse açúcar pode ser diretamente utilizado como recurso energético, auxiliando no processo de divisão celular para formação do primórdio radicial, ou pode ser convertido em compostos de armazenamento como o amido (AHKAMI et al., 2009). Já a glicose é uma importante molécula de sinalização do ácido abscísico e etileno, atuando indiretamente na sinalização da auxina devido à interação desses hormônios, agindo por meio da ação de quinases receptoras (LEON; SHEEN, 2003; ROLLAND; BAENA-GONZALEZ; SHEEN, 2006; WIND; SMEEKENS; HANSON, 2010).

Outros exemplos de compostos bioquímicos associados ao enraizamento são as proteínas, por auxiliarem na indução, formação e desenvolvimento de raízes adventícias (HUSEN, 2008), e por estarem envolvidas na sinalização e biossíntese de auxinas, atuando principalmente como enzimas (SAIRANEN et al., 2012).

Assim como auxinas e açúcares, certas proteínas são conhecidas por regularem respostas ambientais em plantas, e por funcionarem como interruptores na indução da biossíntese de IAA e açúcares (LEIVAR; CODORNA, 2011). Sairanen et al. (2012) afirmam que as auxinas, açúcares e proteínas são capazes de atuar, isoladamente, no crescimento e desenvolvimento das plantas e que, juntos, esses elementos formam um mecanismo de controle que coordena dinamicamente o crescimento em resposta às mudanças ambientais. Os autores relatam, ainda, que os produtos da fotossíntese regulam a biossíntese de IAA, sendo esta regulação mediada por proteínas.

A relação entre teor de proteínas e enraizamento adventício já foi descrita por alguns autores. Em uma espécie arbórea nativa do Brasil, *Tibouchina sellowiana*, as maiores concentrações de proteínas ocorreram nas épocas com menores porcentagens de enraizamento (outono e inverno) (BORTOLINI et al., 2008). No entanto, em um estudo com estaquia de *Ilex paraguariensis*, as estações mais quentes (primavera e verão) contribuíram com maiores teores de proteínas,

açúcares e IAA nas estacas, sendo também as estações com maiores taxas de enraizamento (SÁ et al., 2021).

Os compostos fenólicos estão envolvidos em diferentes etapas da formação de raízes adventícias, funcionando como cofatores do enraizamento por atuarem sinergicamente com as auxinas, causando modificações na atividade da IAA-oxidase (SCHWAMBACH et al., 2008; ASLMOSHTAGHI; REZA-SHAHSAVAR, 2010; DE KLERK et al., 2011; SHIOZAKI; MAKIBUCHI; OGATA, 2013). Esses compostos possuem um grupamento hidroxila ligado a um anel aromático, apresentando estrutura química variável (ANGELO; JORGE, 2007), podendo inibir ou estimular o enraizamento de acordo com sua composição química e concentração (SHIOZAKI; MAKIBUCHI; OGATA, 2013).

Os compostos fenólicos agem como antioxidantes na formação de raízes adventícias, protegendo tanto o tecido vegetal do estresse oxidativo causado pelo corte, quanto o IAA da oxidação (DE KLERK; KRIEKEN; JONG, 1999). Certos compostos fenólicos, como o floroglucinol e ácido clorogênico, atuam prevenindo a degradação de auxinas pelas peroxidases, estimulando, assim, o enraizamento (SHIOZAKI; MAKIBUCHI; OGATA, 2013).

Esses compostos são requeridos de maneira distinta nas diferentes fases do enraizamento adventício (indução, iniciação e expressão), sendo o maior teor de fenólicos totais observados na fase de iniciação do primórdio radicial (ROUT, 2006). Schwambach et al. (2008) verificaram um aumento do teor dos compostos fenólicos durante a fase de formação das raízes, sugerindo que essa resposta pode ser em virtude da necessidade de redução do transporte auxínico durante esta etapa.

Os di e polifenóis agem como antioxidantes protetores, diminuindo a síntese de IAA-oxidase, enquanto que os monofenóis aumentam a síntese de IAA-oxidase. Assim, os níveis de auxina, que são requeridos em concentrações distintas nas diferentes fases do enraizamento, podem ser controlados pelos diferentes compostos fenólicos, por atuarem na atividade da IAA-oxidase (DE KLERK et al., 2011).

O enraizamento adventício é um processo complexo que envolve diversos fatores e possui influência substancial da composição bioquímica dos propágulos. Diante disso, torna-se clara a necessidade de se compreender não somente a base

fisiológica, como também a base bioquímica que envolve a formação do sistema radicial.

2.3.2.5 Anatomia caulinar

A formação de raízes adventícias provém da rediferenciação de vários tecidos celulares, sendo representada por dois padrões de desenvolvimento: o direto, no qual a formação da raiz se dá por meio dos tecidos caulinares, como os tecidos subepidérmicos, do córtex, do câmbio, do floema secundário, do periciclo ou dos feixes vasculares; e o indireto, onde a emissão de raízes é antecipada por uma etapa intermediária, na qual ocorre a formação de uma massa irregular de células parenquimáticas (calos) que, ao se dividirem de forma organizada, se diferenciam em raízes adventícias (HARTMANN et al., 2018).

No entanto, por mais que algumas espécies apresentem rizogênese indireta, com a formação de calos antecipando a emissão radicial, em outras espécies essa massa irregular de células pode prejudicar o enraizamento adventício. Em *Eucalyptus benthamii* a presença de calos compromete a conexão vascular, influenciando no desenvolvimento da planta (BRONDANI et al., 2012). Em *Rosa helenae* 'Semiplena' o uso do regulador vegetal NAA na estaquia resultou na produção abundante de calos, que obstruiu a iniciação radicial, diminuindo as taxas de enraizamento (MONDER; KOZAKIEWICZ; JANKOWSKA, 2019). Dessa forma, informações sobre a estrutura interna do caule são de importância na propagação vegetativa, para o conhecimento da origem dos primórdios radiciais e, também, para detecção de possíveis barreiras ao enraizamento.

Vários estudos anatômicos sugerem correlação entre a dificuldade de enraizamento e a presença de uma camada de células esclerenquimáticas que formam um anel contínuo na região cortical e do periciclo, bem como um córtex espesso, os quais podem formar uma barreira mecânica bloqueando a formação dos primórdios radiciais (ONO; RODRIGUES, 1996; MAYER et al., 2008; ZHANG et al., 2009; LIMA et al., 2011; PORFÍRIO et al., 2016; DENAXA et al., 2019). Essas barreiras anatômicas podem reduzir a absorção e o movimento da auxina exógena aplicada nas estacas, tornando o estímulo da auxina fraco e insuficiente para induzir

a desdiferenciação das células cambiais e a iniciação radicial, estando negativamente relacionadas com a capacidade de enraizamento das estacas (DENAXA et al., 2019).

No entanto, em estudo com estaquia de *Ilex paraguariensis*, a presença de anel esclerenquimático circundando o sistema vascular não atuou como barreira ao enraizamento adventício (SÁ et al., 2021). Ainda, Latoh (2019) identificou a presença de anel contínuo de fibras perivasculares que não impediram a formação de raízes adventícias em miniestacas de *Tibouchina heteromalla* e *Tibouchina sellowiana*; contudo, o autor sugere que a baixa quantidade de raízes em *T. sellowiana* é decorrente da presença de inúmeras emergências e drusas que, em conjunto, atuaram como uma barreira física dificultando a ruptura do córtex pelas raízes adventícias.

Desta forma, o sucesso no enraizamento pode ser parcialmente associado com a localização dos potenciais locais de iniciação radicial e as análises morfoanatômicas de estacas podem contribuir para o melhor entendimento das variações na capacidade rizogênica.

3 CAPÍTULO I – POTENCIAL GERMINATIVO E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *Aegiphila brachiata* Vell.*

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial germinativo de *Aegiphila brachiata* (peloteiro) e sua propagação por meio da técnica de estaquia, e a influência da idade da planta matriz e do uso de ácido indol butírico e *Azospirillum brasilense* no enraizamento adventício. Assim, foi realizada a caracterização física do lote de sementes e posteriormente o teste de germinação, com e sem escarificação das sementes e com três concentrações de giberelina (0, 50 e 100 mg L⁻¹ GA₃). Para estaquia, foram realizados dois experimentos com estacas provenientes de matrizes rejuvenescidas e adultas. Para ambos experimentos, as estacas foram submetidas a tratamentos com ácido indol butírico (0, 1500, 3000 e 6000 mg L⁻¹) e solução composta de *Azospirillum brasilense* (50% e 100% da concentração comercial), mantidas em casa de vegetação por 30 dias. Não houve germinação de nenhuma semente, sendo identificada uma barreira no endocarpo à emissão da radícula. O uso de *Azospirillum brasilense* não se mostrou eficiente na indução radicial. A estaquia por meio de matrizes rejuvenescidas é recomendada para produção de mudas da espécie (53,75 % de enraizamento), sendo necessária aplicação de 6000 mg L⁻¹ IBA. Estacas provenientes de matrizes adultas não são recomendadas para produção de mudas do peloteiro (*A. brachiata*) por apresentarem baixos índices de enraizamento (10%) e elevada mortalidade (68,33%).

Palavras-chave: Sementes. Estaquia. Ácido indol butírico. Peloteiro. Rizobactérias.

*Artigo publicado - MAGGIONI, R. A.; VIEIRA, L. M.; INVERNIZZI, S.F.; CARPANEZZI, A. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Germination potential and vegetative propagation of *Aegiphila brachiata* Vell. **CERNE**, v. 26, n. 2, p.222-231, 2020.

GERMINATION POTENTIAL AND VEGETATIVE PROPAGATION OF *Aegiphila brachiata* Vell

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the germination potential of *Aegiphila brachiata* (peloteiro) and its propagation through stem-cuttings, and the influence of the age of parental plants and the application indolebutyric acid (IBA) and inoculant of *Azospirillum brasilense* influence adventitious rooting of the species. Thus, the physical characterization of a seed lot and a germination test were performed, both with or without seed scarification and at three gibberellin concentrations (0, 50 and 100 mg L⁻¹ GA₃). For stem-cuttings, two experiments were carried out with cuttings, one with young individuals and the other with adult trees. In both experiments, stem-cuttings were submitted to treatments with IBA (0, 1500, 3000 and 6000 mg L⁻¹) and a solution of *A. brasilense* (50% and 100% of the commercial concentration) for rooting in a greenhouse for 30 days. No seeds germinated and a barrier of radicle emission was identified in the endocarp. The inoculation of stem-cuttings with *A. brasilense* revealed no influence in rhizogenesis. The stem-cutting technique from young trees is recommended for plantlet production of this species (53.75% rooting), requiring 6000 mg L⁻¹ IBA application under the conditions that were adopted. Stem-cuttings from adult trees are not recommended for the production of plantlets of peloteiro (*A. brachiata*) due to the low rooting rates (10%) and high mortality (68.33%).

Keywords: Seeds. Stem-cuttings. Indolebutyric acid. Peloteiro. Rhizobacteria.

3.1 INTRODUÇÃO

Aegiphila brachiata Vell. (Lamiaceae), conhecida popularmente como peloteiro, é uma espécie florestal nativa, de estágio inicial de sucessão, com ocorrência no sudeste e sul do Brasil (HARLEY et al., 2015). Existem poucos estudos destinados à esta espécie; entretanto, nota-se que ela apresenta alta capacidade de produção de biomassa, rápido crescimento em condições adversas, produção de frutos de síndrome zoocórica e alta resistência às perturbações ambientais, sendo de elevado potencial para reflorestamentos destinados à recuperação de ecossistemas degradados.

Embora a questão ambiental tenha se popularizado, promovendo um aumento na demanda por mudas de espécies florestais nativas, a oferta é significativamente inferior à demanda potencial (ALMEIDA, 2016). O sucesso na produção de mudas, com finalidade econômica ou conservacionista, depende do conhecimento dos processos de formação e do poder germinativo de cada espécie, que está diretamente relacionado à qualidade fisiológica, física, sanitária e genética da semente utilizada (REGO et al., 2009).

Viveiristas apontam que a germinação de *A. brachiata* é nula, mesmo em períodos longos de observação. Segundo Santos et al. (2003), a limitação na produção de mudas de espécies nativas está relacionada a dificuldades na obtenção de sementes, além da ocorrência de dormência nas sementes, que retardam a germinação. A dormência, comum em espécies nativas, é um processo caracterizado por um atraso na germinação, devido a fatores endógenos (dormência fisiológica e morfológica), relacionados ao próprio embrião, ou por fatores exógenos, como a restrição à entrada de água pelo tegumento (dormência tegumentar) (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Um dos reguladores vegetais mais utilizados na germinação, pela superação da dormência fisiológica das sementes, é a giberelina (GA₃), que atua na síntese de enzimas-chaves, como a α -amilase, essenciais à degradação de reservas acumuladas no endosperma e embrião, liberando energia para a protrusão da radícula (TAIZ et al., 2017). Com base nisso, pesquisas organizadas são de extrema importância para identificar a eficiência ou não da propagação seminal da espécie.

A propagação vegetativa pode ser uma excelente alternativa para produção de mudas para fins ambientais, em espécies que apresentam limitações na propagação seminal (CARPANEZZI; CARPANEZZI, 2006; OLIVEIRA; RIBEIRO, 2013), garantindo uniformidade no plantio, maior produtividade e, acima de tudo, permitindo a produção de mudas durante o ano todo (XAVIER; WENDLING, SILVA, 2009; WENDLING; STUEPP; ZUFFELLATO-RIBAS, 2016).

Dentre as técnicas de propagação vegetativa, a estaquia é considerada um dos métodos mais importantes, economicamente viável, de grande simplicidade e rapidez na execução (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; HARTMANN et al., 2018; STUEPP et al., 2018). O processo de formação radicial é bastante complexo e é influenciado pela idade da planta matriz é um fator determinante no processo rizogênico, dado que propágulos provenientes de plantas em crescimento juvenil possuem maior capacidade de enraizamento do que aqueles provenientes de plantas adultas (HARTMANN et al., 2018; STUEPP et al., 2018). Ainda, a aplicação de substâncias promotoras do enraizamento, como o ácido indol butírico (IBA), pode acelerar o processo de formação de raízes e a uniformidade do enraizamento (DIAS et al., 2012; PIRES; WENDLING; BRONDANI, 2013). Além disso, produtos à base de rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPR), como os do gênero *Azospirillum*, podem produzir hormônios vegetais como auxina (MARIOSIA et al., 2017; ROSA et al., 2018), aumentando a indução radicial e qualidade da raiz (MELO et al., 2012; VOGEL; MARTINKOSKI; RUZICKI, 2014).

A fim de se obter informações relevantes sobre a produção de mudas de *A. brachiata*, o presente estudo tem por objetivos avaliar o potencial germinativo de sementes da espécie, bem como a viabilidade da propagação vegetativa por meio da técnica de estaquia. Para isso, foram avaliados o efeito da escarificação e de diferentes concentrações de GA₃ na germinação de *A. brachiata*, bem como a influência de rizobactérias (*Azospirillum brasilense*) e do ácido indol butírico (IBA) no enraizamento de estacas provenientes de matrizes rejuvenescidas e adultas.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados três experimentos: potencial germinativo de sementes de *A. brachiata* (Experimento I), eficiência da técnica de estaquia a partir de propágulos provenientes de plantas rejuvenescidas (Experimento II) e de plantas adultas (Experimento III) da espécie.

3.2.1 Experimento I – Potencial germinativo de sementes de *A. brachiata*

A coleta de frutos foi realizada de fevereiro a março de 2019, em fragmentos da Floresta Ombrófila Mista nos municípios de Campo do Tenente (25°58 'S e 49°40' W) e Bocaiúva do Sul (25°12 'S e 49°06' W), no estado do Paraná, Brasil. De acordo com a classificação Köppen, o clima da região é temperado Cfb.

Os frutos maduros recém caídos, de coloração amarela, foram coletados no solo, selecionando-se apenas aqueles que não apresentavam lesões visíveis. O beneficiamento foi realizado manualmente, despoldando-se os frutos com auxílio de peneiras. Após a extração, as sementes foram deixadas sobre papel filtro em bancada de laboratório, em temperatura ambiente, para secagem superficial.

Para caracterização física do lote, o grau de umidade (%) foi determinado em quatro repetições de 10 sementes por repetição pelo método de estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, após peso constante. O peso de mil sementes (PMS) foi obtido utilizando-se oito repetições de 100 sementes, pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001 g, de acordo com as metodologias descritas nas Regras de Análise de Sementes (Brasil, 2009). Com base nisso, o número de sementes por quilograma e a biomassa seca de 1000 sementes também foram determinadas.

Para estudo de absorção de água das sementes foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por repetição. As sementes foram colocadas em caixas plásticas transparentes, tipo “gerbox”, imersas em água destilada e mantidas em germinador tipo *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) com temperatura constante de 25°C. As avaliações foram realizadas a cada três horas nas primeiras 12 horas e depois diariamente até o vigésimo dia. Ao final de cada intervalo de tempo as sementes foram retiradas dos “gerbox”, colocadas sobre folhas de papel toalha para

retirada do excesso de umidade externa, pesadas em balança (precisão de 0,0001 g) e em seguida colocadas novamente nos gerbox e na BOD. O teor de água das sementes foi determinado a partir do grau de umidade, descrito anteriormente.

Como tratamento pré-germinativo, todas as sementes foram esterilizadas com solução de hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) por cinco minutos. O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado em um arranjo fatorial 2 x 3, com e sem escarificação e três concentrações de giberelina (0, 50 e 100 mg L⁻¹ GA₃). Cada tratamento continha oito repetições e 25 sementes por unidade experimental.

Na escarificação, as sementes foram lixadas na região oposta à micrópila com auxílio de um rebole. O plantio foi realizado em caixas “gerbox”, desinfestadas com álcool 70% e preenchidas com vermiculita de granulometria fina, umedecida com 100 ml de solução aquosa de GA₃, nas diferentes concentrações. Após o plantio das sementes, os “gerbox” foram alocados em germinador Mangelsdorf, com temperatura de 25°C e luz constante, durante 150 dias. Foi avaliada a porcentagem de germinação das sementes (%G), o índice de velocidade de germinação (IVG) e o tempo médio de germinação (TMG).

3.2.2 Experimento II - Estaquia de *A. brachiata* a partir de matrizes rejuvenescidas

Ramos herbáceos de *A. brachiata* foram coletados em 12 de dezembro de 2018 em um jardim clonal a campo com exemplares de aproximadamente 2 anos de idade e 1,2 m de altura, oriundos de mudas produzidas por estaquia caulinar, localizadas em área pertencente à Embrapa Florestas em Colombo-PR, Brasil (25°20' S e 49°14' W, 950 m). Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é temperado do tipo Cfb.

A partir do material vegetal coletado, foram confeccionadas estacas caulinares com 8 ± 1 cm de comprimento, com corte em bisel na base e reto no ápice, mantendo-se um par de folhas reduzidas à metade na porção apical. Em seguida, foi realizada a desinfestação do material com hipoclorito de sódio a 0,5% durante 10 minutos, seguida de lavagem em água corrente por 5 minutos.

Após a desinfestação, as bases das estacas foram tratadas com soluções hidroalcoólicas (50% v/v) de IBA, por 10 segundos de imersão e com soluções aquosas de Azo Total[®] (inoculante composto de *Azospirillum brasilense*, estirpes AbV5 e AbV6, na concentração de 2×10^8 unidades formadoras de colônias mL⁻¹) por 15 minutos de imersão, conforme os seguintes tratamentos: T1: testemunha, estacas sem tratamento; T2: 1500 mg L⁻¹ IBA; T3: 3000 mg L⁻¹ IBA; T4: 6000 mg L⁻¹ IBA; T5: 50% Azo Total[®] (inoculante diluído em água 1:1) e T6: 100% Azo Total[®] (inoculante puro). O IBA P. A. utilizado foi do Laboratório Sigma e o Azo Total[®] da Total Biotecnologia Indústria e Comércio Ltda.

O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno com capacidade de 53 cm³, preenchidos com vermiculita de granulometria fina, sendo as estacas enterradas $\frac{1}{3}$ de seu comprimento e mantidas em casa de vegetação climatizada com nebulização intermitente (temperatura de 24°C \pm 2°C e 80% de umidade relativa do ar).

O experimento foi implantado num delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições cada, contendo 20 estacas por unidade experimental. Após 30 dias da instalação do experimento foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de sobrevivência (estacas vivas, sem a presença de calos e sem raízes) (S); porcentagem de enraizamento (estacas vivas, com ou sem calos, que apresentaram raízes de pelo menos 1 mm de comprimento) (E); número de raízes por estaca (NR); comprimento das três maiores raízes por estaca enraizada (cm) (CMR); porcentagem de calogênese (estacas vivas, sem raízes, com formação de massa indiferenciada na base) (C); porcentagem de retenção foliar (estacas que mantiveram as folhas originais no leito de enraizamento até o momento da avaliação) (RF) e emissão de novas brotações (EB).

Neste experimento, posteriormente à avaliação, 50 estacas enraizadas foram transplantadas para vasos de 2 litros contendo substrato comercial à base de casca de pinus e vermiculita expandida, a fim de se avaliar a sobrevivência das mudas. Após o plantio, os vasos foram mantidos em casa de sombra, com 50% de sombreamento e irrigação por microaspersão (três irrigações diárias de 10 minutos e vazão de 144 L hora⁻¹), durante 15 dias, para aclimação. Posteriormente, as mudas permaneceram em área de pleno sol, com irrigação por microaspersão (três

irrigações diárias, 5 minutos duração e vazão de 144 L hora⁻¹), durante 90 dias, quando avaliou-se a porcentagem de mudas vivas.

3.2.3 Experimento III – Estaquia de *A. brachiata* a partir de matrizes adultas

Ramos semilenhosos do ano de *A. brachiata* foram coletados em 12 de dezembro de 2018, a partir de 20 matrizes adultas, de ocorrência natural, com aproximadamente 7 m de altura, localizadas em área pertencente a Embrapa Florestas, situada em Colombo-PR. (25°19' S and 49°09' W, 917 m). A metodologia e o delineamento estatístico utilizados neste experimento foram os mesmos empregados para estaquia de matrizes rejuvenescidas, mas não houve avaliação de mudas após o enraizamento.

3.2.4 Análises estatísticas

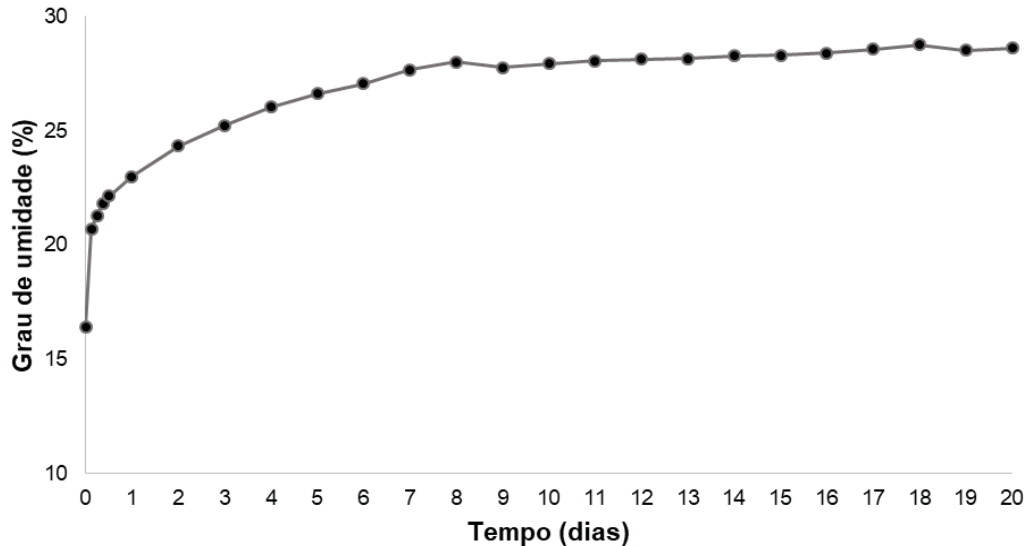
As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett ($p < 0,05$) sendo, posteriormente, submetidas à análise de variância ($p < 0,01$ e $p < 0,05$) e suas médias comparadas pelo teste de Tukey, utilizando-se o programa estatístico Assistat versão 7.7 (SILVA, 2019).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Experimento I - Potencial germinativo de sementes de *A. brachiata*

As sementes de *A. brachiata* apresentaram grau de umidade de 16,43% e peso de mil sementes igual a 568,24 g (CV% = 2,58%), resultando em 1.760 sementes por quilograma e 474,88 g de biomassa seca de mil sementes.

O teste de absorção de água das sementes do peloteiro foi realizado com o objetivo de identificar um possível impedimento tegumentar à absorção de água. Por meio da curva de embebição, apresentada na FIGURA 3.1, verifica-se um pico de absorção no primeiro dia, seguido de crescimento gradativo lento até o oitavo dia, a partir do qual a curva se estabiliza, não sendo observada a emissão de radícula.

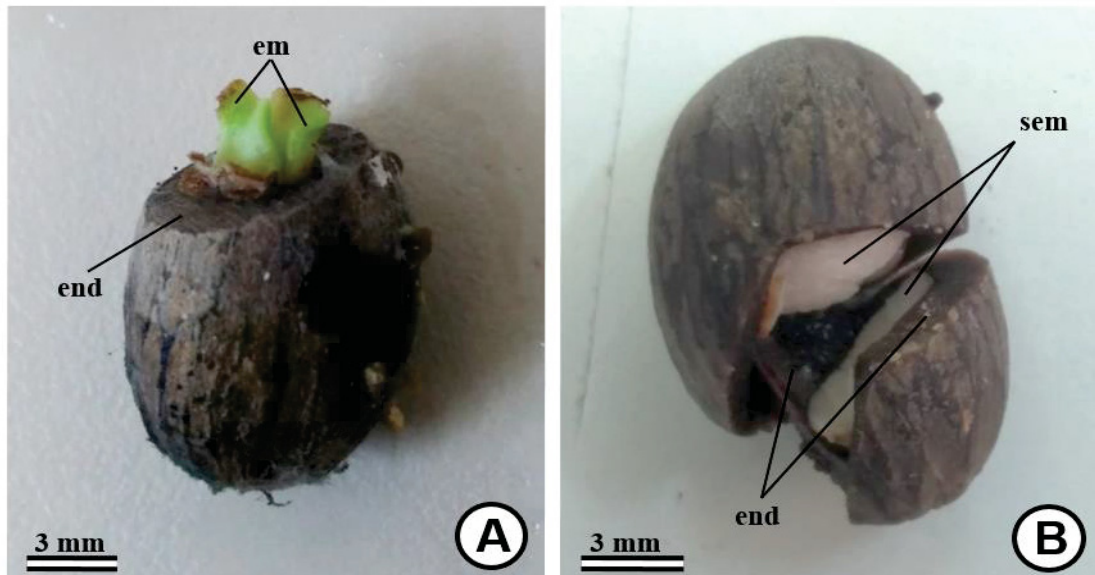
FIGURA 3.1 CURVA DE EMBEBIÇÃO DE SEMENTES DE *A. brachiata* EM ÁGUA DESTILADA

FONTE: A autora (2022).

Não foi possível realizar análise estatística para nenhuma das variáveis propostas (%G, IVG e TMG), pois ao término de 150 dias não foi observada emissão de radícula em nenhuma semente. Por mais que a escarificação tenha auxiliado no processo de absorção de água, notou-se que, em algumas sementes escarificadas, o embrião se expandiu para fora do endocarpo (FIGURA 3.2A), sem forças para emitir a radícula e, após um mês da instalação do experimento, observou-se 100% de mortalidade nas sementes escarificadas, por apodrecimento do embrião.

As sementes do peloteiro são envoltas por uma grossa camada de endocarpo córneo de, aproximadamente, 1,7 mm de espessura. Este endocarpo forma internamente uma barreira dura que fecha a micrópila, impedindo tanto a expansão do embrião como a emergência da raiz primária (FIGURA 3.2B).

FIGURA 3.2 SEMENTES DE *A. brachiata*: EMBRIÃO EXPANDINDO PARA FORA DO ENDOCARPO (A); ENDOCARPO FORMANDO UMA BARREIRA FÍSICA (B).



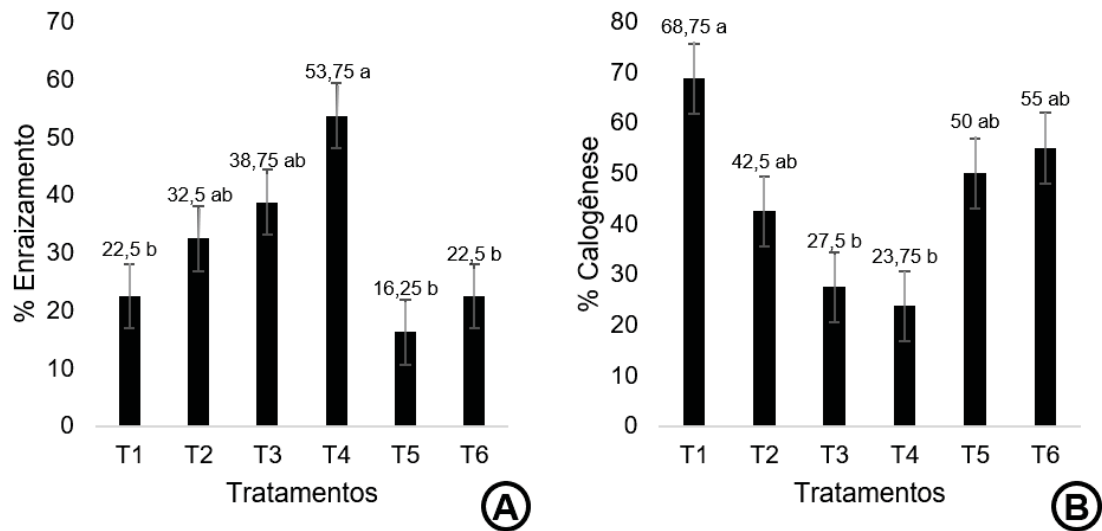
FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: em: embrião; end: endocarpo; sem: semente.

3.3.2 Experimento II – Estaquia de *A. brachiata* a partir de matrizes rejuvenescidas

De acordo com a ANOVA, houve diferença significativa ($p < 0,01$) para porcentagem de enraizamento entre os diferentes tratamentos. Nota-se pela Figura 3.3A, um incremento gradativo no enraizamento das estacas conforme aumenta-se a concentração de IBA, indicando o efeito positivo da aplicação de auxina, uma vez que a testemunha apresentou apenas 22,5% de enraizamento, enquanto na maior concentração 6000 mg L⁻¹ de IBA o enraizamento foi de 53,75%. A inoculação de *A. brasilense* não se mostrou eficiente no enraizamento adventício de *A. brachiata*, apresentando resultados inferiores ou semelhantes à testemunha (FIGURA 3.3A). Em relação à porcentagem de calogênese, houve diferença significativa ($p > 0,01$) nos tratamentos, constatando-se uma relação inversa com o enraizamento (FIGURA 3.3).

FIGURA 3.3 PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO (A) E CALOGÊNESE (B) EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE *A. brachiata* EM DIFERENTES TRATAMENTOS. T1: controle; T2: 1500 mg L⁻¹ IBA; T3: 3000 mg L⁻¹ IBA; T4: 6000 mg L⁻¹ IBA; T5: 50% Azo Total® e T6: 100% Azo Total®



FONTE: A autora (2022).

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais correspondem ao erro padrão da média.

Além disso, no presente estudo, não houve diferença significativa para as variáveis número de raízes por estaca, comprimento médio de raízes, retenção foliar e emissão de novas brotações nos tratamentos. No entanto, o maior número de raízes foi observado no tratamento com maior concentração de IBA (6000 mg L⁻¹) (TABELA 3.1), e o maior comprimento de raízes foi observado no tratamento com o uso 100% do inoculante de *A. brasilense*. Quanto às variáveis retenção foliar e emissão de novas brotações, não houve diferença significativa nos diferentes tratamentos; porém, também se observa um acréscimo nos valores conforme aumenta-se a concentração de IBA (TABELA 3.1).

Após o enraizamento das estacas e transplântio das mudas, em 90 dias verificou-se 80% de sobrevivência e um rápido crescimento das mesmas (FIGURA 3.4A). Ademais, em apenas um mês do transplântio foi observada produção de flores nas mudas (FIGURA 3.4B), afirmando a precocidade de produção por meio desta técnica de propagação, uma vez que as plantas matrizes já tinham atingido sua maturidade fisiológica.

TABELA 3.1 NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACAS (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DAS TRÊS MAIORES RAÍZES (CMR), RETENÇÃO FOLIAR (RF) E EMISSÃO DE NOVAS BROTAÇÕES (EB) EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE *A. brachiata* APÓS 30 DIAS DE PLANTIO, EM DIFERENTES TRATAMENTOS.

Tratamentos	NR	CMR (cm)	RF (%)	EB (%)
Testemunha	2,39 a	4,85 a	48,75 a	16,25 a
1500 mg L ⁻¹ IBA	4,76 a	5,14 a	56,25 a	22,50 a
3000 mg L ⁻¹ IBA	3,54 a	3,74 a	57,50 a	31,25 a
6000 mg L ⁻¹ IBA	4,90 a	4,14 a	72,50 a	48,75 a
50% Azo Total®	2,48 a	3,39 a	52,50 a	17,50 a
100% Azo Total®	3,50 a	6,77 a	57,50 a	26,25 a
Média	3,59	4,67	57,50	27,08
CV (%)	39,41	39,64	27,00	69,49

FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: CV: Coeficiente de variação. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

FIGURA 3.4 *A. brachiata*: ALTA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DAS MUDAS APÓS 90 DIAS DO TRANSPLANTIO (A); DETALHE DO FLORESCIMENTO DAS MUDAS APÓS 30 DIAS DO TRANSPLANTIO (B).

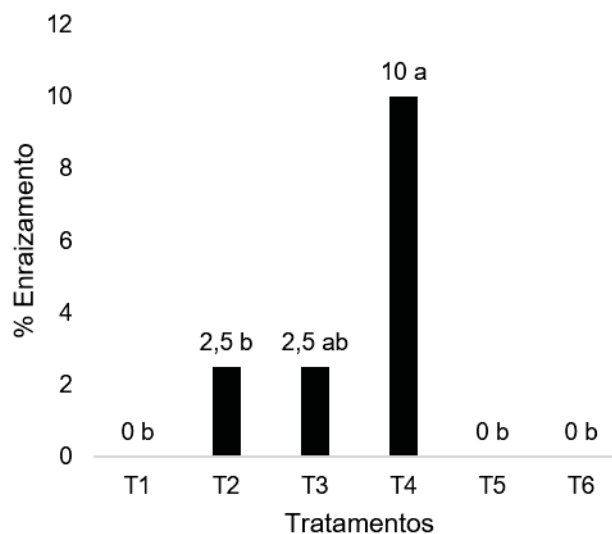


FONTE: A autora (2022).

3.3.3 Experimento III – Estaquia de *A. brachiata* a partir de matrizes adultas

Neste experimento, de acordo com a ANOVA, houve diferença significativa ($p < 0,01$) apenas para a variável porcentagem de enraizamento. Verificou-se acréscimo gradativo no enraizamento com o aumento da concentração do IBA. Todavia, os resultados são insatisfatórios, visto que a maior porcentagem de enraizamento foi 10% na concentração 6000 mg L⁻¹. Ainda, houve ausência de enraizamento na testemunha e nos tratamentos com o inoculante Azo Total® (FIGURA 3.5).

FIGURA 3.5 PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS ADULTAS DE *A. brachiata* EM DIFERENTES TRATAMENTOS. T1: controle; T2: 1500 mg L⁻¹ IBA; T3: 3000 mg L⁻¹ IBA; T4: 6000 mg L⁻¹ IBA; T5: 50% Azo Total® e T6: 100% Azo Total®.



FONTE: A autora (2022).

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Pela TABELA 3.2 nota-se que não houve diferença significativa entre as médias para nenhuma das demais variáveis nos diferentes tratamentos, de acordo com o teste de comparação de médias. No entanto, percebe-se um acréscimo no número e comprimento de raízes com o aumento da concentração de IBA.

De forma geral, a porcentagem de calogênese e sobrevivência das estacas foram baixas em todos os tratamentos, bem como a indução de novas brotações

(TABELA 3.2). Além disso, nota-se uma baixa porcentagem de retenção foliar (média geral de 30%).

TABELA 3.2 NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACAS (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES (CMR), PORCENTAGEM DE CALOGÊNESE (C), SOBREVIVÊNCIA (S), EMISSÃO DE NOVAS BROTAÇÕES (EB) E RETENÇÃO FOLIAR (RF) EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE *A. brachiata* APÓS 30 DIAS DE PLANTIO, EM DIFERENTES TRATAMENTOS.

Tratamentos	NR	CMR (cm)	C (%)	S (%)	EB (%)	RF (%)
0 mg L ⁻¹	0,00 a	0,00 a	8,75 a	25,00 a	8,75 a	28,75 a
1500 mg L ⁻¹ IBA	1,25 a	0,35 a	12,50 a	16,25 a	3,75 a	26,25 a
3000 mg L ⁻¹ IBA	1,75 a	0,60 a	6,25 a	11,25 a	3,75 a	20,00 a
6000 mg L ⁻¹ IBA	2,00 a	1,33 a	12,50 a	18,75 a	6,25 a	41,25 a
50% Azo Total®	0,00 a	0,00 a	12,50 a	26,25 a	5,00 a	38,75 a
100% Azo Total®	0,00 a	0,00 a	13,75 a	11,25 a	3,70 a	25,00 a
Média	0,83	0,38	11,04	18,12	5,21	30,00
CV (%)	206,88	187,48	93,81	63,62	89,80	43,92

FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: CV: Coeficiente de variação. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.4 DISCUSSÃO

3.4.1 Experimento I - Potencial germinativo de sementes de *A. brachiata*

A principal finalidade da análise física de sementes é determinar a qualidade de um lote e seu valor para a semeadura e armazenamento, uma vez que a qualidade pode ser vista como um padrão de excelência em certos atributos que vão determinar o desempenho das sementes na germinação (BRÜNING; LÚCIO; MUNIZ, 2011). Não há estudos anteriores sobre o comportamento de sementes da espécie, tanto na descrição física do lote quanto na sua germinação.

Aqui, o peso de 1000 sementes de *A. brachiata* foi de 568,24 g, com 1760 sementes por quilograma. Em comparação, *Aegiphila integrifolia*, espécie muito comum do gênero, apresenta sementes bem menores, resultando em 26.075 sementes por quilograma (FRIGIERI et al., 2016). Segundo Gonçalves et al. (2013), as análises biométricas das sementes são muito

importantes pois auxiliam na determinação de mecanismos de dispersão, bem como na diferenciação entre espécies do mesmo gênero, além da identificação da variabilidade genética dentro e entre as populações.

As sementes de *A. brachiata* apresentaram grau de umidade de 16,43%. Não há relatos na literatura que descrevam a tolerância da espécie à dessecação e armazenamento. No entanto, as sementes de *Aegiphila sellowiana* são descritas como intermediárias quanto à sua tolerância ao dessecamento (MAYRINCK; AFONSO; DAVIDE, 2016), apresentando teores de água de até 14,7% (NASCIMENTO; LAFETA; FERREIRA, 2017). A resposta das sementes varia amplamente de uma espécie para outra, o que leva alguns autores a postular níveis de recalcitrância ou graus de tolerância à dessecação, variando de altamente intolerante a altamente tolerante (BARBEDO; CENTENO; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 2013). Assim, são necessários mais estudos para desenvolver tecnologia para produção e armazenamento eficientes de sementes de *A. brachiata*.

O processo de germinação de sementes inicia com a embebição de água, que possibilita a ativação do metabolismo no embrião, que por sua vez emite a radícula e se desenvolve até o estabelecimento da plântula. Este processo ocorre segundo um padrão trifásico de embebição. A primeira fase é caracterizada por uma rápida absorção de água, geralmente nas primeiras horas, devido a diferença de potencial hídrico entre a semente e o meio. Na fase II do processo de embebição ocorre intenso transporte das substâncias quebradas na fase I, do tecido de reserva para o tecido meristemático, e estabilização na absorção de água. Já na fase III, ocorre um novo pico de absorção de água, como consequência da germinação (BEWLEY; BLACK, 1994). Embora tenha sido observada uma rápida absorção nas primeiras horas de embebição (FIGURA 3.1), o conteúdo de água nas sementes aumentou apenas 6,56% no primeiro dia, indicando que o grau de umidade passou de 16,43% para apenas 23%. Segundo Carvalho e Nakagawa (2012), a germinação de sementes cotiledonares ocorre quando na fase I do processo de embebição o conteúdo de água na semente oscila de 35 a 40%. Esses percentuais são quase o dobro do observado no presente estudo, indicando que a cobertura que envolve as sementes de *A. brachiata* pode ser consideravelmente impermeável, dificultando a absorção da água.

Durante a fase II do processo de embebição ocorre intenso transporte das substâncias quebradas na fase I, do tecido de reserva para o tecido meristemático, e estabilização na absorção de água. Já na fase III, ocorre um novo pico de absorção de água, como consequência da germinação (BEWLEY; BLACK, 1994). Ainda que tenha ocorrido uma estabilização na absorção de água das sementes de *A. brachiata*, característica da segunda fase, até o vigésimo dia elas não adentraram na terceira fase do processo de embebição, não sendo observada a emissão da radícula. Esses resultados sugerem que as sementes da espécie apresentam alguma restrição à absorção de água, como dormência tegumentar.

Como apresentado anteriormente, não houve germinação de nenhuma semente após 150 dias de instalação do experimento. De acordo com Santos et al. (2003), a propagação de espécies nativas é, frequentemente, limitada pela ocorrência de dormência nas sementes, o que retarda a sua germinação. Uma das principais razões da dormência nas sementes decorre da restrição à entrada de água pelo tegumento. No entanto, no presente estudo embora a escarificação tenha auxiliado no processo de absorção de água, o endocarpo que envolve a semente forma internamente uma barreira dura que fecha a micrópila, impedindo tanto a expansão do embrião como a emergência da raiz primária.

Situação parecida é observada em sementes de *Bertholletia excelsa* (castanha-do-brasil), que apresenta, externamente à semente, um endocarpo duro e de pouca permeabilidade à água, que confere resistência à emissão da radícula. Em germinação de castanha-do-brasil, observa-se que sementes com o endocarpo levam de 12 a 18 meses para germinar, enquanto que sementes sem o endocarpo germinam de 20 a 30 dias (MAUÉS et al., 2015). Com base nisso, novos estudos podem ser realizados com a retirada do endocarpo na germinação de sementes de *A. brachiata*. Todavia, este é um processo trabalhoso, delicado e que requer prática, para não causar danos à semente.

3.4.2 Experimento II – Estaquia de *A. brachiata* a partir de matrizes rejuvenescidas

Houve um efeito positivo da aplicação de auxina no enraizamento adventício de *A. brachiata*. Quando o nível endógeno de auxina na planta é insuficiente, a

aplicação de auxinas sintéticas mais estáveis, como o IBA, é importante para promover um equilíbrio hormonal adequado que favoreça a indução radicial (PIRES; WENDLING; BRONDANI, 2013). No entanto, a concentração ideal de aplicação destes reguladores vegetais varia de acordo com o nível endógeno de ácido indol acético (IAA) em cada espécie, hormônio responsável pela formação de raízes (ERTURK et al., 2010; HARTMANN et al., 2018), da idade da planta matriz (STUEPP et al., 2018), da época de coleta dos propágulos (OLIVEIRA; RIBEIRO, 2013), do substrato (ARI, 2016), dentre outros fatores.

Alguns autores relatam o potencial efeito das rizobactérias no enraizamento, sendo estes microrganismos capazes de produzirem auxinas endógenas (IAA) nas plantas (ERTURK et al., 2010; MARIOSA et al., 2017). Por mais que seja evidente a insuficiência do nível endógeno de auxina na espécie em estudo, o uso de Azo Total® não apresentou efeito positivo na indução radicial. Esses resultados sugerem baixa suscetibilidade da espécie à penetração e colonização desses microrganismos, sem resposta à inoculação.

A porcentagem de calogênese foi inversamente proporcional ao enraizamento adventício. A formação de calos pode indicar baixa juvenildade do material propagado, condições ambientais favoráveis para enraizamento e equilíbrio entre concentrações endógenas de auxina e citocinina (IKEUCHI; SUGIMOTO; IWASE, 2013; NASRI et al., 2015; HARTMANN et al., 2018). Sabe-se que a formação de raízes adventícias pode ocorrer a partir do calo. Esta rota de rizogênese ocorre quando as células de divisão não orientada formam calos, os quais são grupos de células de crescimento desorganizado que, ao se dividirem de forma organizada, se diferenciam em raízes adventícias (HARTMANN et al., 2018). Deste modo, provavelmente, a aplicação de IBA antecipou a diferenciação celular nas estacas do peloteiro, contribuindo com o surgimento de raízes adventícias a partir das células parenquimáticas indiferenciadas, num processo chamado rizogênese indireta, visto que todas estacas enraizadas apresentaram ocorrência simultânea de calosidade.

O maior número de raízes foi observado no tratamento com maior concentração de IBA, demonstrando a eficiência deste regulador vegetal. Além disso, embora não tenha sido eficiente na indução radicial da espécie, nota-se um

potencial uso de *A. brasiliense* no desenvolvimento das raízes, podendo auxiliar na sobrevivência das mudas a campo. Desta forma, novos estudos são necessários para provar a eficiência da combinação do IBA com rizobactérias, no qual o IBA poderia auxiliar na indução de raízes e as rizobactérias no crescimento das mesmas. Além da indução radicial, as variáveis número de raízes por estaca e comprimento médio de raízes são de extrema importância, por garantirem o sucesso do plantio das mudas a campo. Mudanças com sistema radicial de melhor qualidade tendem a ter uma maior sobrevivência e desenvolvimento a campo, pela melhor fixação ao solo, e por contribuírem com uma absorção mais eficiente de água e nutrientes (REIS et al., 2000).

A aplicação de IBA também favoreceu a retenção foliar e a emissão de novas brotações. A importância da retenção foliar, ou seja, a manutenção das folhas deixadas no momento da confecção das estacas, está diretamente relacionada à indução radicial, principalmente por este órgão atuar no fornecimento de certos compostos, como carboidratos, auxinas e cofatores do enraizamento, os quais podem ser translocados via floema à base das estacas, estimulando, desse modo, a formação de raízes (FRAGOSO et al., 2015).

De acordo com Hartmann et al. (2018), as vantagens da propagação vegetativa estão relacionadas com o estabelecimento de genótipos superiores, com características genéticas idênticas à planta matriz (clone), permitindo homogeneidade de produção e florescimento acelerado. Assim, considerando os problemas já mencionados em relação à propagação seminal apresentada no Experimento I, aliado ao bom desempenho de sobrevivência e crescimento das mudas após o transplantio, não só reforçam a eficiência da técnica de estaquia para produção de mudas da espécie, como enfatizam o sucesso desta técnica na redução do período juvenil, com antecipação do florescimento e posterior produção de frutos.

3.4.3 Experimento III – Estaquia de *A. brachiata* a partir de matrizes adultas

Os resultados com estaquia de matrizes adultas foram insatisfatórios devido aos baixos percentuais de enraizamento mesmo com a aplicação do IBA e, à

ausência de enraizamento no controle e nos tratamentos com o inoculante Azo Total®. Alguns autores relatam que as rizobactérias são capazes de produzirem auxinas endógenas (IAA) nas plantas, auxiliando no enraizamento (ERTURK et al., 2010; MARIOSIA et al., 2017). No entanto, os resultados obtidos discordam da literatura, sugerindo que o nível de auxina endógena na planta foi insuficiente para promover a indução radicial, e que a espécie apresenta baixa suscetibilidade à penetração e colonização de rizobactérias, pois não respondeu à inoculação.

A utilização de propágulos maduros na propagação vegetativa tem por objetivo principal a obtenção da maior variabilidade genética possível, pela possibilidade de coleta de um grande número de plantas matrizes. Quando a finalidade na produção de mudas de espécies nativas é ambiental, é necessário garantir a variabilidade genética, sendo importante que os propágulos sejam coletados de um número mínimo de matrizes (CARPANEZZI; CARPANEZZI, 2006). Todavia, a maior consequência da maturação em espécies lenhosas é a redução na capacidade regenerativa, refletida diretamente na indução radicial e vigor do enraizamento, ou seja, propágulos provenientes de plantas adultas possuem menor capacidade de enraizamento do que aqueles provenientes de plantas em crescimento juvenil. Isso porque o material vegetal que contém características juvenis possui condições fisiológicas, tais como o balanço hormonal, que favorecem o enraizamento (DIAS et al., 2012; WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014; HARTMANN et al., 2018; STUEPP et al., 2018). Desta forma, o estado de maturação do propágulo vegetativo pode ter influenciado negativamente o enraizamento adventício da espécie em estudo, visto que no tratamento testemunha houve ausência de indução radicial.

A aplicação exógena de auxinas, como o IBA, tem efeito positivo no enraizamento adventício, auxiliando na formação de um sistema radicial vigoroso, com qualidade e quantidade de raízes, aumentando a porcentagem, uniformidade e velocidade do enraizamento (DIAS et al., 2012; PIRES; WENDLING; BRONDANI, 2013). Embora não tenha sido observada diferença significativa, percebe-se um acréscimo no número e comprimento de raízes com o aumento da concentração de IBA, reforçando o potencial da aplicação desse regulador vegetal no enraizamento adventício da espécie.

Analisando os baixos valores encontrados para as demais variáveis (calogênese, sobrevivência, mortalidade, emissão de novas brotações e retenção foliar), esses resultados estão, possivelmente, relacionado à insuficiência de carboidratos nas estacas como recurso energético, sendo consequência do estágio de lignificação pela utilização de propágulos maduros, contribuindo com índices baixos de enraizamento e elevada mortalidade das estacas (média geral de 68,33%).

A retenção de folhas é importante para o enraizamento e sobrevivência de estacas. O gradiente de auxina nos segmentos é um fator importante para a indução da zona de abscisão, com baixos níveis de auxina endógenos, levando à formação da camada de abscisão na base do pecíolo da folha, que é sensível ao equilíbrio auxina/etileno, causando queda precoce da folha, pois auxina suprime o efeito etileno (ITO; NAKANO, 2015; TAIZ et al., 2017; MARASEK-CIOLAKOWSKA et al., 2020).

Este fato é justificado pela maior porcentagem de retenção foliar (41,25%) ser observada no tratamento com aplicação da maior concentração do IBA (6000 mg L⁻¹), aliado à ausência de enraizamento no tratamento testemunha, indicando que os níveis endógenos de auxina eram insuficientes para promoverem o enraizamento da espécie, bem como para garantirem a sobrevivência das estacas.

Assim, a utilização de propágulos provenientes de matrizes adultas não é indicada para propagação vegetativa de *A. brachiata* por apresentar baixos índices de enraizamento e elevada mortalidade.

3.5 CONCLUSÕES

Sementes de *A. brachiata* possuem baixo potencial germinativo, devido à uma barreira física do endocarpo, não somente à absorção de água como à emissão da radícula.

A estaquia por meio de propágulos provenientes de matrizes rejuvenescidas é viável e recomendada para produção de mudas do peloteiro. A adição exógena de ácido indol butírico (IBA) é necessária para indução radicial, sendo a concentração

de 6000 mg L⁻¹ a mais indicada. A inoculação de *Azospirillum brasilense* em estacas não influencia a rizogênese da espécie.

A estaquia com o uso de propágulos provenientes de matrizes adultas não é indicada para produção de mudas de *A. brachiata*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro. E ao Doutor Antonio Carlos Nogueira por toda a contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

3.6 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D.S. **Recuperação ambiental da mata atlântica** (online). 3. ed. Ilhéus, BA: Editus, 2016.

ARI, E. Effects of different substrates and IBA concentrations on adventitious rooting of native *Vitex agnus-castus* L. cuttings. **Acta Scientiarum Polonorum**, v. 15, n. 2, p. 27-41, 2016.

BARBEDO, C.J.; CENTENO, D.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Do recalcitrant seeds really exist? **Hoehnea**, v. 40, p. 583-593, 2013.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009.

BRÜNING, F.O.; LÚCIO, A.D.; MUNIZ, M.F. B. Padrões para germinação, pureza, umidade e peso de mil sementes em análises de sementes de espécies florestais nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 2, p. 193-202, 2011.

CARPANEZZI, A.A.; CARPANEZZI, O.T.B. **Espécies nativas recomendadas para recuperação ambiental no Estado do Paraná, em solos não degradados**. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 52p. (Embrapa Florestas. Documentos, 136).

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012.

DIAS, C.D.; OLIVEIRA, L.S.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 72, p. 453- 462, 2012.

ERTURK, Y.; ERCISLI, S.; HAZNEDAR, A.; CAKMAKCI, R. Effects of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. **Biological Research**, v. 43, p. 91-98, 2010.

FRAGOSO, R.O.; WITT, N.G.P.M.; OBRZUT, V.V.; VALÉRIO, S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; STUEPP, C.A. Maintenance of leaves and indolebutyric acid in rooting of juvenile *Japanese Flowering Cherry* cuttings. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 97-101, 2015.

FRIGIERI, F. F.; IWANICKI, N. S.; GANDARA, F. B.; FERRAZ, E. M.; ROMÃO, G. O.; COLETTI, G. F.; SOUZA, V. C.; MORENO, M. A. **Guia de plântulas e sementes da Mata Atlântica do estado de São Paulo**. Piracicaba: IPEF, 2016.

GONÇALVES, L.G.V.; ANDRADE, F.R.; MARIMON JUNIOR, B.H.; SCHOSSLER, T.R.; LENZA, E.; MARIMON, B.S. Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancronia speciosa* Gomes) em vegetação natural na região de Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 26, n. 1, p. 31-40, 2013.

HARLEY, R.; FRANÇA, F.; SANTOS, E.P.; SANTOS, J.S.; PASTORE, J.F. **Lamiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8104>>. Acesso em: 24 maio 2019.

HARTMANN, H. T.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L.; WILSON, S. B. Plant propagation: principles and practices. Ninth edition ed. NY, NY: Pearson, 2018.

IKEUCHI, M; SUGIMOTO, K.; IWASE, A. Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. **The Plant Cell**, v. 25, p. 3159–3173, 2013.

ITO, Y.; NAKANO, T. Development and regulation of pedicel abscission in tomato. **Frontiers Plant Science**, v.8, p.442, 2015.

MARASEK-CIOLAKOWSKA, A., SANIEWSKI, M., DZIURKA, M., KOWALSKA, U., GÓRAJ-KONIARSKA, J., UEDA, J., & MIYAMOTO, K. Formation of the secondary abscission zone induced by the interaction of methyl jasmonate and auxin in *Bryophyllum calycinum*: Relevance to auxin status and histology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 8, p. 2784, 2020.

MARIOSIA, T.N.O.; MELLONI, E.G.P.; MELLONI, R.; FERREIRA, G.M.R.; SOUZA, S.M.P.; SILVA, L.F.O. Rizobactérias e desenvolvimento de mudas a partir de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.). **Revista Ciências Agrárias**, v. 60, n. 4, p. 302-306, 2017.

MAUÉS, M.; KRUG, C.; WADT, L.H.O.; DRUMOND, P.M.; CAVALCANTE, M.C.; SANTOS, A.C.S. **A castanheira-do-Brasil: avanços no conhecimento das práticas amigáveis à polinização**. Rio de Janeiro: Funbio, 2015.

MAYRINCK, R.C.; AFONSO, T.A.V.; DAVIDE, A.C. Classificação fisiológica de sementes florestais quanto à tolerância à dessecação e ao comportamento no armazenamento. **Cerne**, v. 22, n. 1, p. 85-92, 2016.

MELO, L.C.; OLIVEIRA, C.V.; MANFREDI, C.; BALDANI, V.L.D.; FERREIRA, J.S. Efeito de bactérias na promoção do enraizamento em clone de eucalipto. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n.15, p.736-748, 2012.

NASCIMENTO, P.; LAFETA, B. O.; FERREIRA, J. C. B. Pre-germination treatments and their relation with *Aegiphila sellowiana* Cham seeds germination. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 11, n. 5, p. 69-79, 2017.

NASRI, F.; FADAKAR, A.; SABA, M.K.; YOUSEF, B. study of indole butyric acid (IBA) effects on cutting rooting improving some of wild genotypes of damask roses (*Rosa damascena* Mill.). **Journal of Agricultural Sciences**, v. 60, n. 3, p. 263-275, 2015.

OLIVEIRA, M. C.; RIBEIRO, J. F. Enraizamento de estacas de *Euplassa inaequalis* (Pohl) Engl. de mata de galeria em diferentes estações do ano. **Bioscience Journal**, v. 29, p. 991-999, 2013.

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

REGO, S.S.; NOGUERIA, A.C.; KUNIYOSHI, Y.S.; SANTOS, A.F. Germinação de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. em diferentes substratos e condições de temperatura, luz e umidade. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 212- 220, 2009.

REIS, J.M.R.; CHALFUN, N.N.; LIMA, L.C.O.; LIMA, L.C. Efeito do estiolamento e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência Agrotécnica**, v. 24, n. 4, p. 931-938, 2000.

ROSA, D.D.; VILLA, F.; DA SILVA, D.F.; CARBARI, F. Rooting of semihardwood cuttings of olive: indolbutyric acid, calcium and *Azospirillum brasilense*. **Comunicata Scientiae**, v. 9, n. 1, p. 34-40, 2018.

SANTOS, M.R.A.; PAIVA, R.; GOMES, G.A.C.; PAIVA, P.D.O.; PAIVA, L.V. Estudos sobre superação de dormência em sementes de *Smilax japecanga* Grisebach. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 2, p. 319-324, 2003.

SILVA, F. A. S. **ASSISTAT** - Assistência Estatística - versão 7.7 beta (pt). Programa computacional. Universidade Federal de Campina Grande Campus de Campina Grande-PB - DEAG/CTRN. 2014. Disponível em: <<http://www.assistat.com/>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

STUEPP, C. A.; WENDLING, I.; XAVIER, A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 53, n. 9, p. 985-1002, 2018.

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

VOGEL, G. F.; MARTINKOSKI, L.; RUZICKI, M. Efeitos da utilização de *Azospirillum brasilense* em poáceas forrageiras: importâncias e resultados. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 10, n. 1, p. 1-6, 2014.

WENDLING, I.; STUEPP, C. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Araucaria clonal forestry: types of cuttings and mother tree sex in field survival and growth. **Cerne**, v. 22, n. 1, p. 19- 26, 2016.

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, p. 449-471, 2014.

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

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

4 CAPÍTULO II - ANÁLISES MORFOBIOMÉTRICAS DE FRUTO, SEMENTE E PLÂNTULA E GERMINAÇÃO DE *Aegiphila brachiata* Vell.

RESUMO

Aegiphila brachiata (peloteiro) é uma espécie florestal nativa do Brasil, com enorme potencial para uso em restauração ecológica. Devido à escassez de estudos referentes à espécie, objetivou-se com o presente trabalho caracterizar a morfobiometria de fruto, semente e plântula e avaliar a germinação conforme diferentes métodos de superação de dormência mecânica e diferentes temperaturas. Foram determinadas as características físicas, além da descrição morfológica interna e externa dos frutos e sementes, fases da germinação e desenvolvimento inicial da plântula. O teste de germinação foi executado num delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x3, sendo dois métodos de superação de dormência (retirada parcial e total do endocarpo) e três temperaturas (20, 25 e 30°C), com oito repetições de 25 sementes. Determinou-se a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação. Os frutos são do tipo carnoso indeiscente com cálice persistente. O pirênio é constituído pelo endocarpo e a semente, sendo as sementes exalbuminosas, com embrião axial. A germinação é hipógea e a plântula criptocotiledonar. A retirada total do endocarpo é o método mais indicado para superação da dormência mecânica (28,50% de germinação) e as temperaturas de 25 e 30°C são recomendadas para germinação.

Palavras-chave: Lamiaceae, espécie nativa, peloteiro, temperatura, dormência mecânica.

**MORPHOBIOMETRIC ANALYSES OF FRUITS, SEEDS AND SEEDLINGS AND
GERMINATION OF *Aegiphila brachiata* Vell.**

ABSTRACT

Aegiphila brachiata (peloteiro) is a native Brazilian forest species with enormous potential for use in environmental restoration. Due to the scarcity of studies related to the species, the objective of this study was to characterize the morphobiometry of fruit, seed and seedling and to evaluate the germination, submitted to different methods of overcoming mechanical dormancy and different temperatures. Physical characteristics were determined, in addition to the internal and external morphological description of fruits and seed, germination phases and initial seedling development. The germination test was performed in a completely randomized design, in a 2x3 factorial scheme, being two methods of overcoming dormancy (partial and total removal of the endocarp) and three temperatures (20, 25 and 30°C), with eight replications of 25 seeds. Germination percentage, germination speed index and mean germination time were determined. The fruits are of the indeiscent fleshy type with persistent calice. The pyrene consists of the endocarp and the seed, and the seeds are exalbuminous, with axial embryo. Germination is hypogeal and the cryptocotyledonar seedling. Total endocarp removal is the most indicated method for overcoming mechanical dormancy (28.50% of germination) and temperatures of 25 and 30°C are recommended for germination.

Key-words: Lamiaceae, native specie, peloteiro, temperature, mechanical dormancy.

4.1 INTRODUÇÃO

Pesquisas relacionadas às espécies florestais nativas são importantes do ponto de vista ecológico, pois auxiliam no planejamento de projetos de restauração ambiental (ROCHA et al., 2014; GARRETT et al., 2020). *Aegiphila brachiata* Vell. (Lamiaceae), conhecida como peloteiro, é nativa das regiões Sudeste e Sul do Brasil, principalmente na Floresta Ombrófila Mista (FRANÇA, 2003; HARLEY et al., 2015). Trata-se de uma planta lenhosa, decídua, de estágio inicial de sucessão, podendo atingir até 7 m de altura (TRONCOSO, 1974; FRANÇA, 2003).

A espécie apresenta baixo potencial de germinação em consequência de uma barreira física provocada pelo endocarpo, a qual impede a absorção de água e a emissão da radícula. Os autores verificaram ausência de germinação após 150 dias de observações e relatam que o tratamento com sementes escarificadas resultou em 100% de mortalidade, devido ao apodrecimento do embrião. Com base nisso, pesquisas organizadas são de extrema importância para identificar e melhorar a eficiência da propagação seminal da espécie (MAGGIONI et al., 2020).

O conhecimento das estruturas morfológicas em espécies florestais nativas auxilia na identificação taxonômica e na compreensão da autoecologia das espécies, dos mecanismos de dispersão, ciclo biológico, processo regenerativo, crescimento e desenvolvimento, além da propagação e expansão do comércio de sementes e mudas (BATISTA et al., 2011; ALVES et al., 2013; GOGOSZ et al., 2015). Além disso, estudos relacionados à biometria de frutos e sementes podem fornecer subsídios importantes na determinação das características de dispersão, diferenciação de espécies e variabilidade genética dentro da população (SANTOS et al., 2009; GONÇALVES et al., 2013).

Testes laboratoriais sob condições controladas são importantes na produção do conhecimento referente ao potencial germinativo das sementes (DUARTE et al., 2015). Características como viabilidade, dormência, condições do ambiente (água, luz, temperatura), tipo de substrato, além de possíveis barreiras à germinação, determinam diferentes respostas para cada espécie (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012), o que torna prioritário o conhecimento dessas condições em estudos de sementes florestais.

Diante do exposto, a presente pesquisa teve por objetivos caracterizar a morfobiometria de fruto, semente e plântula e avaliar o potencial germinativo de sementes de *A. brachiata*, submetidas a diferentes métodos de superação de dormência mecânica em diferentes temperaturas.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Coleta e beneficiamento

Os frutos maduros, de coloração amarela, foram coletados do chão, logo após sua queda. A coleta de frutos foi realizada no período de fevereiro a março de 2020, em fragmentos da Floresta Ombrófila Mista localizados nos municípios de Campo do Tenente (25° 59' 55" S e 49° 40' 6" W) e de Bocaiúva do Sul (25° 11' 46" S e 49° 6' 34" W), no Estado do Paraná, Brasil.

Os frutos foram transportados até o Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Ciências Florestais, da Universidade Federal do Paraná (UFPR) em Curitiba-PR, para beneficiamento e posterior realização dos experimentos. Após a despolpa em água corrente, com auxílio de peneiras, os pirênios (endocarpo + semente) foram colocados para secar em ambiente natural de laboratório para a perda do excesso de água (aproximadamente 24 horas).

4.2.2 Morfobiometria de frutos, sementes e plântulas e caracterização física das sementes

Para caracterização biométrica do fruto, pirênio e semente de *A. brachiata*, utilizaram-se 50 unidades tomadas aleatoriamente do lote. O comprimento e o diâmetro dos frutos e pirênios foram mensurados com o auxílio de um paquímetro digital, sendo considerados o eixo longitudinal como o comprimento e o diâmetro em ângulo reto com o eixo anterior na parte mais larga. Para sementes foram considerados comprimento, largura e espessura. A pesagem de frutos, pirênios e sementes foi realizada em balança analítica. A porcentagem de polpa (mesocarpo + epicarpo) foi determinada com base na diferença entre a massa total dos frutos e a

massa dos pirênios, sendo a porcentagem calculada na divisão da massa da polpa pela massa do fruto. Foram determinados os valores mínimos e máximos, as médias, desvio padrão e o coeficiente de variação para cada variável.

Para caracterização física do lote, o grau de umidade (%) foi determinado em quatro repetições de 25 sementes pelo método de estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, e o peso de mil sementes (PMS) foi obtido utilizando-se oito repetições de 100 sementes, pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001 g, de acordo com as metodologias descritas nas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009a). Com base nisso, o número de sementes por quilograma e a biomassa seca de 1000 sementes também foram determinados.

Para descrição e ilustração morfológica dos frutos e sementes, utilizou-se uma amostra de trabalho de 50 unidades. Os frutos foram descritos em: tipo, deiscência, características do epicarpo (textura, cor), mesocarpo (consistência e cor) e endocarpo (consistência e cor). As sementes foram descritas nos aspectos externos e internos. Os aspectos externos observados foram: cor, textura e consistência do tegumento, posição do hilo e micrópila. Para o estudo da morfologia interna, as sementes foram hidratadas em água destilada e, com auxílio de lâmina de bisturi, foram feitas seções transversais e longitudinais, sendo identificadas e ilustradas as seguintes características: presença ou ausência de endosperma, tipo de embrião, cor e forma do eixo embrionário.

Para caracterizar as plântulas e os estádios de germinação, 10 sementes germinadas (sem endocarpo) foram inseridas em bandejas plásticas contendo substrato vermiculita e mantidas em câmara de germinação tipo Biochemical Oxygen Demand (BOD) à uma temperatura de 25°C e luz branca constante. As observações do desenvolvimento foram realizadas diariamente após o início da germinação, sendo as mudas observadas do 1° ao 15° dias após a germinação. Nesta etapa, foram descritos e ilustrados: tipo de germinação, hipocótilo, epicótilo, cotilédones e eófilo.

As observações foram realizadas com o auxílio de microscópio estereoscópico de mesa e a olho nú. As ilustrações foram feitas manualmente e as denominações utilizadas para descrever frutos, sementes e plântulas de *A. brachiata*

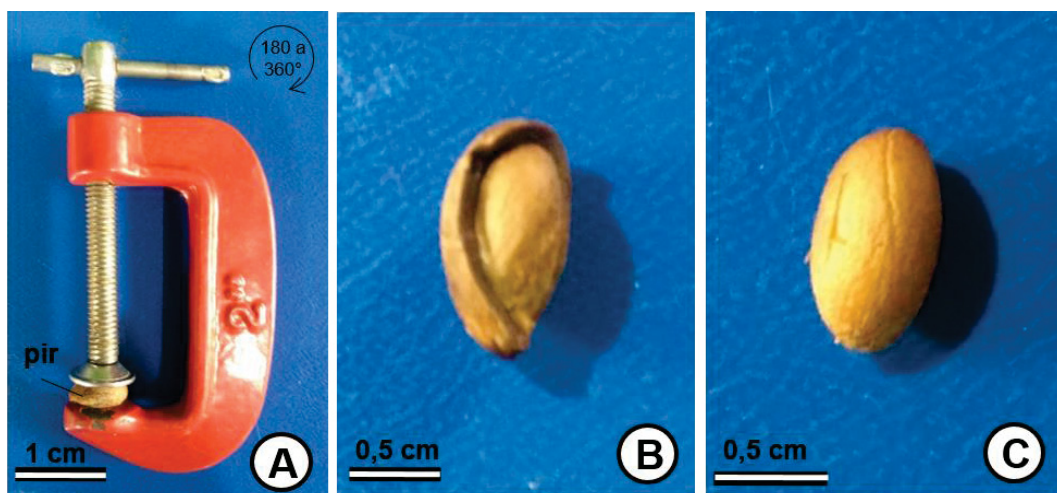
foram baseadas no trabalho de Barroso (1999) e no Glossário Ilustrado de Morfologia (BRASIL, 2009b).

4.2.3 Superação de dormência e temperaturas para germinação em laboratório

Como tratamento pré-germinativo, todas as sementes foram esterilizadas com solução de hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) por cinco minutos, seguida de lavagem em água corrente. Posteriormente, foram aplicados os tratamentos de retirada parcial e total do endocarpo.

Para superação da dormência mecânica, desenvolveu-se, em condição inédita, a metodologia “grampo sargento” para remoção parcial e total do endocarpo utilizando-se um grampo sargento tipo C 2”. Cada pirênio foi colocado no grampo sargento tipo C 2” e, após fixado (FIGURA 4.1A), submetido a uma pressão de 180 a 360° no sentido horário, contando-se um estalo decorrente da quebra do endocarpo para retirada parcial do mesmo (FIGURA 4.1B), e dois estalos para retirada total do endocarpo (FIGURA 4.1C).

FIGURA 4.1 METODOLOGIA DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA MECÂNICA EM *A. brachiata*: GRAMPO SARGENTO (A); RETIRADA PARCIAL DO ENDOCARPO (B); RETIRADA TOTAL DO ENDOCARPO (C).



FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: pir: pirênio.

A fim de avaliar o efeito dos dois métodos de superação de dormência (retirada parcial e total do endocarpo) e três temperaturas de germinação (20, 25 e 30°C), o experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado em um arranjo fatorial 2 x 3. Cada tratamento foi composto por oito repetições e 25 sementes por unidade experimental.

O teste de germinação foi realizado em caixas “gerbox”, desinfestadas com álcool 70% e preenchidas com vermiculita de granulometria fina (aproximadamente 30 g), umedecida com 100 mL de água destilada. As caixas foram alocadas em germinadores do tipo Mangelsdorf, nas três temperaturas e sob luz branca constante. Foi realizada a reposição da água sempre que necessário.

As avaliações ocorreram diariamente, iniciadas no primeiro dia após a instalação do experimento e continuaram por três dias consecutivos até a estabilização da germinação, após 36 dias de experimento. O critério de germinação adotado foi a protrusão da raiz primária, de aproximadamente 3 mm de comprimento. Após o encerramento dos experimentos, as sementes que não germinaram foram classificadas como sementes duras ou sementes atacadas por fungos.

Foram calculados o percentual de germinação, o índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962) e o tempo médio de germinação (TMG) (LABORIAU, 1983). As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett e, posteriormente, submetidas à análise de variância ($p < 0,01$ e $p < 0,05$) tendo suas médias comparadas pelo teste de Tukey.

4.2.3 Métodos de superação de dormência na germinação em viveiro

Este experimento foi conduzido em viveiro do Grupo de Estudo e Pesquisa em Estaquia (GEPE), da Universidade Federal do Paraná (UFPR), na cidade de Curitiba-PR, Brasil. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é temperado do tipo Cfb. O experimento foi instalado em 31 de março de 2020, visando avaliar diferentes métodos de superação de dormência na germinação da espécie. Os tratamentos utilizados foram: T1: testemunha (sementes com o endocarpo) (FIGURA 4.2A); T2: retirada total do endocarpo (FIGURA 4.2B); T3:

retirada parcial do endocarpo (FIGURA 4.2C); T4: endocarpo enfraquecido com pirógrafo (FIGURA 4.2D).

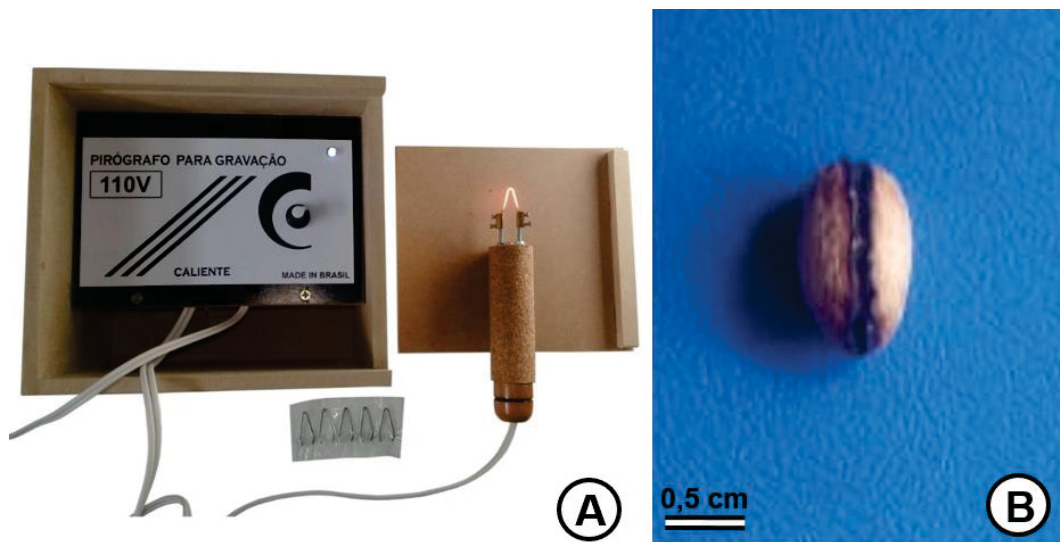
FIGURA 4.2 TRATAMENTOS COM DIFERENTES MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM *A. brachiata*: TESTEMUNHA (A); RETIRADA TOTAL DO ENDOCARPO (B); RETIRADA PARCIAL DO ENDOCARPO (C); ENDOCARPO ENFRAQUECIDO COM PIRÓGRAFO (D).



FONTE: A autora (2022).

A metodologia utilizada para retirada parcial e total do endocarpo foi a mesma do experimento anterior. Para o enfraquecimento do endocarpo com pirógrafo, desenvolveu-se metodologia em condição inédita, no qual realizou-se, longitudinalmente ao pirênio, três passadas consecutivas (FIGURA 4.3A), com o intuito de enfraquecer o envoltório da semente sem causar danos à mesma (FIGURA 4.3B).

FIGURA 4.3 METODOLOGIA DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM *A. brachiata*: PIRÓGRAFO (A); TRATAMENTO COM ENDOCARPO ENFRAQUECIDO COM PIRÓGRAFO (B).



FONTE: A autora (2022).

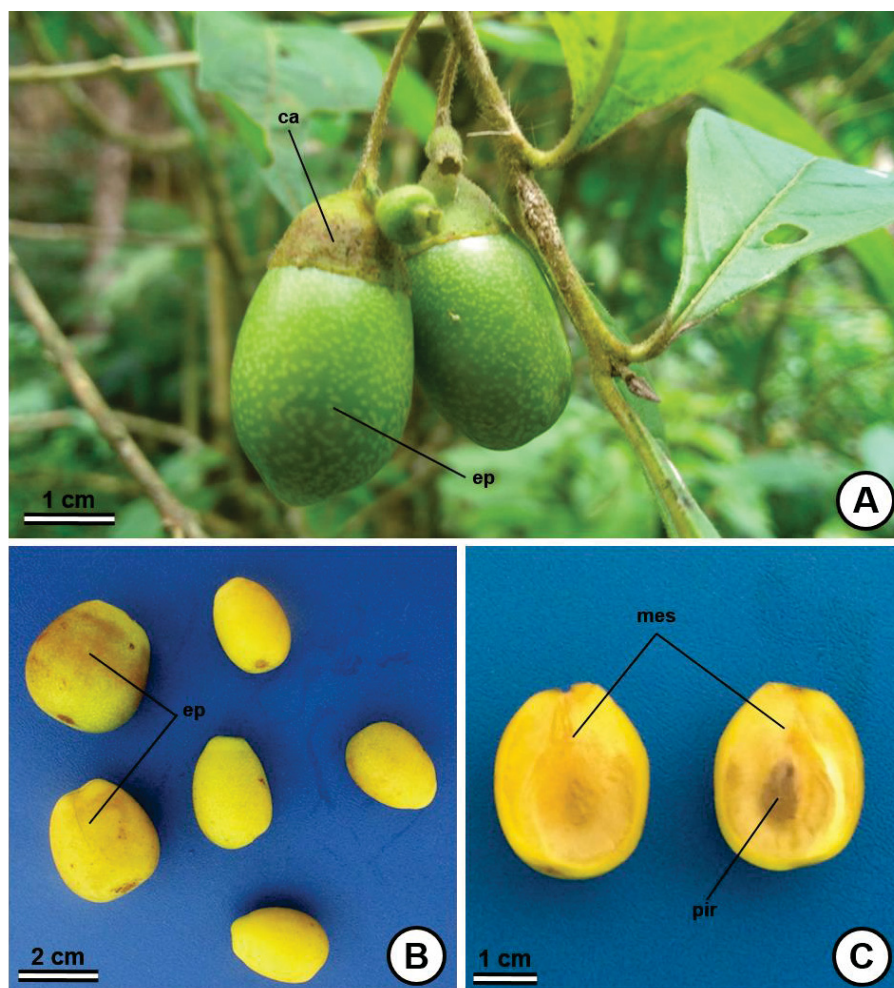
A semeadura foi realizada em tubetes de polipropileno com capacidade de 110 cm³ contendo substrato comercial Tropstrato®, mantidos em casa de sombra com 50% de sombreamento e irrigação por microaspersão (três irrigações diárias de 10 minutos e vazão de 144 L hora⁻¹) durante, aproximadamente, 210 dias, quando não havia mais nenhuma semente com emissão de radícula. O experimento seguiu estrutura de um delineamento inteiramente casualizado, contendo quatro tratamentos com cinco repetições cada e 25 sementes por unidade experimental. Ao final do experimento, avaliou-se a porcentagem de germinação e o número de plântulas normais.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Morfobiometria de frutos, sementes e plântulas e caracterização física das sementes

A. brachiata possui frutos do tipo carnoso indeiscente, oval, de superfície lisa e brilhante, de coloração verde quando imaturo (FIGURA 4.4A) tornando-se amarelo quando maduro (FIGURA 4.4B). O cálice é persistente e o fruto desprende-se do longo pedicelo, quando maduro. O fruto enquadra-se no tipo nukulânio, por apresentar pericarpo fino, mesocarpo carnoso e endocarpo lenhoso (FIGURAS 4.4B e 4.4C) (BARROSO et al., 1999). Os frutos possuem em média 27,2 mm de comprimento, 17,9 mm de diâmetro e 5,2 g de massa fresca com 90,60% de polpa. Cada fruto possui de um a três pirênios (TABELA 4.1).

FIGURA 4.4 FRUTOS DE *A. brachiata*: RAMO COM FRUTOS VERDES PRESOS AO CÁLICE (A); FRUTOS MADUROS (B); FRUTO MADURO EM CORTE LONGITUDINAL (C).



FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: ca: cálice; ep: epicarpo; mes: mesocarpo; pir: pirênio.

TABELA 4.1 DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO, DIÂMETRO, MASSA, NÚMERO DE SEMENTES/FRUTO E PORCENTAGEM DE POLPA DE FRUTOS DE *A. brachiata*.

Variável	Mínimo	Média	Máximo	DP	CV (%)
Comprimento (mm)	22,54	27,23	38,12	2,20	8,07
Diâmetro (mm)	16,10	17,86	23,03	1,88	10,51
Massa Total (g)	3,17	5,24	9,47	1,15	22,06
N° Sementes/Fruto	1,00	1,14	3,00	0,67	52,44
Polpa (%)	86,37	90,60	94,52	1,82	2,01

FONTE: A autora (2022).

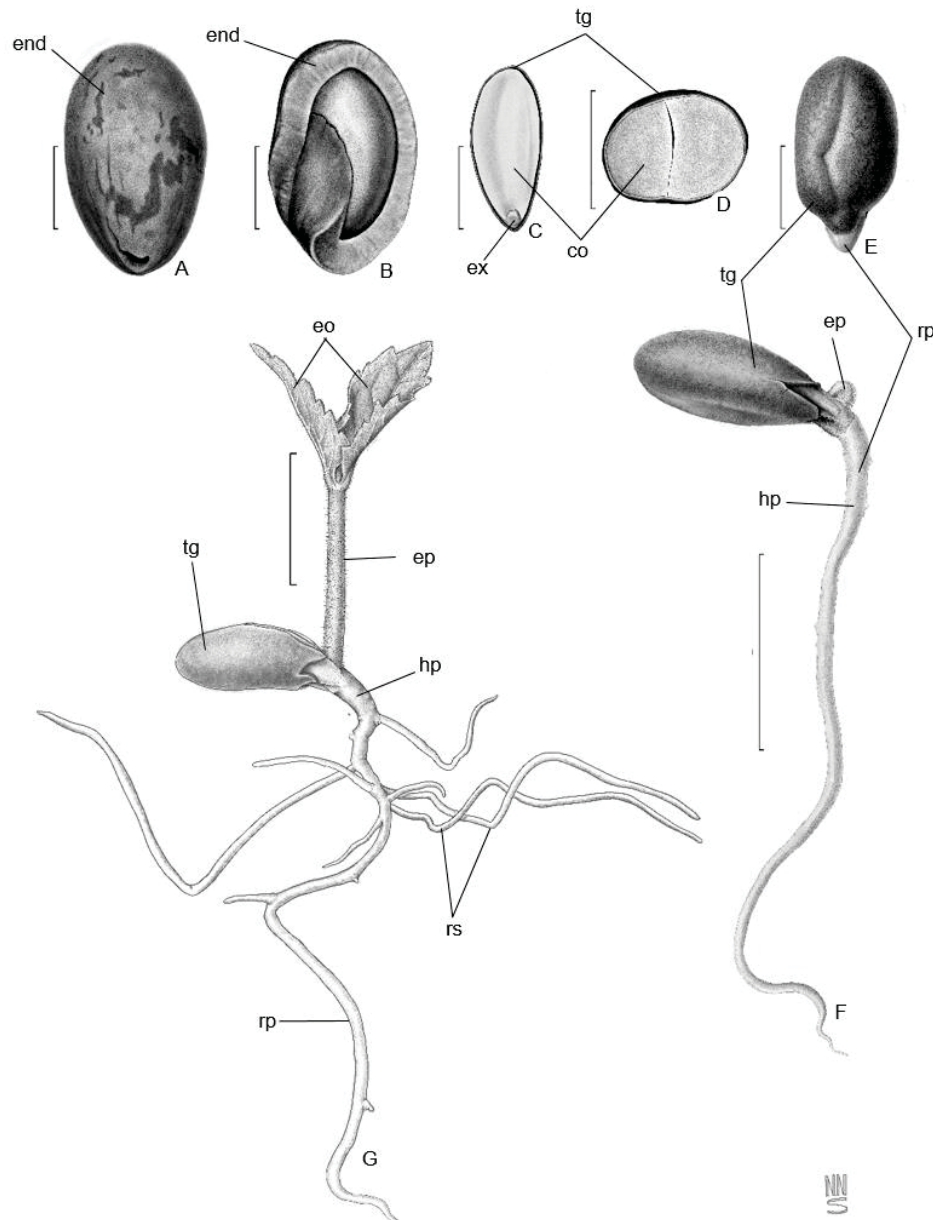
LEGENDA: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação

A coloração amarela dos alimentos é atribuída à presença de carotenoides, pigmentos naturais com propriedades biológicas importantes à saúde humana (SOUZA et al., 2012; XAVIER; PÉREZ-GÁLVEZ, 2016). No Brasil, a ingestão média de carotenoides *per capita* se mostra abaixo dos valores recomendados, e por isso pesquisas que identifiquem a presença de carotenoides em frutos nativos do Brasil têm sido realizadas (AMANCIO; SILVA, 2012; EGEA; MARCIONILIO, 2022). Há relatos, pouco aprofundados, que os frutos amarelos do peloteiro são comestíveis, com sabor e textura agradáveis (FRANÇA, 2003; ROLIM; REIS, 2016; BRACK et al., 2020), características que contribuem para a realização de pesquisas quanto às suas propriedades nutracêuticas.

O pirênio é constituído pelo endocarpo mais a semente e possui forma geométrica oblonga, com base arredondada e ápice acuminado. O endocarpo que envolve a semente é córneo, com coloração castanho-clara e estrias brancas no sentido longitudinal e, quando hidratado, não apresenta qualquer modificação aparente (FIGURA 4.5A). Os pirênios apresentam em média 13,4 mm de comprimento, 8,1 mm de diâmetro e 0,56 g de massa fresca (TABELA 4.2).

O endocarpo tem aproximadamente 1,7 mm de espessura. Este endocarpo espesso impõe uma restrição à expansão do embrião, além de formar internamente uma barreira rígida que fecha a micrópila, impedindo a emergência da raiz primária (FIGURA 4.5B). Este fato já foi relatado por Maggioni et al. (2020), os quais relacionaram o baixo potencial germinativo de *A. brachiata* à presença desse endocarpo rígido.

FIGURA 4.5 SEMENTE E PLÂNTULA DE *A. brachiata*: PIRÊNIO (A); APARÊNCIA INTERNA DO ENDOCARPO (B); SEMENTE EM SECÇÃO LONGITUDINAL (C); SEMENTE EM SECÇÃO TRANSVERSAL (D); PROTRUSÃO DA RAIZ PRIMÁRIA (E); INÍCIO DO CRESCIMENTO DA PARTE ÁREA (F); PLÂNTULA (G).



FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: end: endocarpo; tg: tegumento; ex: eixo embrionário; co: cotilédones; rp: raiz primária; ep: epicótilo; hp: hipocótilo; eo: eófilos; rs: raiz secundária. Ilustrado por Natanael Nascimento.

TABELA 4.2 DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO, DIÂMETRO E MASSA FRESCA DE PIRÊNIOS DE *A. brachiata*.

Variável	Mínimo	Média	Máximo	DP	CV (%)
Comprimento (mm)	12,00	13,46	15,54	0,80	5,94
Diâmetro (mm)	6,50	8,12	9,30	0,53	6,53
Massa (g)	0,25	0,56	0,66	0,08	14,29

FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação

De acordo com Marcos-Filho (2015), essa causa de dormência está associada à possível ação mecânica de tecidos que circundam o embrião, incluindo a parte do ovário (pericarpo e suas divisões), as quais impõem restrição mecânica à expansão do embrião. Assim, a barreira existente ao crescimento do embrião deveria ser “enfraquecida” ou eliminada para permitir a protrusão radicular. Desta forma, pode-se afirmar que as sementes de *A. brachiata* possuem dormência mecânica, na qual o endocarpo restringe a germinação.

Esse tipo de dormência imposta pela resistência do endocarpo à expansão do embrião já foi relatado em outras espécies, como *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), na qual autores sugerem que a remoção do endocarpo favorece o crescimento do embrião e, conseqüentemente, proporciona vantagens no desenvolvimento inicial e crescimento das plantas, sendo uma estratégia vantajosa para produção de mudas (SILVA et al., 2019). Segundo Chia et al. (2016), o endocarpo é uma estratégia mecânica de dormência que requer enfraquecimento ao longo do tempo, acarretando em quebra da dormência fisiológica do embrião, a qual promoveria a ruptura do endocarpo para que, assim a germinação possa ocorrer.

Não há relatos na literatura que permitam compreender a dispersão e germinação de *A. brachiata* no seu ambiente natural. Por se tratar de frutos relativamente grandes, acredita-se que não sejam consumidos por pássaros, tampouco por aves arborícolas maiores, como tucanos, já que caem ao chão logo ao amadurecer. Pressupõe-se que os frutos sejam consumidos por mamíferos como morcegos e cachorros-do-mato, porém são necessários estudos minuciosos que confirmem essa hipótese.

As sementes sem o endocarpo possuem em média 9,96 mm de comprimento, 5,30 mm de largura e 3,94 mm de espessura (TABELA 4.3).

Apresentam tegumento fino, de coloração marrom clara e não possuem endosperma, sendo classificadas como exalbuminosas (TRONCOSO, 1974; BARROSO et al., 1999). A região hilar é apical e oblonga e a micrópila visível em lupa.

O embrião é axial, com eixo hipocótilo-radicular curto em relação aos cotilédones, que são contínuos, espatulados, carnosos e de coloração esbranquiçada (FIGURAS 4.5C e 4.5D). A característica cotiledonar das sementes dessa espécie está diretamente relacionada à ausência de endosperma, utilizando os cotilédones como fonte de reserva da plântula, durante suas fases de desenvolvimento (BEWLEY; BLACK, 1994; MELO et al., 2004).

TABELA 4.3 DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO, LARGURA E ESPESSURA DE SEMENTES DE *A. brachiata*.

Variável	Mínimo	Média	Máximo	DP	CV (%)
Comprimento (mm)	9,10	9,96	11,60	0,52	5,22
Largura (mm)	4,70	5,30	6,00	0,27	5,09
Espessura (mm)	3,10	3,94	4,5	0,32	8,12

FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação

A germinação é do tipo hipógea e as plântulas são criptocotiledonares, ou seja, os cotilédones não emergem do tegumento da semente e permanecem no seu interior até o final do processo (FIGURAS 4.5E, 4.5F e 4.5G). No início do processo de germinação, ocorre a emissão da raiz primária, que é cilíndrica e esbranquiçada (FIGURA 4.5E). Aproximadamente nove dias após o início da germinação, as raízes primárias apresentam cerca de 3 cm de comprimento, iniciando a ascensão do epicótilo de coloração verde-clara (FIGURA 4.5F).

A plântula (15º dia após a emissão radicular) apresenta hipocótilo bastante alongado, mais espesso na base e afinado no ápice, com raízes secundárias longas e com poucas ramificações (FIGURA 4.5G). O primeiro par de eófilos é simples, elípticos, com base assimétrica, ápice acuminado e margem serrada (FIGURA 4.5G), de coloração verde escura.

Observou-se a presença de tricomas simples visíveis em lupa, espalhados por todo epicótilo e dispersos pelos eófilos (FIGURAS 4.5F e 4.5G). Em estudo realizado por Gogosz et al. (2015), com morfologia de plântulas em espécies arbóreas da Floresta com Araucária, a maioria das espécies pioneiras apresentavam tricomas nos eófilos, enquanto tal característica não estava presente nas espécies secundárias tardias.

O grau de umidade das sementes de *A. brachiata* foi de 14,65%, com peso de mil sementes igual a 440,82 g (CV% = 2,58%), resultando em 2269 sementes por quilograma e 376,23 g de biomassa seca de mil sementes. Estes resultados foram semelhantes aos de Maggioni et al. (2020), no qual as sementes do peloteiro apresentaram 16,43% de grau de umidade e 568,24 g de peso de mil sementes.

4.3.2 Superação de dormência e temperaturas para germinação em laboratório

Não houve interação entre os fatores analisados para as variáveis percentual de germinação (G) e índice de velocidade de germinação (IVG); no entanto, houve diferença significativa entre os diferentes métodos de superação de dormência e as diferentes temperaturas (TABELA 4.4). A germinação iniciou no quarto dia de instalação do experimento e cessou no trigésimo sexto dia.

Em relação ao método de superação de dormência, a retirada total do endocarpo mostrou-se mais eficiente, com maiores percentuais de germinação (28,50%) e velocidade de germinação-IVG (0,87) (TABELA 4.5). Além disso, nas sementes em que houve retirada parcial do endocarpo, a radícula necessitava de uma força maior para sua emissão e crescimento, pois a parte restante do endocarpo ainda impunha resistência à protrusão da raiz primária. Ainda, nas sementes com retirada parcial, houve maior incidência de fungos com apodrecimento das sementes. Assim, torna-se claro que o método mais indicado para superação da dormência em *A. brachiata* é a retirada total do endocarpo.

TABELA 4.4 ANÁLISE DA VARIÂNCIA PARA PERCENTUAL DE GERMINAÇÃO (G), ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) E TEMPO MÉDIO DE GERMINAÇÃO (TMG) DE SEMENTES DE *A. brachiata* EM DIFERENTES MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E DIFERENTES TEMPERATURAS.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		G	IVG	TMG
Método de Superação de Dormência	1	37,82**	1,60**	6,05 ^{ns}
Temperatura	2	43,17**	1,66**	175,03**
Métodos x Temperatura	2	0,60 ^{ns}	0,07 ^{ns}	211,57**
CV (%)		22,03	28,44	41,34
Teste de Bartlett (X^2)		2,98 ^{ns}	7,22 ^{ns}	**

FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: **: significativo ($p < 0,01$); ns: não significativo; GL: Grau de liberdade; CV: Coeficiente de Variação.

Por mais que as porcentagens de germinação apresentaram-se baixas (TABELA 4.5), os resultados são promissores, visto que as sementes não germinam sem a retirada do endocarpo e a germinação iniciou-se no quarto dia após a semeadura. Ademais, a ferramenta utilizada é de baixo custo e de fácil manuseio, sendo que poucas sementes foram danificadas no processo de retirada do endocarpo.

TABELA 4.5 COMPARAÇÃO DE MÉDIAS PARA PERCENTUAL DE GERMINAÇÃO (G), ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) DE SEMENTES DE *A. brachiata* EM DIFERENTES MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E DIFERENTES TEMPERATURAS.

Fonte de Variação	G	IVG
Método de Superação de Dormência		
Retirada Total do Endocarpo	28,50 a	0,87 a
Retirada Parcial do Endocarpo	13,17 b	0,50 b
Temperaturas		
20 °C	6,75 b	0,31 b
25 °C	26,75 a	0,84 a
30 °C	29,75 a	0,89 a

FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em situação semelhante à exposta, um estudo com *Vitex doniana* (Lamiaceae) relata uma resistência imposta pelo endocarpo à expansão do embrião, e a remoção do endocarpo melhora tanto a velocidade quanto a porcentagem de

germinação (75%) (NEYA et al., 2017). Ainda, em *Vitex megapotamica* (Lamiaceae) a emissão da raiz primária ocorre logo após a ruptura do endocarpo ao longo de suas suturas longitudinais (COSMO et al., 2009). Maués et al. (2015) revelam que sementes de *Bertholletia excelsa* (Lecythidaceae), que também apresentam um endocarpo duro que confere resistência à emissão da radícula, levaram de 12 a 18 meses para germinar, enquanto ao retirar o endocarpo a germinação ocorre de 20 a 30 dias.

Das sementes que não germinaram, 67,26% foram classificadas como duras, ou seja, sementes que permaneceram sem absorver água até o final do teste (não intumescidas) e 32,74% foram classificadas como fungadas. Segundo Marcos-Filho (2015), a dormência mecânica é determinada pela consistência do endocarpo, impondo restrição à expansão do embrião. O autor relata, ainda, que existem dúvidas entre pesquisadores de que haja um impedimento puramente mecânico ao crescimento do embrião, supondo-se que alguma restrição ao metabolismo possa inibir o desenvolvimento embrionário que, desta forma, não exerceria pressão suficiente para romper o envoltório.

Em concordância ao fato de que a dormência mecânica venha acompanhada de outro impedimento ao desenvolvimento embrionário, Carvalho e Nascimento (2013) relatam que sementes de *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae) apresentam dormência mecânica, imposta pelo espesso e córneo endocarpo, e que considerável proporção das sementes apresenta, também, dormência fisiológica. Os autores sugerem que a embebição dos pirênios em ácido giberélico (500 mg L^{-1}), seguida de fratura do endocarpo, favorece a germinação.

Offiong et al. (2010) relatam que *Tectona grandis* (Lamiaceae), além de possuir dormência mecânica nas sementes, parece possuir dormência fisiológica, associada à presença de inibidores que impedem a germinação, e que a lavagem das sementes em água corrente por 24 h é um método eficiente para quebra da dormência, por lixiviar esses inibidores e enfraquecer o endocarpo, promovendo a germinação. Dessa forma, novos estudos podem ser realizados com o intuito de avaliar outros possíveis impedimentos na germinação de sementes de *A. brachiata*, visto a grande quantidade de sementes classificadas como duras.

Quanto às temperaturas, o menor percentual de germinação e IVG ocorreu a 20°C (6,71% e 0,31, respectivamente), diferindo estatisticamente das demais (TABELA 4.5). Nesta temperatura, diferentemente dos outros tratamentos, a germinação iniciou-se no décimo dia, representando um atraso no processo germinativo quando comparada às demais.

Há grande divergência entre as melhores condições para que as espécies florestais expressem seu potencial de germinação. Para *Gochnatia polymorpha* (Asteraceae), as temperaturas de 15 e 20°C são as mais adequadas (MACHADO et al., 2016). Já para *Cabralea canjerana* (Meliaceae) a temperatura ideal de germinação varia com o substrato utilizado (RICKLI-HORST et al., 2017). Esses resultados indicam que cada espécie apresenta um comportamento diferenciado de germinação, sendo necessários testes para conhecer as demandas de cada espécie.

Os melhores resultados para a variável tempo médio de germinação (TMG) estão relacionados às menores taxas observadas, ou seja, quanto menor o valor de TMG, mais eficiente foi o tratamento. Dessa forma, verificou-se que a retirada total do endocarpo na temperatura de 25°C apresentou o melhor resultado (9,63). Em contrapartida, a retirada total do endocarpo na temperatura de 20°C mostrou-se menos eficiente, com o maior valor de TMG (21,95) (TABELA 4.6). Por meio destes resultados, sugere-se que a temperatura de 20°C não é indicada para germinação de *A. brachiata*, por apresentar baixo percentual de germinação, baixo IVG e elevado valor de TMG.

TABELA 4.6 COMPARAÇÃO DE MÉDIAS PARA TEMPO MÉDIO DE GERMINAÇÃO (TMG) DE SEMENTES DE *A. brachiata* EM DIFERENTES MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E DIFERENTES TEMPERATURAS.

Temperaturas	Métodos de Superação de Dormência	
	Retirada Total do Endocarpo	Retirada Parcial do Endocarpo
	TMG (dias)	
20°C	21,95 bB	13,12 aA
25°C	9,63 aA	14,84 bA
30°C	10,72 aA	12,21 bA

FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.3.3 Métodos de superação de dormência na germinação em viveiro

Ao término de 210 dias, não foi observada germinação de nenhuma semente do tratamento testemunha e do tratamento de enfraquecimento do endocarpo com pirógrafo. De maneira geral, a germinação foi lenta, irregular e baixa nos demais tratamentos, sendo que o tratamento com retirada total do endocarpo foi o que apresentou a maior porcentagem de germinação, com média de 18%. Observou-se apenas uma semente germinada por repetição no tratamento com retirada parcial do endocarpo, correspondendo a uma média de 4%.

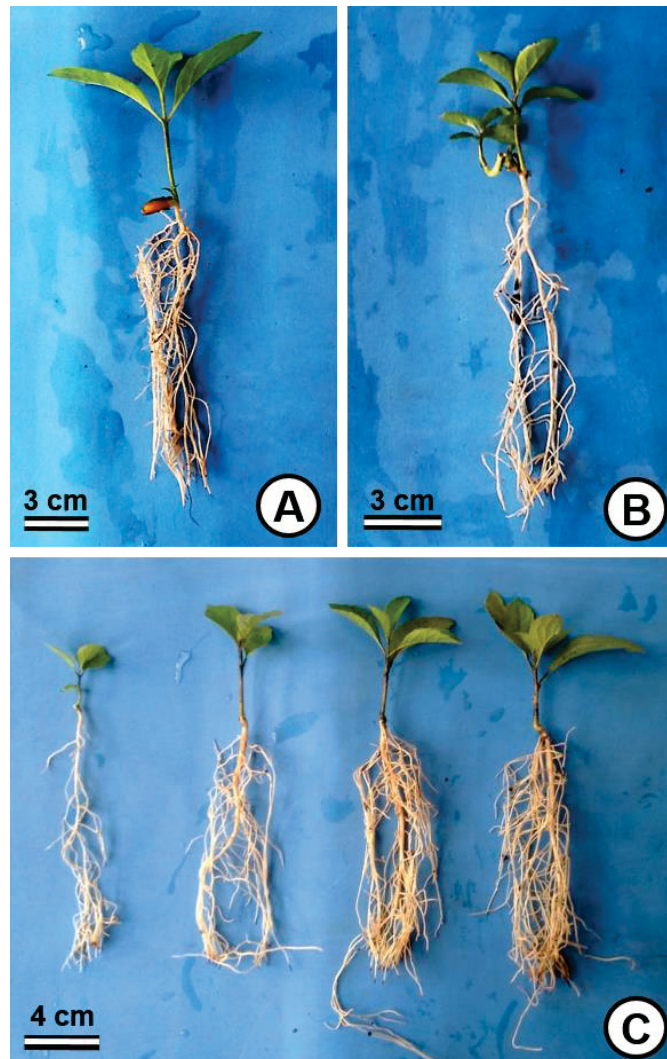
Os baixos índices de germinação neste experimento podem ser consequência das baixas temperaturas nesse período (média de 15°C), tendo em vista que o experimento foi instalado no início do outono, em uma região de clima ameno (temperatura média anual 18°C) e que as maiores porcentagens de germinação obtidas no experimento anterior foram observadas em temperatura de 30°C.

De acordo com Marcos-Filho (2015), a temperatura é um fator de grande influência na porcentagem, velocidade e uniformidade de germinação, uma vez que controla reações bioquímicas que regulam o processo metabólico da germinação. Geralmente, as temperaturas mais altas aceleram os processos metabólicos e temperaturas mais baixas retardam esses processos (BEWLEY et al., 2013).

A germinação foi bastante desuniforme no período de 8 a 210 dias, o que resultou em plântulas com diferentes fases de desenvolvimento (FIGURA 4.4C). Esse fato pode ter ocorrido porque, ao longo do experimento, ocorreram períodos de baixas temperaturas, característicos da estação e região e, segundo Bewley et al. (2013), temperaturas abaixo da ótima influenciam na velocidade de hidratação e das reações metabólicas, atrasando o processo germinativo.

Todas as sementes germinadas do tratamento com retirada total do endocarpo apresentaram plântulas normais com sistema radicular vigoroso conforme (FIGURAS 4.6A e 4.6C). Uma plântula do tratamento com retirada parcial do endocarpo (FIGURA 4.6B) apresentou duas partes aéreas, o que indica anormalidade; no entanto, até o momento observado, notou-se que uma parte área não interferiu no crescimento da outra, e que, provavelmente, isso não interfira no seu crescimento a campo.

FIGURA 4.6 PLÂNTULAS DE *A. brachiata*: TRATAMENTO COM RETIRADA TOTAL DO ENDOCARPO (A); TRATAMENTO COM RETIRADA PARCIAL DO ENDOCARPO (B); PLÂNTULAS EM DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO (C).



FONTE: A autora (2022).

Desta maneira, fica claro que a espécie precisa de tratamentos pré-germinativos para superação da dormência mecânica imposta pelo endocarpo, e que temperaturas mais elevadas são mais favoráveis à germinação. Sugere-se que novos estudos sejam realizados com germinação da espécie em viveiro em épocas do ano mais quentes, como primavera e verão.

4.4 CONCLUSÕES

O fruto de *A. brachiata* é do tipo carnosos indeiscente com cálice persistente; a semente é exalbuminosa com embrião axial e cotilédones espatulados; a germinação é hipógea e a muda criptocotiledonar.

As sementes da espécie apresentam dormência mecânica, por causa da barreira do endocarpo à expansão do embrião.

A retirada total do endocarpo é o método mais indicado para superação da dormência mecânica e as temperaturas de 25 e 30°C são recomendadas para germinação.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro. Ao Laboratório de Sementes Florestais (UFPR), especialmente à professora Dagma Kratz, por toda infraestrutura e acompanhamento na realização da pesquisa.

4.5 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. B.; LIMA, T. M.; OLIVEIRA-FILHO, J. G.; ALMEIDA, M. J.; PRADO, N. F. O.; SILVA, R. M. P.; EGEEA, M. B. Capítulo 1: carotenoides como compostos bioativos em frutos nativos do Brasil. In: EGEEA, M. B.; MARCIONILIO, S. M. L. O. **A biodiversidade como fonte de compostos bioativos: moléculas e aplicações**. 1. ed. Rio Verde, GO: IF Goiano, 2022. 9-25 p.

ALVES, M.C.J.L.; LIMA, P.B.; LIMA, L.F.; ZICKEL, C.S. Descrição morfológica para identificação das plântulas de nove espécies lenhosas de uma floresta de restinga. **Biota Neotropica**, v.13, n.3, p.374-383, 2013.

AMANCIO, R. D.; SILVA, M. V. da. Consumo de carotenoides no Brasil: a contribuição da alimentação fora do domicílio. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 19, n. 2, p. 130-141, 2012.

BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L. & ICHAÇO, C.L.F. 1999. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa, UFV.

BATISTA, G.S.; COSTA, R.S.; GIMENES, R.; PIVETTA, K.F.L.; MÔRO, F.V. Aspectos morfológicos dos diásporos e das plântulas de *Syagrus oleracea* (Mart.) Becc - Arecaceae. **Comunicata Scientiae**, v. 2, n. 3, p. 170-176, 2011.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994.

BEWLEY, J.D.; BRAFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M.; NONOGAKI, H. **Seeds**: Physiology of development, germination and dormancy. 3 ed. New York: Springer, 2013.

BRACK, P.; KOHLER, M.; CORRÊA, C. A.; ARDISSONE, R. E.; SOBRAL, M. E. G.; KINUPP, V. F. Frutas nativas do Rio Grande do Sul, Brasil: riqueza e potencial alimentício. **Rodriguésia**, v. 71, e03102018, 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Glossário ilustrado de morfologia**. Brasília: Mapa/ACS, 2009b. 406p.

CARVALHO, J.E.U.; NASCIMENTO, W.M.O. Caracterização biométrica e respostas fisiológicas de diásporos de murucizeiro a tratamentos para superação da dormência. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 704-712, 2013.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência tecnologia e produção. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2012.

CHIA, K.A.; SADLER, R.; TURNER, S.R.; BASKIN, C.C. Identification of the seasonal conditions required for dormancy break of *Perseosia longifolia* (Proteaceae), a species with a woody indehiscent endocarp. **Annals of Botany**, v. 118, p. 331-346, 2016.

COMOS, N. L.; GOGOSZ, A. M.; NOGUEIRA, A. C.; BONA, C.; KUNIYOSHI, Y. S. Morfologia do fruto, da semente e morfo-anatomia da plântula de *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke (Lamiaceae). **Acta Botanica Brasílica**, v.23, n.2, p. 389-397, 2009.

DUARTE, M. M.; MILANI, J. E. F.; BLUM, C. T.; NOGUEIRA, A. C. Germinação e morfologia de sementes e plântulas de *Albizia edwallii* (Hoehne) Barneby & J. W. Grimes. **Revista Caatinga**, v.28, n.3, p.166-173, 2015.

FRANÇA, F. **Revisão de *Aegiphila* Jacq. (Lamiaceae) e seu posicionamento sistemático**. 2003. Tese (Doutorado em Ciência) - Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, 2003.

GARRETT, A.T.A.; PERES, F.S.B.; INOUE, M.T.; OLIVEIRA, F.A.G. Adaptation of Cedro-Vermelha, Taruma-Azeitona, Inga-Doce, Branquilha-Bravo and Ocotea-Guaica Seedlings to Shading Levels. **Floresta e Ambiente**, v. 27, n. 3, p. 1-8, 2020.

GOGOSZ, A.M.; BOEGER, M.R.T.; COSMO, N.L.; NOGUEIRA, A.C. Morfologia de diásporos e plântulas de espécies arbóreas da floresta com araucária, no sul do Brasil. **Floresta**, v.45, n.4, p.819-832, 2015.

GONÇALVES, L.G.V.; ANDRADE, F.R.; MARIMON JUNIOR, B.H.; SCHOSSLER, T.R.; LENZA, E.; MARIMON, B.S. Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancronia speciosa* Gomes) em vegetação natural na região de Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 26, n. 1, p. 31-40, 2013.

HARLEY, R.; FRANÇA, F.; SANTOS, E.P.; SANTOS, J.S.; PASTORE, J.F. **Lamiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8104>>. Acesso em: 18 março 2020.

LABORIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington, DC: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983.

MACHADO, D.F.M.; BORTOLIN, G.S.; PARANHOS, J.T.; SILVA, A.C.F. Temperatura, luz e desinfecção na germinação das sementes de *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera. **Revista de Ciências Agrárias**, v.39, n.1, p. 144-152, 2016.

MAGGIONI, R.A.; VIEIRA, L.M.; INVERNIZZI, S.F.; CARPANEZZI, A.A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C. Germination potential and vegetative propagation of *Aegiphila brachiata* Vell. **Cerne**, v. 26, n. 2, p. 222-231, 2020.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015.

MAUÉS, M.; KRUG, C.; WADT, L.H.O.; DRUMOND, P.M.; CAVALCANTE, M.C.; SANTOS, A.C.S. **A castanheira-do-brasil: avanços no conhecimento das práticas amigáveis à polinização**. Funbio, Rio de Janeiro, Brasil. 84p. 2015.

MELO, F.P.L.; AGUIAR NETO, A.V.; SIMABUKURO, E.A.; TABARELLI, M. Recrutamento e estabelecimento de plântulas. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. São Paulo: Artmed, 2004.

NEYA, T.; DABOUE, E.; NEYA, O.; QUEDRAOGO, I. Germination Characteristics of *Parinari curatellifolia* Planch. Ex Benth, *Vitex doniana* Sweet and *Zanthoxylum*

zanthoxyloides (Lam) Watermann Seeds. **Annual Research & Review in Biology**, v.12, n.3, p.1-12, 2017.

OFFIONG, M.O.; UDOFIA, S.I.; OLAJIDE, O.; UFOT, I. N. Comparative Study of Pre-Germination Treatments and their Effects on the Growth of *Tectona Grandis*. **African Research Review**, v. 4, n. 3b, p. 368-378, 2010.

RICKLI-HORST, H.C; DUARTE, M.M.; CHIRINZANE, C.J.; NOGUEIRA, A.C. Carposeminal biometry and germination of *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. **Floresta**, v.47, n.4, p. 391-396, 2017.

ROCHA, C.R.M.; COSTA, D.S.; NOVEMBRE, A.D.L.C.; CRUZ, E.D. Morfobiometria e germinação de sementes de *Parkia multijuga* Benth. **Nativa**, v.2, n.1, p.42-47, 2014.

ROLIM, R. G.; REIS, C. R. M. Capítulo III – Espécies Frutíferas. In: SILVA, D. B.; BERNARDES, M. G.; CERVINÁ, M.; TEDY, N. C.; CALDERARO, P. C.; FURTADO, R. D. C.; RITTER, V. M. **Flora da bacia do rio Pelotas: uso e conservação de espécies**. Porto Alegre: UFRGS, 2016. p. 54-76.

SANTOS, F. S.; PAULA, R. C.; SABONARO, D. Z.; VALADARES, J. Biometria e qualidade fisiológica de sementes de diferentes matrizes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex A. DC.) Standl. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 82, p. 163-173, 2009.

SILVA, R. C.; BELNIAKI, A. C.; VIEIRA, E. S. N.; CUQUEL, F. L.; PANOBIANCO, M. Subsidies for propagation of native species in Brazil with medicinal potential: *Calophyllum brasiliense* Cambess. **Journal of Seed Science**, v.41, n.3, p.318-327, 2019.

SOUZA, C. O. D.; MENEZES, J. D. D. S.; RAMOS NETO, D. C.; ASSIS, J. G. D. A.; SILVA, S. R. D.; DRUZIAN, J. I. Carotenoides totais e vitamina A de cucurbitáceas do banco ativo de germoplasma da Embrapa Semiárido. **Ciência Rural**, v. 42, p. 926-933, 2012.

TRONCOSO, N. S. **Los géneros de Verbenáceas de Sudamérica Extratropical**. Darwiniana: Instituto de Botánica Darwinion, v. 18, 1974.

XAVIER, A. A. O.; PÉREZ-GÁLVEZ, A. Carotenoids as a source of antioxidants in the diet. In: **Carotenoids in nature**. London: Springer, 2016. p. 359-375.

5 CAPÍTULO III – ESTAQUIA E DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS, METABOLÔMICAS E ANATÔMICAS DE *Aegiphila brachiata* Vell.

RESUMO

No intuito de aprimorar o processo de produção de mudas de *A. brachiata*, compreendendo as bases fisiológicas e bioquímicas do enraizamento adventício da espécie, objetivou-se avaliar o potencial rizogênico de estacas oriundas de matrizes rejuvenescidas e adultas coletadas em diferentes estações do ano, além de identificar compostos fenólicos, proteínas e metabólitos polares presentes nas estacas, e caracterizar anatomicamente a base caulinar das mesmas. Para a estaquia, foram realizados dois experimentos com estacas provenientes de matrizes rejuvenescidas (Experimento I) e adultas (Experimento II), coletadas nas quatro estações do ano. Para ambos os experimentos, as estacas foram submetidas a tratamentos com ácido indol butírico (0, 2000, 4000, 6000 e 8000 mg L⁻¹) e mantidas em casa de vegetação por 45 dias. Para as análises bioquímicas, metabolômicas e anatômicas, foram selecionadas estacas coletadas no momento da instalação de cada experimento de estaquia. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial duplo para os experimentos de estaquia (5 [IBA] x 4 estações do ano) e para as análises bioquímicas (2 matrizes x 4 estações do ano). 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. Propágulos oriundos de matrizes rejuvenescidas coletados na primavera são viáveis e indicados para produção de mudas de *A. brachiata* (25,25% de enraizamento), não sendo necessária a utilização de IBA. Os maiores valores de compostos fenólicos foram obtidos na primavera, tanto para estacas de matrizes rejuvenescidas (37,39 mg g⁻¹) como de matrizes adultas (25,81 mg g⁻¹). O teor de proteínas foi obtido em maior quantidade em estacas coletadas no outono de matrizes rejuvenescidas (146,74 mg g⁻¹). Os compostos ácido maleico, 2-hidroxi-ácido glutárico, manose-6-fosfato, ácido ribônico, glicina e ácido fosfórico foram obtidos em maiores concentrações em estacas de matrizes rejuvenescidas, com efeitos benéficos ao enraizamento. Não há diferenças anatômicas entre os tipos de matrizes dos propágulos.

Palavras-chave: Metabólitos secundários. Rejuvenescimento. Enraizamento. Estações do ano. Peloteiro.

CUTTINGS AND BIOCHEMICAL, METABOLOMIC AND ANATOMICAL DETERMINATIONS OF *Aegiphila brachiata* Vell.

ABSTRACT

In order to improve the production process of *A. brachiata* seedlings, including the physiological and biochemical bases of the adventitious rooting of the species, the objective was to evaluate the rhizogenic potential of cuttings from rejuvenated and adult matrices collected in different seasons, in addition to identify phenolic compounds, proteins and polar metabolites present in the cuttings, and anatomically characterize their stem base. For cutting, two experiments were carried out with cuttings from rejuvenated (Experiment I) and adult (Experiment II) matrices, collected in the four seasons of the year. For both experiments, the cuttings were submitted to treatments with indole butyric acid (0, 2000, 4000, 6000 and 8000 mg L⁻¹) and kept in a greenhouse for 45 days. For biochemical, metabolomic and anatomical analyses, cuttings collected at the time of installation of each cutting experiment were selected. The experimental design was completely randomized in a double factorial scheme for cutting experiments (5 [IBA] x 4 seasons) and for biochemical and metabolomic analyzes (2 matrices x 4 seasons). 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. Propagules from rejuvenated matrices collected in the spring are viable and indicated for the production of *A. brachiata* seedlings (25.25% rooting), not requiring the use of IBA. The highest values of phenolic compounds were obtained in spring, both for cuttings from rejuvenated matrices (37.39 mg g⁻¹) and from adult matrices (25.81 mg g⁻¹). The protein content was obtained in greater quantity in cuttings collected in autumn from rejuvenated matrices (146.74 mg g⁻¹). The compounds maleic acid, 2-hydroxy-glutaric acid, mannose-6-phosphate, ribonic acid, glycine and phosphoric acid were obtained in higher concentrations in cuttings from rejuvenated matrices, with beneficial effects on rooting. There are no anatomical differences between the types of matrices of the propagules.

Key-words: Secondary metabolites. Rejuvenation. Rooting. Seasons. Peloteiro.

5.1 INTRODUÇÃO

A cadeia de suprimentos de espécies florestais nativas ainda não encontra-se suficientemente consolidada para dar o suporte adequado aos programas de restauração em larga escala (NUNES et al., 2020). Isso deve-se especialmente à escassez de informações sobre a coleta de sementes e a produção de mudas dessas espécies, aliado ao alto custo de produção, resultando em um baixo investimento para a produção de uma vasta diversidade de árvores nativas (BRANCALION et al. 2012; NUNES et al. 2016). Dessa forma, tornam-se indispensáveis os estudos, principalmente no que tange à produção de mudas.

Aegiphila brachiata Vell. (Lamiaceae), conhecida popularmente como peloteiro, é uma espécie arbustivo-arbórea, decídua, nativa do bioma Mata Atlântica, com ocorrência no Sudeste e Sul do Brasil (FRANÇA, 2003; HARLEY et al., 2015). O peloteiro é uma planta com elevada capacidade de produção de biomassa e crescimento em condições adversas, sendo importante para recuperação de ecossistemas degradados (FRANÇA, 2003), além de seus frutos e folhas apresentarem potencial alimentício e medicinal, respectivamente.

O insucesso na germinação de sementes da espécie está associado a uma barreira física imposta pelo endocarpo que impede a protrusão da radícula (MAGGIONI et al., 2020). Com base nisso, a propagação vegetativa, principalmente pela técnica de estaquia, pode ser uma excelente alternativa para produção de mudas (CARPANEZZI; CARPANEZZI, 2006; OLIVEIRA; RIBEIRO, 2013), garantindo uniformidade no plantio, maior produtividade e baixo custo de produção (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013; WENDLING; STUEPP; ZUFFELLATO-RIBAS, 2016).

O processo de formação radicial é complexo, ocorrendo alterações metabólicas que incluem a ação enzimática, hormonal e de outros compostos bioquímicos atuando como indutores do enraizamento. A presença de compostos bioquímicos, quando em concentrações adequadas, pode se acumular na zona de produção de raízes, contribuindo com sua emissão (LIMA et al., 2011; PORFÍRIO et al., 2016).

Os principais compostos bioquímicos envolvidos no enraizamento adventício são os carboidratos, atuando como recurso energético (AHKAMI et al., 2009), as proteínas por auxiliarem na indução, formação e desenvolvimento das raízes adventícias e na sinalização e biossíntese de auxinas (HUSEN, 2008; SAIRANEN et al., 2012) e os compostos fenólicos funcionando como cofatores do enraizamento por controlar a atividade da IAA-oxidase (SHIOZAKI; MAKIBUCHO; OGATA, 2013).

Outro fator determinante do processo rizogênico é a idade da planta-matriz, dado que propágulos provenientes de plantas em crescimento juvenil possuem maior capacidade de enraizamento do que aqueles provenientes de plantas adultas (HARTMANN et al., 2018; STUEPP et al., 2018). A época do ano também pode influenciar no enraizamento das estacas, principalmente no que se refere à variação do balanço hormonal endógeno ao longo das estações (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; PEÑA; ZANETTE; BIASI, 2015).

Por meio da caracterização anatômica dos propágulos é possível definir a origem das raízes adventícias e identificar possíveis barreiras anatômicas à emergência dos primórdios radiciais. Em geral, propágulos em estágio mais avançado de desenvolvimento possuem características anatômicas, como lignificação e esclerificação, que estariam diretamente relacionadas a um menor enraizamento (WENDLING; BROOKS; TRUEMAN, 2015).

Ainda, a aplicação de reguladores vegetais pode acelerar o processo de formação de raízes, aumentando o índice de enraizamento, o número e a qualidade das raízes e a uniformidade do enraizamento, sendo o ácido indol butírico (IBA) o regulador vegetal mais empregado no enraizamento adventício (DIAS et al., 2012; PIRES; WENDLING; BRONDANI, 2013).

Assim, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial rizogênico de estacas oriundas de matrizes rejuvenescidas e adultas de *Aegiphila brachiata*, e a influência de diferentes concentrações de IBA e diferentes estações do ano no enraizamento adventício da espécie, relacionando a rizogênese com o perfil bioquímico, metabolômico e anatômico das estacas.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Estaquia de *A. brachiata* a partir de matrizes rejuvenescidas

Ramos herbáceos de *A. brachiata* foram coletados de um jardim clonal a campo com exemplares de aproximadamente 2 anos de idade e 1,2 m de altura, oriundos de mudas produzidas por estaquia caulinar, podadas frequentemente, localizadas em área pertencente à Embrapa Florestas em Colombo-PR, Brasil (25°19' S e 49°09' W, 935 m). Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é temperado do tipo Cfb.

As coletas do material vegetal ocorreram nas quatro estações do ano, nas seguintes datas: 12/03/2019 (verão), 11/06/2019 (outono), 10/09/2019 (inverno), 10/12/2019 (primavera). A partir do material vegetal coletado, foram confeccionadas estacas caulinares com 8 ± 1 cm de comprimento, com corte em bisel na base e reto no ápice, mantendo-se um par de folhas reduzidas à metade na porção apical. Em seguida, foi realizada a desinfestação do material com hipoclorito de sódio a 0,5% durante 10 minutos, seguida de lavagem em água corrente por 5 minutos.

Após a desinfestação, as bases das estacas foram tratadas com soluções hidroalcoólicas (50% v/v) em diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA) (Merck®): 0, 2000, 4000, 6000 e 8000 mg L⁻¹. A testemunha (0 mg L⁻¹ IBA) foi preparada somente com a utilização de água destilada e álcool (50% v/v), sem adição do regulador vegetal IBA.

O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno com capacidade de 53 cm³, preenchidos com vermiculita de granulometria fina, sendo as estacas enterradas $\frac{1}{3}$ de seu comprimento, mantidas em casa de vegetação climatizada com nebulização intermitente (temperatura de 24°C \pm 2°C e 80% de umidade relativa do ar).

O experimento foi implantado num delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 4, sendo 5 concentrações de IBA e 4 estações do ano, totalizando 20 tratamentos, com quatro repetições cada, contendo 20 estacas por unidade experimental. Após 45 dias da instalação do experimento foram avaliadas: porcentagem de enraizamento (estacas vivas, com ou sem calos, que apresentaram

raízes de pelo menos 1 mm de comprimento); número de raízes por estacas; comprimento das três maiores raízes por estaca enraizada (cm); porcentagem de calogênese (estacas vivas, sem raízes, com formação de massa indiferenciada na base); porcentagem de sobrevivência (estacas vivas, sem a presença de calos e sem raízes); porcentagem de retenção foliar (estacas que mantiveram as folhas originais no leito de enraizamento até o momento da avaliação); porcentagem de brotações desenvolvidas e porcentagem de mortalidade (estacas que apresentavam-se necrosadas).

5.2.2 Estaquia de *A. brachiata* a partir de matrizes adultas

Ramos semilenhosos do ano de *A. brachiata* foram coletados em 20 matrizes adultas, de ocorrência natural, com aproximadamente 7 m de altura, localizadas em área pertencente à Embrapa Florestas, em Colombo-PR, Brasil (25°19' S e 49°09' W, 917 m). A metodologia e o delineamento estatístico, bem como as datas de coleta do material vegetal utilizados neste experimento, foram os mesmos empregados para estaquia de matrizes rejuvenescidas.

5.2.3 Análises bioquímicas

5.2.3.1 Material vegetal e preparo dos extratos aquosos

Nos dias da instalação e avaliação de cada experimento de estaquia, para plantas rejuvenescidas e adultas nas quatro estações do ano, foram separadas 20 a 30 estacas com 8 ± 1 cm de comprimento, secas em micro-ondas por 5 minutos, trituradas em moedor de bancada e armazenadas em freezer (-20° C), as quais foram usadas nas análises subsequentes realizadas no Laboratório de Tecnologia de Produtos não Madeiráveis da Embrapa Florestas, Colombo-PR.

Para a preparação dos extratos aquosos foram pesados 0,02 g da amostra do material vegetal (em triplicata) em microtubos e acrescidos de 2 mL de álcool e água (1:1). O material foi agitado em vórtex por 30 segundos e a extração foi

realizada no equipamento Thermomixer® por 1 hora, a 60°C e 450 rpm. Os extratos foram filtrados e utilizados para a determinação de compostos fenólicos totais.

O teor de água livre (umidade) das amostras foi determinado em triplicada, por método gravimétrico, com secagem em estufa a 105°C até massa constante.

5.2.3.2 Compostos fenólicos totais e proteínas

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 0,15 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%. Agitou-se 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).

Para análise de proteínas totais 0,5 g de material vegetal pesadas em triplicata foram inseridas em um tubo de digestão juntamente com 0,5 g de catalisador (composto por 6,3 g de selenito de sódio, 4,0 g de sulfato de cobre pentahidratado e 48,5 g de sulfato de sódio anidro). Em seguida, foi adicionado 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado e mantido no bloco digestor (Tecnal) a uma temperatura inicial de 100° C, elevando a temperatura em 50° C a cada 30 minutos até alcançar 350° C onde permaneceu por, no mínimo, 3 horas. Após a completa digestão e resfriamento das amostras, foram adicionados 15 mL de água destilada. A destilação da amostra foi realizada em destilador de nitrogênio (Tecnal TE036-1) e a titulação com ácido clorídrico (0,1M). A concentração de proteínas totais foi determinada conforme o método de Kjeldahl (AOAC, 1984) e expressa como mg g⁻¹ massa fresca (MF).

5.2.4 Análises metabolômicas

Para a análise metabolômica avaliou-se apenas as estacas coletadas no momento da instalação dos experimentos de estaquia, com material rejuvenescido e adulto. A determinação dos metabólitos polares foi realizada segundo a metodologia de Fiehn et al. (2000), com pequenas modificações.

Para a extração, 20 mg de amostras trituradas em nitrogênio líquido e congeladas em freezer -20°C foram pesadas em Eppendorf[®] de 2mL, acrescidos de 300 μL de metanol, pré-arrefecido a -20°C , misturados em Vortex[®]. Na sequência, foram adicionados 30 μL do ácido nonadecadônico (2 mg mL^{-1} de estoque em CHCl_3) para controle interno qualitativo para a fase lipídica e 30 μL de $^{13}\text{C}_6$ -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 CHCl_3 , agitando por 5 min a 37°C . Na sequência, 400 μL de H_2O foram adicionados à amostra, misturados em vórtex e colocados em centrifuga por 7 minutos a 12000 rpm.

Duas alíquotas (1/2) da fase polar (superior) foram transferidas para dois tubos Eppendorff[®] cônicos de 1,5 mL e secadas em Speed Vac[®] durante a noite, sem aquecimento. Por fim, um jogo de amostras foi derivatizado na sequência: cloridrato de metoxiamina em piridina (50 μL , 20 mg mL^{-1} , 40°C , 90 min) e MSTFA (N-metil-N-(trimetilsilil)-trifluoracetamida) (50 μL , 40°C por 90 min) e analisadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS, Focus, PolarisQ, Thermo), 1 μL de solução foi injetada por divisão de fluxo 1:25, sendo a separação dos compostos realizada com a coluna cromatográfica DB-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm , Agilent). A análise foi realizada com fluxo constante e compensação a vácuo com a temperatura do injetor a 230°C , linha de transferência 250°C e gás de arraste hélio a 1,0 mL 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 $8^{\circ}\text{C min}^{-1}$, isoterma final de 18 min. A operação do espectrômetro de massas foi no modo positivo com eletroionização a 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.

5.2.5 Análises anatômicas

Amostras da base das estacas (cerca de 1 cm de comprimento) de matrizes rejuvenescidas e adultas foram coletadas nos momentos de instalação e de avaliação do experimento de estaquia, na estação do verão. Após fixação em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e etanol 70%) por 24 horas (JOHANSEN, 1940), amostras foram estocadas em etanol 70%.

O material foi seccionado em fragmentos de 0,5 cm e incluído em historesina (Leica®). Os blocos foram fixados em tutores de madeira e, posteriormente, cortes transversais foram obtidos em micrótomo rotativo (Olympus® CUT 4055) com espessura de 8 μm (KRAUS; ARDUIN, 1997).

Os cortes foram aderidos à lâminas e submetidos a coloração com o colorante azul de toluidina. Em seguida, as lâminas foram analisadas e documentadas por meio de fotomicrografias em fotomicroscópio Zeiss com câmera digital Sony Cyber-shot P72 acoplada no Laboratório de Anatomia e Biomecânica Vegetal do Departamento de Botânica - UFPR.

5.2.6 Análises estatísticas

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett ($p < 0,05$). As variáveis foram então 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 utilizando-se o programa estatístico Assistat versão 7.7.

Para os metabólitos, os dados relativos às variáveis avaliadas foram analisados por meio da análise de fatores, análise de variância multivariada (MANOVA) e análise discriminante (MARRIOTT, 1974; KACHIGAN, 1991;

JOHNSON; WICHERN, 1998; ANDERSON, 2003; HAIR JUNIOR et al., 2005; FERREIRA, 2018). Na análise de fatores foi considerado que os fatores deveriam possuir um autovalor maior do que 1, para serem incluídos. O método de extração utilizado foi o de componentes principais, com rotação varimax e padronização das variáveis (matriz de correlação).

A MANOVA foi realizada para os grupos de variáveis obtidos nos fatores extraídos, visando comparar os propágulos obtidos das diferentes matrizes (rejuvenescidas e adultas). Os testes de traço de Pillai, maior raiz de Roy, Lambda de Wilks e traço de Hotteling foram utilizados para avaliar a significância dos tratamentos.

Uma vez realizada a MANOVA foi feita a análise discriminante para os conjuntos de variáveis para as quais foram identificadas diferenças significativas entre os tipos de material. A análise discriminante foi realizada utilizando-se as variáveis padronizadas e foram avaliadas as matrizes de estruturas, correlação canônica, teste de F para cada variável original e as médias dos tratamentos.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Estaquia de *A. brachiata* a partir de matrizes rejuvenescidas

Não houve enraizamento de estacas nas estações outono e inverno. As variações de temperatura e fotoperíodo ao longo do ano influenciam os níveis endógenos de auxina, carboidratos, e outros componentes químicos presentes nas plantas matrizes (COSTA et al., 2013; PACURAR; PERRONE; BELLINI, 2014). Dessa forma, esses resultados, possivelmente, estão relacionados ao fato dessas estações (outono e inverno) coincidirem com o período de repouso vegetativo da espécie, uma vez que temperaturas mais baixas resultam em diminuição do metabolismo da planta, com menor crescimento vegetativo e baixa síntese de auxinas, resultando em índices desfavoráveis de enraizamento (HARTMANN et al., 2018).

Além disso, as estações do ano têm influência no grau de lignificação dos propágulos. Períodos com menor crescimento vegetativo ocasionam maior grau de

lignificação, resultando em menores índices de enraizamento (WENDLING; BROOKS; TRUEMAN, 2015; ZHANG et al. 2016). Ainda, por tratar-se de uma espécie decídua, no inverno as estacas foram confeccionadas sem folhas. A presença de folhas nas estacas é de suma importância no processo rizogênico, pois as folhas são sítios produtores de auxinas, carboidratos e cofatores do enraizamento, que são transportados para a base das estacas, estimulando a formação de raízes (FRAGOSO et al., 2015).

Como não houve enraizamento de estacas nas estações outono e inverno, para as variáveis de enraizamento (EE, NR e CMR) a análise estatística foi baseada apenas nas estações verão e primavera e nos diferentes tratamentos com IBA. Assim, de acordo com a ANOVA ($p < 0,01$), não houve interação de fatores para variável estacas enraizadas (EE). A maior porcentagem de enraizamento foi obtida na primavera (25,25%), diferindo estatisticamente do verão (17,50%), resultados justificados, possivelmente, pela aceleração no metabolismo fisiológico iniciado após o período de repouso vegetativo (outono e inverno) (TABELA 5.1).

TABELA 5.1 PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO DE ESTACAS (EE) ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE *A. brachiata* COLETADAS NO VERÃO E PRIMAVERA, EM DIFERENTES TRATAMENTOS COM IBA.

Fator de variação	Variáveis	
Época do Ano	EE (%)	
Verão	17,50	b
Primavera	25,25	a
IBA		
0 mg L ⁻¹ IBA	18,12	a
2000 mg L ⁻¹ IBA	18,75	a
4000 mg L ⁻¹ IBA	19,37	a
6000 mg L ⁻¹ IBA	28,75	a
8000 mg L ⁻¹ IBA	21,87	a
CV(%)	52,52	

FONTE: A autora (2022)

LEGENDA: Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Não foi observada diferença significativa entre as concentrações de IBA no enraizamento. Ainda, os índices de enraizamento não demonstraram ser tão promissores como os obtidos por Maggioni et al. (2020), até 53,75% na

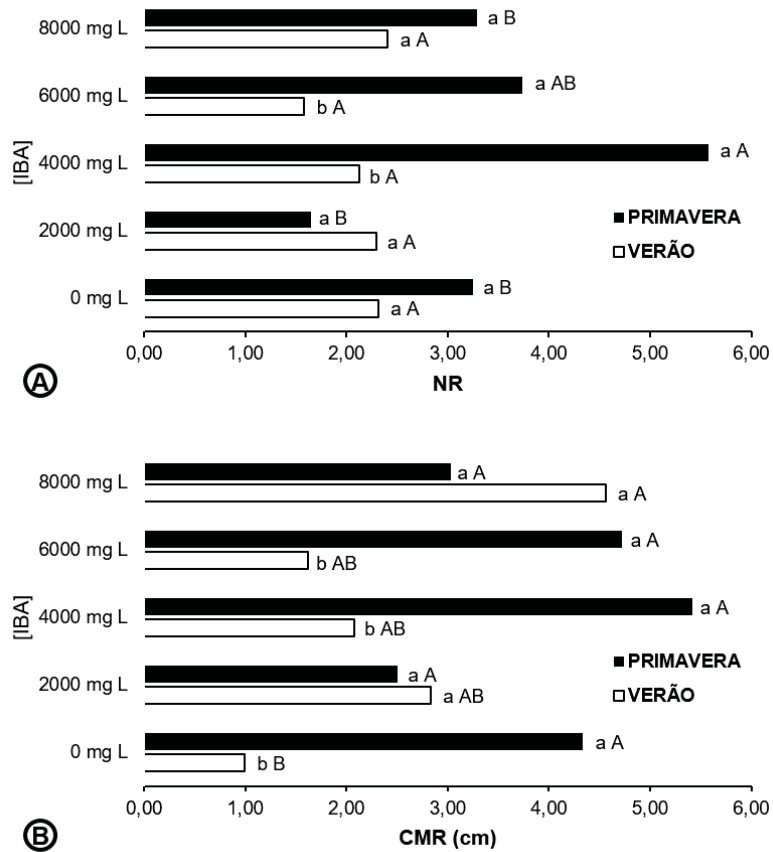
concentração de 6000 mg L⁻¹ IBA em estacas coletadas de matrizes rejuvenescidas na primavera, mais que o dobro da maior porcentagem do presente estudo. Os mesmo autores observaram acréscimo no enraizamento das estacas conforme aumentava-se a concentração de IBA.

Quando o nível endógeno de auxina na planta é insuficiente, a aplicação de auxinas sintéticas mais estáveis, como o IBA, é importante para promover um equilíbrio hormonal que favoreça a indução radicial (PIRES; WENDLING; BRONDANI, 2013). No entanto, embora o maior enraizamento tenha sido obtido quando utilizou-se 6000 mg L⁻¹ de IBA (28,75%), esse resultado não diferiu estatisticamente da testemunha (0 mg L⁻¹ IBA), demonstrando pouca influência desse regulador vegetal no processo rizogênico da espécie.

Sabe-se que a concentração ideal de aplicação destes reguladores vegetais varia de acordo com o nível endógeno de ácido indol acético (IAA) em cada espécie (ERTURK et al., 2010; HARTMANN et al., 2018), além de fatores como idade da planta-matriz (STUEPP et al., 2018), época de coleta dos propágulos (OLIVEIRA; RIBEIRO, 2013), substrato (ARI, 2016), dentre outros. Desta forma, os resultados encontrados podem ter tido influência de outros fatores, resultando em menores índices de enraizamento.

Em relação às variáveis número de raízes e comprimento médio de raízes, houve interação de fatores ($p < 0,01$) entre a época de coleta das estacas e a aplicação de IBA (FIGURA 5.1), sendo o maior valor observado, para as duas variáveis, em estacas coletadas na primavera com aplicação de 4000 mg L⁻¹ de IBA. A adequada formação do sistema radicial é indispensável para o sucesso no plantio das mudas a campo. Quanto maior o número de raízes, maior também é a absorção de nutrientes e água pelas plantas, resultando em melhores taxas de crescimento (NAVROSKI et al., 2016; DUARTE et al., 2019) e melhores índices de sobrevivência e desenvolvimento a campo (TSAKALDIMI; GANATSAS; JACOBS, 2013).

FIGURA 5.1 NÚMERO DE RAÍZES (NR) (A) E COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES (CMR) (B) ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE *A. brachiata* COLETADAS NA PRIMAVERA E VERÃO, EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES IBA.



FONTE: A autora (2022)

LEGENDA: Médias seguidas pela mesma letra minúscula para estação do ano e maiúscula para [IBA] não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0.01$).

Desta forma, a primavera é a estação mais adequada para coleta de propágulos para estaquia da espécie, por apresentar maior enraizamento adventício e maior desenvolvimento do sistema radicial, com maior número e comprimento de raízes, quando comparada ao verão. Por ser uma espécie decídua, no início da primavera as plantas estavam dando início ao crescimento vegetativo. Como a coleta dos propágulos foi realizada no final de cada estação, no final da primavera os novos brotos já estavam formados e com elevada capacidade fotossintética e, conseqüentemente, alta produção de fotoassimilados necessários à rizogênese. Já no início do verão, a espécie iniciava o enchimento de frutos, sendo que parte

desses fotoassimilados eram translocados para o desenvolvimento reprodutivo, fato que, possivelmente, justifica os melhores resultados de enraizamento e desenvolvimento de raízes serem observados em estacas coletadas na primavera.

Para as demais variáveis, a análise estatística baseou-se nas quatro estações do ano e não houve interação de fatores para nenhuma delas (TABELA 5.2). Em relação à porcentagem de calogênese, houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre as diferentes estações de coleta dos propágulos, sendo o maior valor observado em estacas coletadas no verão (TABELA 5.3). O processo de formação de raízes adventícias pode ocorrer a partir dos calos, num processo denominado rizogênese indireta. Esta rota de rizogênese ocorre quando as células de divisão não orientada formam calos, os quais são grupos de células de crescimento desorganizado que, ao se dividirem de forma organizada, se diferenciam em raízes adventícias (HARTMANN et al., 2018). Deste modo, uma maior permanência das estacas no leito de enraizamento poderia ter levado a maiores índices de enraizamento.

TABELA 5.1 ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PORCENTAGEM DE CALOGÊNESE (EC), MORTALIDADE (EM), NOVAS BROTAÇÕES (EB) E MANUTENÇÃO FOLIAR (MF) DE ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE *A. brachiata* NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO E EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA.

Fator de Variação	GL	Quadrado médio			
		EC %	EM %	EB %	MF %
Estações (E)	3	7545,42**	6203,65**	68,23**	9407,00**
IBA (T)	4	599,53*	571,41 ^{ns}	2,13 ^{ns}	239,17 ^{ns}
Interação E x I	12	301,41 ^{ns}	169,53 ^{ns}	1,55 ^{ns}	100,10 ^{ns}
Tratamentos	19	1507,96**	1206,89**	12,21**	1469,52**
Erro	60	193,96	271,98	3,29	216,25
Total	79				
CV (%)		41,73	36,20	51,33	51,45
Teste de Bartlett (X^2)		18,46**	20,13**	27,60**	23,55**

FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: CV: Coeficiente de variação.

As estações do ano também influenciaram significativamente os índices de mortalidade das estacas, sendo o maior valor verificado no inverno (66,00%) (TABELA 5.3). Conforme mencionado, por ser uma espécie decídua, no inverno as estacas foram confeccionadas sem folhas. A presença de folhas nas estacas está

diretamente relacionada à indução radicial e à sobrevivência no leito de enraizamento, principalmente por as folhas atuarem no fornecimento de compostos como carboidratos, proteínas, auxinas e cofatores do enraizamento (HARTMANN et al., 2018). Deste modo, a alta mortalidade das estacas no inverno é justificada pela ausência de folhas.

TABELA 5.3 PORCENTAGEM DE CALOGÊNESE (EC), MORTALIDADE (EM), NOVAS BROTAÇÕES (EB) E MANUTENÇÃO FOLIAR (MF) DE ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS DE *A. brachiata* NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO E EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA.

Fator de variação	Variáveis			
	Estações do Ano	EC %	EM %	EB %
Verão	58,25 a	23,75 c	20,75 ab	53,25 a
Outono	37,75 b	42,00 b	30,50 a	12,50 b
Inverno	24,50 c	66,00 a	17,50 b	-
Primavera	13,00 c	50,50 b	2,50 c	20,00 b
IBA				
0 mg L ⁻¹ IBA	30,00 ab	45,31 a	16,56 a	32,50 a
2000 mg L ⁻¹ IBA	28,12 b	52,50 a	17,81 a	27,50 a
4000 mg L ⁻¹ IBA	31,56 ab	50,62 a	15,00 a	21,67 a
6000 mg L ⁻¹ IBA	33,44 ab	39,69 a	19,37 a	32,50 a
8000 mg L ⁻¹ IBA	43,75 a	39,69 a	20,31 a	28,75 a

FONTE: A autora (2022).

LEGENDA: Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Efetou-se a transformação por raiz quadrada dos dados para a variável estacas brotadas, pois esta variável não atendeu aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. O outono foi a estação com a maior porcentagem de estacas brotadas (30,50%), sendo também a estação com menor manutenção foliar (12,50%) (TABELA 5.3). Do ponto de vista fisiológico, a biossíntese de auxina pode ter sido retardada em função da perda de folhas nas estacas, diminuindo a razão auxina/citocinina e favorecendo a formação de novas brotações. A auxina é normalmente sintetizada nos tecidos apicais da parte aérea vegetal e transportada pelo floema em direção à base das estacas, estimulando a indução radicial (TAIZ et al., 2017).

5.3.2 Estaquia de *A. brachiata* a partir de matrizes adultas

Efetuiu-se a transformação por raiz quadrada dos dados para todas as variáveis analisadas, pois elas não atenderam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. De acordo com a ANOVA ($p < 0,01$), houve interação entre os fatores estações do ano e concentração de IBA apenas para as variáveis porcentagem de enraizamento, calogênese e mortalidade.

Houve enraizamento adventício apenas na coleta realizada na primavera, e as concentrações de IBA diferiram estatisticamente nos índices de enraizamento, sendo 4000 e 6000 mg L⁻¹ as mais eficientes (TABELA 5.4), apesar dos baixos resultados. Os maiores valores para número de raízes e comprimento médio de raízes também foram verificados nessas concentrações (4000 e 6000 mg L⁻¹), porém sem diferir estatisticamente da testemunha (0 mg L⁻¹) (TABELA 5.5).

TABELA 5.4 PORCENTAGEM DE ENRAIZAMENTO (EE), CALOGÊNESE (EC) E MORTALIDADE DE ESTACAS (EM) ORIUNDAS DE PLANTAS ADULTAS DE *A. brachiata* NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO E CONCENTRAÇÕES DE IBA.

EE (%)					
Estações do Ano	IBA (mg L ⁻¹)				
	0	2000	4000	6000	8000
Primavera	2,25 B	0,00 B	16,25 A	17,50 A	0,00 B
CV(%)	55,52				
EC (%)					
Estações do Ano	IBA (mg L ⁻¹)				
	0	2000	4000	6000	8000
Verão	5,00 abA	3,75 aA	11,25 aA	11,25 aA	12,50 aA
Outono	0,00 bB	5,00 aA	0,00 aA	7,50 aA	0,00 bA
Inverno	10,00 abA	11,25 aA	3,75 aA	6,25 aA	12,50 abA
Primavera	18,75 aA	1,25 aB	10,00 aAB	6,25 aAB	0,00 bB
CV(%)	37,54				
EM (%)					
Estações do Ano	IBA (mg L ⁻¹)				
	0	2000	4000	6000	8000
Verão	92,50 aA	95,00 aA	88,75 aA	88,75 aA	87,50 abA
Outono	63,75 bAB	56,25 bAB	65,00 bAB	51,25 bB	71,25 bA
Inverno	90,00 aA	88,75 aA	96,25 aA	93,75 aA	87,50 abA
Primavera	77,50 abB	97,50 aA	70,00 bB	76,25 aB	100,00 aA
CV(%)	50,17				

FONTE: A autora (2022)

LEGENDA: Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A aplicação exógena de auxinas, como o IBA, aumentam a porcentagem, uniformidade e velocidade do enraizamento (DIAS et al., 2012; PIRES; WENDLING; BRONDANI, 2013). Embora não tenha sido eficiente na estaquia a partir de plantas rejuvenescidas de *A. brachiata* como apresentado no experimento anterior (Item 5.3.1), percebe-se algum efeito da aplicação do IBA no enraizamento de estacas oriundas de plantas adultas.

Desta forma, as diferenças entre os estados de maturação dos propágulos podem ter influenciado na propensão ao enraizamento. Propágulos provenientes de plantas em crescimento juvenil possuem condições fisiológicas, como o balanço hormonal, que favorecem o enraizamento, muitas vezes não necessitando da aplicação de reguladores vegetais (DIAS et al., 2012; WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014; HARTMANN et al., 2018; SÁ et al., 2018; STUEPP et al., 2018). Com isso, a necessidade exógena de auxina para o enraizamento do presente estudo pode ter relação com a idade cronológica da planta-matriz, principalmente quanto à concentração de auxina endógenas insuficiente para promover a indução radicial.

TABELA 5.5 NÚMERO DE RAÍZES (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES (CMR) E NOVAS BROTAÇÕES (EB) DE ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS ADULTAS DE *A. brachiata* NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO E DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE IBA.

Fator de variação	Variáveis		
	NR	CMR (cm)	EB (%)
Estações do Ano			
Verão	0,00 b	0,00 b	2,45 bc
Outono	0,00 b	0,00 b	16,30 a
Inverno	0,00 b	0,00 b	8,75 ab
Primavera	2,40 a	1,58 a	1,00 c
IBA			
0 mg L ⁻¹ IBA	0,31 a	0,58 a	6,62 a
2000 mg L ⁻¹ IBA	0,00 a	0,00 a	9,06 a
4000 mg L ⁻¹ IBA	1,52 a	0,64 a	5,94 a
6000 mg L ⁻¹ IBA	1,17 a	0,75 a	6,56 a
8000 mg L ⁻¹ IBA	0,00 a	0,00 a	7,44 a
CV(%)	340,64	413,26	128,67

FONTE: A autora (2022)

LEGENDA: CV: Coeficiente de variação. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Como também constatado no experimento anterior (Item 5.3.1), verifica-se a grande influência das estações do ano no processo rizogênico de *A. brachiata*, não sendo recomendada a coleta de propágulos, provenientes tanto de plantas rejuvenescidas como adultas, nas estações frias (outono e inverno). A primavera é a estação mais viável e recomendada para estaquia da espécie, com melhores índices de enraizamento e maior desenvolvimento radicial. Maggioni et al. (2020) também obtiveram elevados índices de enraizamento (53,75%) em estacas coletadas na primavera, oriundas de matrizes rejuvenescidas.

Outros autores também indicam a primavera como a estação mais propícia para enraizamento de estacas de espécies como *Piptocarpha angustifolia* (FERRIANI et al., 2011), *Psychotria nuda* (NERY; ZUFFELLATO-RIBAS; KOEHLER, 2014) e *Ilex paraguariensis* (SÁ et al., 2018). Estes autores relataram que as condições fisiológicas das plantas foram mais favoráveis ao processo rizogênico nas estações mais quentes, devido à aceleração do metabolismo. A temperatura tem efeito direto sobre o metabolismo da planta, ou seja, quanto maior a temperatura mais aceleradas serão as reações químicas e maior a síntese de auxina (TAIZ et al., 2017).

De forma geral, as porcentagens de calogênese foram baixas em todos os tratamentos (TABELA 5.4). Como já relatado, a formação de raízes adventícias pode ocorrer a partir do calo, num processo denominado rizogênese indireta. Possivelmente, as concentrações de auxinas e cofatores do enraizamento foram insuficientes para a formação dessa massa indiferenciada de células como precursora de raízes.

Em relação às porcentagens de novas brotações, igualmente ao experimento com matrizes rejuvenescidas, os maiores valores para esta variável foram verificados no outono, não havendo diferença estatística nas diferentes concentrações de IBA (TABELA 5.5), demonstrando que, possivelmente, nesta estação houve uma menor síntese de auxina, diminuindo a razão auxina/citocinina e favorecendo a emissão de novas brotações.

Para a variável manutenção foliar, não foi possível submeter os dados à análise estatística pela elevada quantidade de valores nulos. A abscisão foliar está relacionada com o balanço entre os hormônios auxina e etileno. Baixos níveis

endógenos de auxinas e altos níveis de etileno levam à formação da camada de abscisão na base do pecíolo das folhas, provocando a queda precoce das folhas, pois a auxina atua como um supressor do efeito do etileno (TAIZ et al., 2017). Assim, novas metodologias poderiam ser testadas com aplicação foliar de auxinas, a fim de retardar a abscisão prematura das folhas e desta forma contribuir com a sobrevivência e enraizamento das estacas.

Contudo, as elevadas taxas de mortalidades verificadas em todos os tratamentos do presente estudo (TABELA 5.4) podem, também, estar relacionadas com a queda prematura das folhas, as quais funcionam como fonte de fotoassimilados necessários para suprir as atividades metabólicas das estacas. Além disso, a maturidade do material vegetal é outro fator que pode ter influenciado, já que propágulos coletados a partir de plantas adultas possuem menor capacidade regenerativa, refletindo diretamente na sobrevivência das estacas e na indução e vigor radicial (WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014; ZARGAR; KUMAR, 2018).

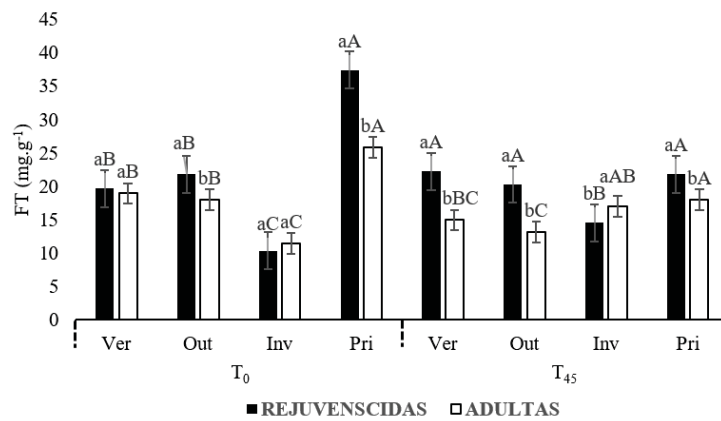
5.3.3 Composição bioquímica

De acordo com a análise de variância para composição bioquímica dos extratos de estacas de *A. brachiata*, houve interação significativa entre os fatores tipo de matrizes e épocas do ano, tanto no momento da instalação do experimento (T_0) quanto após 45 dias no ambiente de enraizamento (T_{45}), para as variáveis fenólicos totais (FT) e proteínas totais (PT). Analisando o conteúdo de compostos fenólicos em T_0 , nota-se que tanto para estacas coletadas de plantas rejuvenescidas como adultas, os maiores valores foram obtidos na primavera, 37,39 e 25,81 mg g⁻¹, respectivamente (FIGURA 5.2).

A formação de raízes adventícias é um processo complexo, dado que envolve a ação isolada e/ou a interação de diversos compostos químicos, como hormônios (PACURAR; PERRONE; BELLINI, 2014; DRUEGE; FRANKEN; HAJIREZAEI, 2016; OSTERC; PETKOVŠEK; STAMPAR, 2016; STEFFENS; RASMUSSEN 2016), carboidratos (DIAS; ONO; RODRIGUES, 2011; DENAXA; VEMMOS; ROUSSOS, 2012), proteínas (BORTOLINI et al., 2008; ZHANG et al., 2016) e compostos fenólicos (ASLMOSHTAGHI; REZA-SHAHSAVAR, 2010; DE

KLERK et al., 2011). Os compostos fenólicos estão envolvidos no enraizamento adventício de estacas por influenciarem nos níveis endógenos de IAA, podendo estimular ou inibir a formação de raízes (SCHWAMBACH et al., 2008; SHIOZAKI; MAKIBUCHI; OGATA, 2013).

FIGURA 5.2 TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (FT) EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS E ADULTAS DE *A. brachiata*, COLETADAS NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO, NO MOMENTO DA INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO (T₀) E APÓS 45 DIAS (T₄₅).



FONTE: A autora (2022)

LEGENDA: Para cada época de avaliação (T₀ e T₄₅, separadamente), médias seguidas por mesma letra minúscula entre matrizes das estacas (rejuvenescidas e adultas) e médias seguidas por mesma letra maiúscula entre estação do ano não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05).

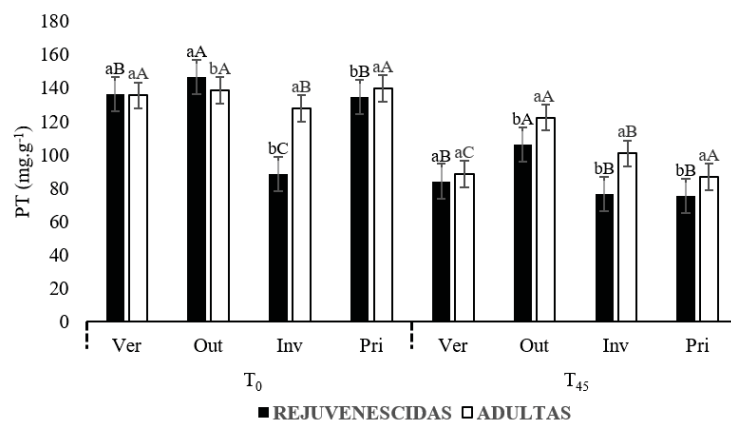
Os maiores índices de enraizamento no presente estudo, tanto para plantas rejuvenescidas como adultas, foram observados na primavera, sendo também a época com maiores índices de compostos fenólicos. Dessa forma, pode-se sugerir que os compostos fenólicos podem ter influenciado nos teores de IAA, estimulando o enraizamento das estacas, dado que foi verificada uma redução no teor de FT durante o enraizamento nessa época do ano, ou seja, os valores de compostos fenólicos em T₄₅ foram menores do que em T₀.

No entanto, segundo Shiozaki, Makibuchi e Ogata (2013), o efeito dos compostos fenólicos endógenos na formação de raízes adventícias pode ser mais complexo, porque a composição e concentração de FT podem variar com a espécie e com a fase de crescimento da planta. No presente estudo, não se verificou um

padrão no consumo de compostos fenólicos ao longo das épocas do ano, indicando que outros fatores poderiam estar agindo de forma simultânea no processo de rizogênese da espécie.

Em relação ao conteúdo de proteínas, o maior valor foi obtido em estacas coletadas de plantas rejuvenescidas no outono ($146,74 \text{ mg g}^{-1}$), os menores em estacas coletadas no inverno, tanto para plantas rejuvenescidas como adultas ($88,27 \text{ mg g}^{-1}$ e $127,75 \text{ mg g}^{-1}$, respectivamente). Notou-se uma redução no teor de proteínas durante o enraizamento, para todos os tratamentos, ou seja, os valores obtidos de PT em T_{45} foram inferiores aos obtidos em T_0 , indicando um possível consumo de proteínas totais no processo de rizogênese (FIGURA 5.3).

FIGURA 5.3 TEOR DE PROTEÍNAS TOTAIS (PT) EM ESTACAS ORIUNDAS DE PLANTAS REJUVENESCIDAS E ADULTAS DE *A. brachiata*, COLETADAS NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO, NO MOMENTO DA INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO (T_0) E APÓS 45 DIAS (T_{45}).



FONTE: A autora (2022)

LEGENDA: Para cada época de avaliação (T_0 e T_{45} , separadamente), médias seguidas por mesma letra minúscula entre matrizes das estacas (rejuvenescidas e adultas) e, médias seguidas por mesma letra maiúscula entre estação do ano não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As proteínas são compostos, com função estrutural e enzimática. As proteínas com função enzimática relacionam-se com o enraizamento adventício atuando na divisão e diferenciação celular (HUSEN, 2008), na sinalização e biossíntese das auxinas, além de atuarem em diversos outros processos fisiológicos (SAIRANEN et al., 2012).

Variações na temperatura e fotoperíodo podem interferir nos níveis de compostos bioquímicos e na capacidade rizogênica dos propágulos (COSTA et al., 2013; PACURAR; PERRONE; BELLINI, 2014). De forma geral, as maiores temperaturas e fotoperíodo na primavera e verão coincidem com o aumento do metabolismo da planta, com incrementos na produção e/ou mobilização de fotoassimilados (TAIZ et al., 2017). Em contrapartida, no outono e inverno, os dias curtos associados às baixas temperaturas intervêm negativamente no processo fotossintético das plantas matrizes (ALMEIDA et al., 2017).

Alguns autores sugerem que elevados níveis de proteínas nas estações de baixas temperaturas (outono e inverno), com índices reduzidos de enraizamento, se devem à presença de proteínas com funções estruturais por exemplo, proteínas ricas em glicina e prolina (BORTOLINI et al., 2008; FERRIANI et al., 2008). Outros autores relatam maior acúmulo de proteínas nas estações mais quentes (primavera e verão), sugerindo que essas proteínas teriam função enzimática, estando diretamente relacionadas com o enraizamento adventício (SÁ et al., 2021).

De forma geral, no presente estudo não houve uma relação clara do acúmulo de proteínas em estações frias ou quentes, tampouco resultados que relacionem os maiores valores de proteínas com maiores índices de enraizamento. Dessa forma, sugere-se que outros fatores estejam envolvidos com o enraizamento de estacas de *A. brachiata*, atuando isoladamente ou em conjunto.

5.3.4 Análises metabolômicas

Em relação aos metabólitos polares, a análise por CG-EM possibilitou a extração de 59 compostos nos extratos de estacas do peloteiro; no entanto, desses, 14 são metabólitos desconhecidos, ou seja, por mais que já tenham sido encontrados em outros organismos, ainda não possuem sua estrutura química elucidada. Desta forma, foram identificados 45 compostos, incluindo aminoácidos (12), ácidos orgânicos (8), açúcares (8), açúcares ácidos (6), álcoois de açúcares (5), aminas (2), fosfato (1), composto nitrogenado (1), ciclitol (1) e composto fenólico (1) (TABELA 5.6).

TABELA 5.6 METABÓLITOS IDENTIFICADOS EM EXTRATO METANÓLICO DE ESTACAS DE *A. brachiata*.

ID	RI	COMPOSTO	CLASSE
C3	1097,9	Alanina	Aminoácidos
C5	1209,6	Valina	Aminoácidos
C8	1287,1	Isoleucina	Aminoácidos
C10	1291,9	Prolina	Aminoácidos
C11	1299,7	Glicina	Aminoácidos
C15	1353,7	Serina	Aminoácidos
C17	1379,5	Treonina	Aminoácidos
C20	1514,0	Ácido Aspártico	Aminoácidos
C21	1522,8	cis - 4 - hydroxy – prolina	Aminoácidos
C27	1614,3	Ácido Glutâmico	Aminoácidos
C28	1620,7	Fenilalanina	Aminoácidos
C34	1766,9	Glutamina	Aminoácidos
C1	1053,1	Ácido Láctico	Ácidos orgânicos
C2	1076,6	Ácido Glicólico	Ácidos orgânicos
C12	1300,5	Ácido Maleico	Ácidos orgânicos
C13	1311,1	Ácido Succínico	Ácidos orgânicos
C18	1481,5	Ácido Málico	Ácidos orgânicos
C24	1569,5	2-hidroxi-ácido glutárico	Ácidos orgânicos
C37	1812,8	Ácido Cítrico	Ácidos orgânicos
C39	1849,6	Ácido Quínico	Ácidos orgânicos
C41	1871,7	Frutose	Açúcares
C43	1911,0	Glicose	Açúcares
C47	1969,3	Glicopirranose	Açúcares
C54	2306,2	Manose-6-fosfato	Açúcares
C55	2624,9	Sacarose	Açúcares
C57	2729,7	D- α , α -trealose	Açúcares
C59	2974,8	Galactinol	Açúcares
C61	3347,0	Raffinose	Açúcares
C14	1324,2	Ácido Glicérico	Açúcares ácidos
C33	1753,6	Ácido Ribônico	Açúcares ácidos
C45	1929,8	Ácido Glucurônico	Açúcares ácidos
C48	1981,2	Ácido Galactônico	Açúcares ácidos
C49	2001,8	Ácido Sacárico	Açúcares ácidos
C51	2031,2	Ácido Galactárico	Açúcares ácidos
C19	1500,2	Eritritol	Álcoois de açúcares
C29	1710,6	Arabitol	Álcoois de açúcares
C30	1715,2	Ribitol	Álcoois de açúcares

C44	1918,2	Mannitol	Álcoois de açúcares
C46	1926,6	Sorbitol	Álcoois de açúcares
C6	1260,2	Etanolamina	Aminas
C22	1524,5	4-amino-ácido butanico	Aminas
C7	1266,0	Ácido Fosfórico	Fosfato
C16	1359,5	2 – piperidina ácido carboxílico	Composto nitrogenado
C52	2081,2	Myo-inositol	Ciclitol
C60	3215,5	Luteolina	Composto fenólico

FONTE: A autora (2022)

LEGENDA: ID: código de identificação; RI: índice de retenção.

Os resultados da análise de fatores, envolvendo todas as variáveis medidas, são apresentados nas Tabelas 5.7 e 5.8. Esses resultados representam a redução do número inicial de variáveis representadas pelos fatores encontrados (variáveis latentes), com seus respectivos coeficientes.

TABELA 5.7 TOTAL DA VARIÂNCIA EXPLICADA PELOS FATORES EXTRAÍDOS.

Fator	Total	% da Variância	Variância explicada acumulada
1	13,688	32,591	32,591
2	9,956	23,705	56,296
3	6,283	14,961	71,257
4	3,046	7,251	78,508
5	2,335	5,558	84,067
6	2,03	4,834	88,901
7	1,384	3,294	92,195
8	1,043	2,482	94,678

FONTE: A autora (2022)

Por meio da análise foram extraídos oito fatores, que explicam 94,7% da variância total existente. Destes fatores foram selecionados os quatro primeiros que explicam 78,51% da variância total. Isto foi devido ao fato de que os quatro últimos fatores absorveram poucas variáveis em sua composição.

Os coeficientes encontrados, para cada variável no respectivo fator, representam sua importância e consistem na correlação entre a variável incluída e o fator extraído. No primeiro fator foram incluídas 14 variáveis, no segundo e terceiro seis variáveis e no quarto fator cinco variáveis. Foi considerada, para efeito da

composição de cada fator, a existência de uma correlação de no mínimo 0,60 para que a variável fosse incluída no fator.

TABELA 5.8 COEFICIENTES DOS QUATRO FATORES ESCOLHIDOS, ONDE CADA COEFICIENTE REPRESENTA A CORRELAÇÃO ENTRE A VARIÁVEL INCLUÍDA E O FATOR.

Variável	Fator extraído			
	1	2	3	4
Ácido Láctico		0,863		
Ácido Glicólico	0,847			
Alanina		0,866		
Valina				0,826
Etanolamina		0,946		
Ácido Fosfórico				0,643
Isoleucina				0,892
Ácido Maleico	0,931			
Glicina	0,906			
Ácido Succínico	0,948			
Ácido Glicérico	0,967			
Serina	0,783			
2 – piperidina ácido carboxílico	0,604			
Treonina	0,927			
Ácido Málico	0,931			
4-amino-ácido butanico		0,796		
2-hidroxi-ácido glutárico	0,951			
Fenilalanina				0,726
Arabitol				
Ácido Ribônico	0,886			
Glutamina		0,814		
Ácido Quínico		0,930		
Ácido Glucurônico				-0,613
Glicopirranose		0,884		
Ácido Galactônico			0,755	
Ácido Sacárico			0,76	
Myo-inositol			0,766	
Manose-6-fosfato	0,641			
Sacarose	-0,610			
D- α , α -trealose			0,776	
Galactinol			0,887	
Lueolina			0,922	
Raffinose	-0,657			

FONTE: A autora (2022)

A razão para o uso destes procedimentos foi que a análise de fatores agrupa as variáveis mais relacionadas em diferentes grupos de variáveis. Os grupos resultantes são os fatores. Uma vez selecionadas as variáveis que compõem cada um dos quatro grupos, foi realizada uma análise multivariada de variância (MANOVA) para avaliar os efeitos das matrizes dos propágulos (rejuvenescidas e adultas).

Os resultados da MANOVA indicam que, para todos os testes aplicados, os materiais de matrizes rejuvenescidas e adultas são diferentes nos fatores 1 e 4 ($p < 0,001$ e $p < 0,05$, respectivamente) e iguais nos fatores 2 e 3 ($p > 0,05$) (TABELA 5.9).

TABELA 5.9 RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA MULTIVARIADA, ENTRE OS PROPÁGULOS DE DIFERENTES MATRIZES, PARA O GRUPO DE VARIÁVEIS PRESENTES DO PRIMEIRO AO QUARTO FATOR.

		Fator 1		
		Valor	F	Significância
Matrizes	Traço de Pillai	0,941	10,230	< 0,001
	Lambda de Wilks	0,059	10,230	< 0,001
	Traço de Hotelling	15,913	10,230	< 0,001
	Maior raiz de Roy	15,913	10,230	< 0,001
		Fator 2		
		Valor	F	Significância
Matrizes	Traço de Pillai	0,370	1,667	0,190
	Lambda de Wilks	0,630	1,667	0,190
	Traço de Hotelling	0,588	1,667	0,190
	Maior raiz de Roy	0,588	1,667	0,190
		Fator 3		
		Valor	F	Significância
Matrizes	Traço de Pillai	0,247	0,929	0,499
	Lambda de Wilks	0,753	0,929	0,499
	Traço de Hotelling	0,328	0,929	0,499
	Maior raiz de Roy	0,328	0,929	0,499
		Fator 4		
		Valor	F	Significância
Matrizes	Traço de Pillai	0,440	2,829	0,047
	Lambda de Wilks	0,560	2,829	0,047
	Traço de Hotelling	0,786	2,829	0,047
	Maior raiz de Roy	0,786	2,829	0,047

FONTE: A autora (2022)

Uma vez executadas as análises de variância (MANOVA) para cada um dos grupos de variáveis, foi realizada uma análise de discriminantes para os grupos 1 e 4, pois somente para estes foram verificadas diferenças entre os tipos de matrizes.

Para o primeiro grupo de variáveis, em se tratando da comparação de apenas dois tipos de materiais, somente uma função discriminante foi determinada, apresentando uma correlação entre as variáveis avaliadas e a função discriminante de 0,95. A função discriminante encontrada selecionou os compostos ácido maleico, 2-hidroxi-ácido glutárico, manose-6-fosfato, ácido ribônico e glicina, como as variáveis de maior peso (TABELA 5.10). É importante notar que das 14 variáveis que compunham o grupo 1 (Fator 1), somente cinco foram consideradas significantes para a discriminação dos propágulos de diferentes matrizes.

Para o quarto grupo de variáveis também foi determinada somente uma função discriminante, apresentando uma correlação entre as variáveis avaliadas e a função discriminante de 0,66. A função discriminante encontrada selecionou somente o composto ácido fosfórico, como a variável de maior peso (TABELA 5.10). É importante notar que das cinco variáveis que compunham o grupo 4 (Fator 4), somente uma foi considerada significativa para a discriminação dos tipos de matrizes.

TABELA 5.10 COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS ORIGINAIS E A FUNÇÃO DISCRIMINANTE E VALOR DE F COM SUA SIGNIFICÂNCIA, PARA OS GRUPOS 1 e 4 DE VARIÁVEIS (FATORES 1 E 4).

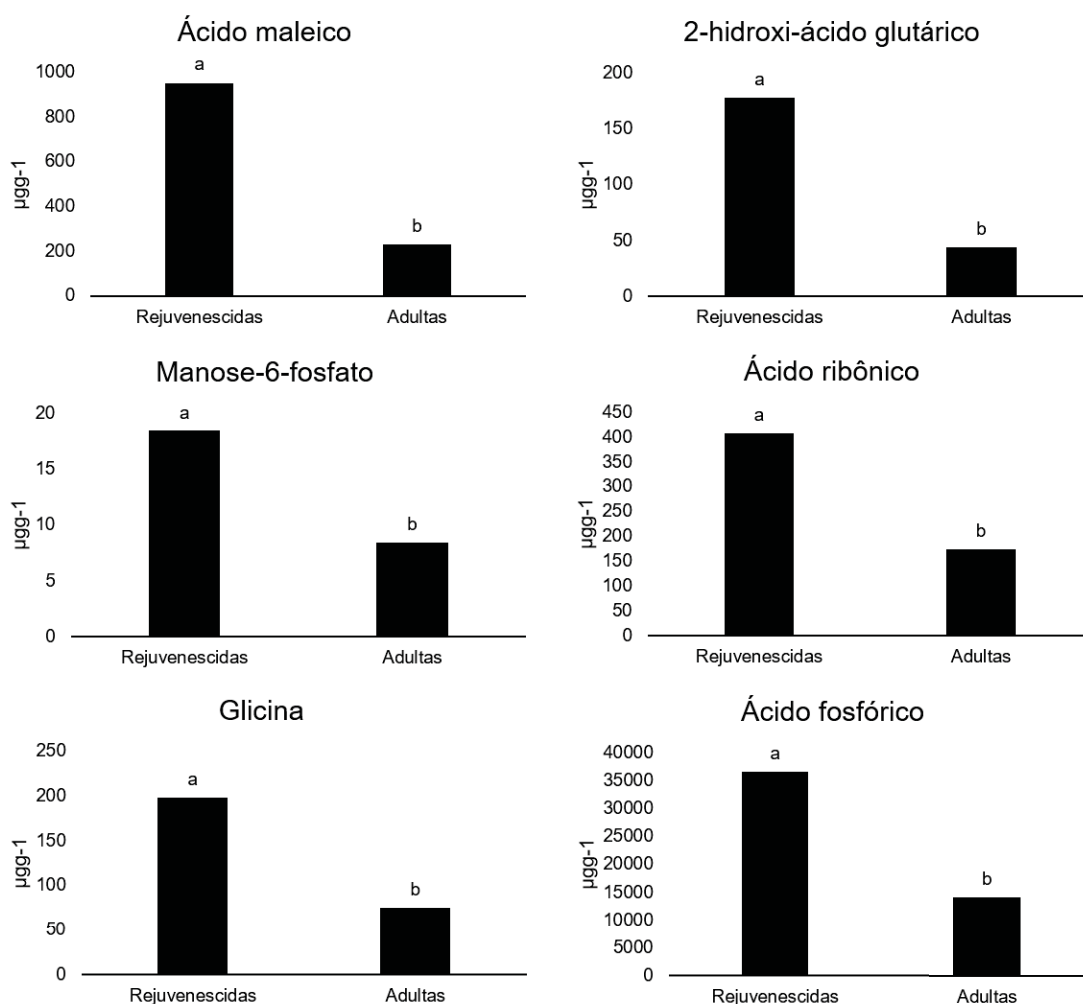
Grupo 1			
Variável	Coefficiente de correlação	Valor de F	Significância
Ácido maleico	-0,210	9,653	0,005
2-hidroxi-ácido glutárico	-0,185	7,436	0,012
Manose-6-fosfato	-0,177	6,867	0,016
Ácido ribônico	-0,173	6,551	0,018
Glicina	-0,144	4,545	0,044
Grupo 4			
Variável	Coefficiente de correlação	Valor de F	Significância
Ácido fosfórico	0,642	7,121	0,014

FONTE: A autora (2022)

As médias referentes às variáveis componentes das duas funções discriminantes obtidas para as variáveis do grupo 1 (Fator 1) e grupo 4 (Fator 4) em relação aos tipos de material são apresentadas na Figura 5.4. Para todas as

variáveis selecionadas após a análise das médias dos valores originais (FIGURA 5.4) e dos resultados discriminantes, verificou-se que propágulos de matrizes rejuvenescidas têm valores médios maiores que aqueles coletados de matrizes adultas.

FIGURA 5.4 MÉDIAS DAS VARIÁVEIS PRESENTES NAS FUNÇÕES DISCRIMINANTES, PARA CADA TIPO DE MATRIZ, PARA OS GRUPOS 1 E 4 (FATORES 1 E 4).



FONTE: A autora (2022)

As estacas obtidas de matrizes rejuvenescidas apresentaram porcentagens de enraizamento superiores àquelas oriundas de matrizes adultas. Desta forma, sugere-se que os metabólitos polares apresentados na Figura 5.4 tiveram um efeito

benéfico ao enraizamento adventício, atuando direta ou indiretamente na rizogênese.

Ácidos orgânicos, como o ácido maleico e o 2-hidroxi-ácido glutárico, possuem múltiplas funções nas plantas em resposta a tensões ambientais, como regulação do pH, ajuste osmótico e desintoxicação (KANG et al., 2019; ANDRADE et al., 2021). O ácido maleico é comumente encontrado em baixos níveis nas plantas, devido ao seu reduzido envolvimento em vias bioquímicas (MOLERO et al., 2019), e já foi descrito como um inibidor competitivo de várias enzimas do ciclo de Krebs (EVANS; GARRAWAY, 1984). No entanto, nenhum desses ácidos tem relação direta com o enraizamento adventício.

O acúmulo de manose-6-fosfato diminui o “pool” de pirofosfato (Pi) necessário para produção de ATP (HEROLD; LEWIS, 1977) e reprime a transcrição de genes associados com a fotossíntese (JANG; SHEEN, 1997), podendo causar efeitos deletérios ao crescimento e desenvolvimento das plantas. A presença desse composto estaria relacionada negativamente ao enraizamento adventício por reduzir a energia necessária à rizogênese, porém os resultados obtidos são contraditórios, visto que os maiores teores de manose-6-fosfato foram obtidos nos propágulos que apresentaram maior capacidade de enraizamento.

Não existem informações sobre o papel do ácido ribônico na fisiologia de plantas. Há relatos que o ácido γ -aminobutírico (GABA), um aminoácido não proteico que atua na defesa de plantas contra insetos, está envolvido no aumento de alguns metabólitos, como o ácido ribônico (LI et al., 2017). Não é possível confirmar uma relação desse composto com o enraizamento, recomendando-se estudos mais específicos que identifique a relação do GABA com o ácido ribônico.

Os aminoácidos são compostos-chave na via biossintética da maioria dos metabólitos secundários, desempenhando importantes papéis na formação de raízes adventícias por promoverem a síntese de proteínas específicas necessárias à iniciação radicial e por serem precursores de hormônios vegetais (TAIZ et al., 2017). A glicina é um aminoácido abundante nos cloroplastos e participa no ajuste e na proteção das membranas dos tilacoides e, deste modo, auxilia na eficiência fotossintética (CHEN; MURATA, 2011). Assim, o acúmulo deste composto em

estacas de matrizes rejuvenescidas pode ter beneficiado o enraizamento adventício por melhorar a produção de assimilados necessários à rizogênese.

O ácido fosfórico é um composto importante no fornecimento de fósforo para as plantas, sendo este um elemento essencial, incorporado a uma diversidade de compostos orgânicos, como açúcares, fosfolipídeos, nucleotídeos e ATP (TAIZ et al., 2017). A maior concentração de ácido fosfórico em estacas rejuvenescidas pode ter influenciado positivamente na propensão ao enraizamento, dada a importância do fósforo no metabolismo vegetal, principalmente no armazenamento de energia.

Além dos metabólitos apresentados na Figura 5.4, vale ressaltar que oito açúcares foram identificados nos extratos de estacas do peloteiro. Os açúcares influenciam na emissão e formação de raízes por serem fonte de carbono e energia para biossíntese de diversas substâncias essenciais à rizogênese. A sacarose pode ser diretamente utilizada como recurso energético auxiliando no processo de divisão celular para formação do primórdio radicial (AHKAMI et al., 2009). Estacas com altos teores de açúcares geralmente resultam em melhores porcentagens de enraizamento (HARTMANN et al., 2011).

Ainda, observou-se a presença de compostos de importância farmacológica nos propágulos do peloteiro, como a luteolina e a glutamina. A luteolina é um flavonóide natural com elevada capacidade antioxidante e efeito anti-inflamatório, comumente encontrado em espécies da família Lamiaceae, como *Vitex negundo* (DHANOKAR et al., 2020), *Salvia sp.*, *Ocimum sp.*, *Origanum sp.* e *Thymus sp.* (PICOS-SALAS et al., 2021). Já a glutamina é um aminoácido de grande importância à saúde humana; há relatos de efeitos positivos da suplementação de glutamina no tratamento de pacientes oncológicos, por ser um excelente imunomodulador (FILLMANN et al., 2007; URBINA et al., 2017; CHITAPANARUX et al., 2020). Dessa forma, torna-se necessário pesquisas específicas para avaliar o potencial medicinal do peloteiro.

Dada a diversidade de metabólitos com funções distintas e vitais no crescimento e desenvolvimento das plantas, estudos são necessários para avaliar a relação direta e indireta entre os metabólitos e a indução radicial em estacas de espécies florestais nativas.

5.3.5 Análises anatômicas

As estacas de matrizes rejuvenescidas e adultas apresentaram padrão anatômico semelhante. Em ambos os materiais, observou-se crescimento secundário estabelecido, caracterizado pela presença de xilema e floema secundários além de início da formação da periderme (FIGURA 5.5A-B).

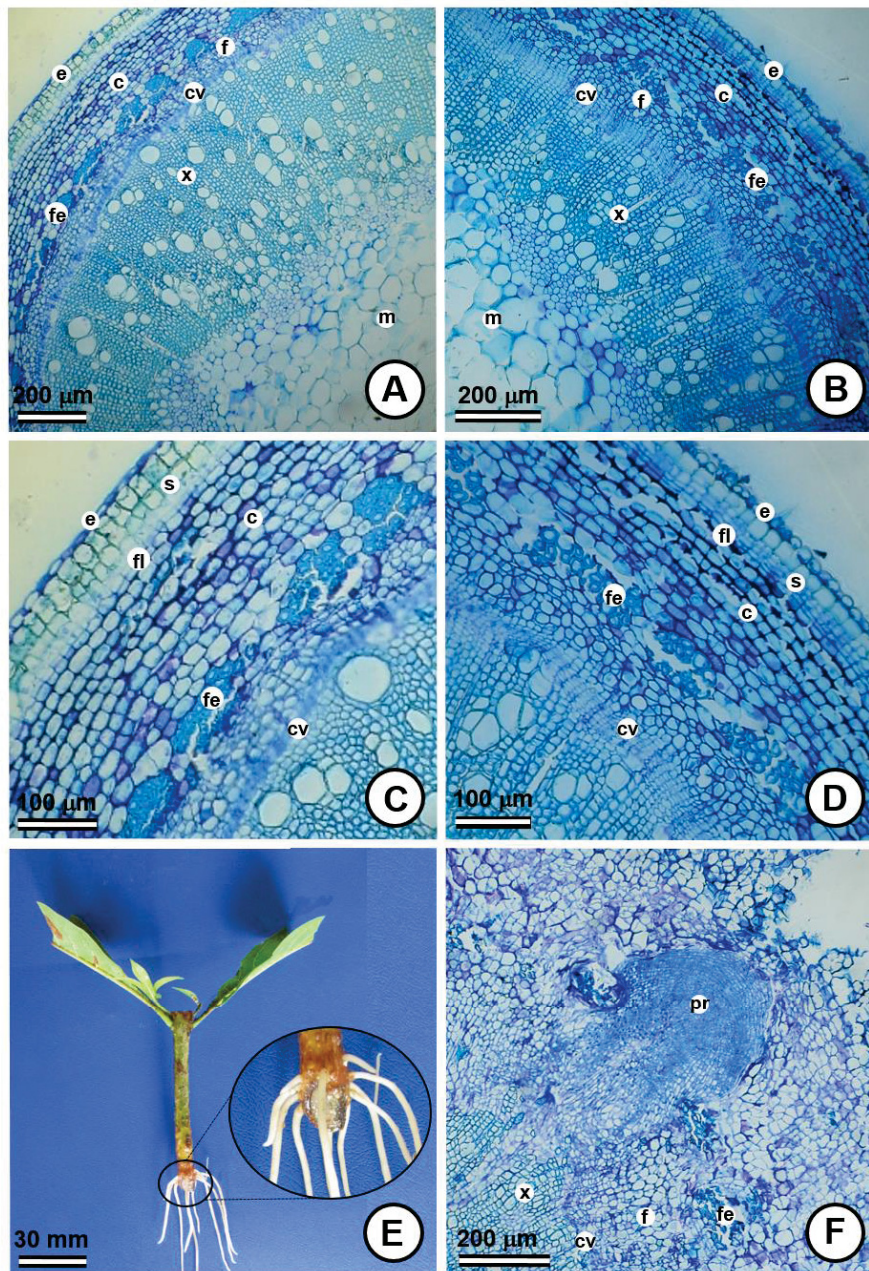
A região cortical apresentou feixes de fibras esclerenquimáticas dispostas em um anel descontínuo (FIGURA 5.5A-B). Algumas características anatômicas podem limitar a formação de raízes adventícias, principalmente, devido a presença de tecido esclerenquimático, que podem atuar como barreira mecânica na emissão dos primórdios radiciais (LIMA et al., 2011; WENDLING; BROOKS; TRUEMAN, 2015).

Vários estudos anatômicos sugerem uma correlação entre a dificuldade no enraizamento de estacas e a presença de um anel contínuo de esclerênquima (AMISSAH; PAOLILLO; BASSUK, 2008; LIMA et al., 2011; PORFÍRIO et al., 2016). No peloteiro, a descontinuidade do anel de fibras esclerenquimático provavelmente impede que esta barreira atue de forma impeditiva à emissão de raízes, sendo facilmente penetrado pela pressão do primórdio radicial (FIGURA 5.5F).

O câmbio vascular apresenta-se bastante ativo, com uma faixa larga de células em diferenciação, não sendo observada diferença aparente entre os materiais avaliados. A medula é composta por células parenquimáticas e o caule é revestido por uma epiderme unisseriada recoberta por cutícula, com felogênio já em atividade na camada subepidérmica (FIGURA 5.5C-D).

Verificou-se que a formação do primórdio radicial ocorreu a partir do câmbio vascular, fato evidenciado pela proliferação de células nesta região que deslocou as estruturas adjacentes para a periferia (FIGURA 5.5F). A origem das raízes adventícias provém da desdiferenciação de vários tecidos celulares, como os tecidos subepidérmicos, do córtex, do câmbio, do floema secundário, do periciclo ou dos feixes vasculares, e varia de uma espécie para outra (AGULLÓ-ANTÓN et al., 2014; DENAXA et al., 2019).

FIGURA 5.5 SEÇÕES TRANSVERSAIS DA BASE CAULINAR DE ESTACAS DE *A. brachiata*: VISÃO GERAL DE ESTACAS ORIUNDAS DE MATRIZES REJUVENESCIDAS (A); VISÃO GERAL DE ESTACAS ORIUNDAS DE MATRIZES ADULTAS (B); DETALHES DA SEÇÃO TRANSVERSAL DE ESTACAS ORIUNDAS DE MATRIZES REJUVENESCIDAS (C); DETALHES DA SEÇÃO TRANSVERSAL DE ESTACAS ORIUNDAS DE MATRIZES ADULTAS (D); DETALHE DA PORÇÃO BASAL DA ESTACA ENRAIZADA (E); DESENVOLVIMENTO DO PRIMÓRDIO RADICIAL A PARTIR DO CÂMBIO VASCULAR (F).



FONTE: A autora (2022)

LEGENDA: cv: câmbio vascular; c: córtex; e: epiderme; f: floema; fe: feixes de fibras esclerênquimáticas; fl: felogênio; m: medula; s: súber; x: xilema; pr: primórdio radicial.

Embora o enraizamento de estacas oriunda de matrizes rejuvenescidas tenha sido superior ao de estacas adultas, não foram observadas diferenças anatômicas entre os dois materiais, tampouco relação entre a presença de tecidos esclerenquimáticos e a capacidade rizogênica, visto que os dois padrões de estacas apresentaram feixes de fibras esclerenquimáticas e que o enraizamento adventício ocorreu apesar da presença desses feixes.

5.4 CONCLUSÕES

A estaquia por meio de propágulos provenientes de matrizes rejuvenescidas é viável e recomendada para produção de mudas do peloteiro, não sendo necessária a aplicação de IBA para indução radicial.

A estaquia com o uso de propágulos provenientes de matrizes adultas não é indicada para produção de mudas de *A. brachiata*.

As estações do ano influenciam a capacidade rizogênica do peloteiro, sendo a primavera a melhor estação de coleta dos propágulos com maior produção de compostos fenólicos totais, refletindo em maior enraizamento. No processo de rizogênese há um possível consumo de compostos fenólicos e proteínas totais.

Foram identificados 45 compostos nos extratos do peloteiro, em sua maioria aminoácidos. Os metabólitos ácido maleico, 2-hidroxi-ácido glutárico, manose-6-fosfato, ácido ribônico, glicina e ácido fosfórico foram observados em maiores concentrações em propágulos oriundos de matrizes rejuvenescidas, possibilitando maior capacidade rizogênica.

Não há diferenças anatômicas entre estacas oriundas de plantas rejuvenescidas e adultas da espécie, tampouco barreiras anatômicas que impeçam o enraizamento adventício. A formação do primórdio radicial ocorre a partir do câmbio vascular.

5.5 REFERÊNCIAS

AGULLÓ-ANTÓN, M. Á.; FERNÁNDEZ-AYELA, A.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, N.; NICOLÁS, C.; ALBACETE, A.; PÉREZ-ALFOCEA, F.; SÁNCHEZ-BRAVO, J.; PÉREZ-PÉREZ, J. M.; ACOSTA, M. Early steps of adventitious rooting: Morphology, hormonal profiling and carbohydrate turnover in carnation stem cuttings. **Physiologia Plantarum**, v. 150, n. 3, p. 446–462, 2014.

AHKAMI, A. H.; LISCHEWSKI, S.; HAENSCH, K.; PORFIROVA, S.; HORFMANN, J.; ROLLETSCHEK, H.; MELZER, M.; FRANKEN, P.; HAUSE, B.; DRUEGE, U.; 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.

ALMEIDA, M. R. de; AUMOND JR. M.; COSTA, C. T. da; SCHWAMBACH, J.; RUEDELL, C. M.; CORREA, L. R.; FETTNETO, A. G. Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings. **Trees**, v.31, p.1377-1390, 2017.

AMISSAH, J. N.; PAOLILLO, D. J. JR.; BASSUK, N. Adventitious root formation in stem cuttings of *Quercus bicolor* and *Quercus macrocarpa* and its relationship to stem anatomy. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 133, n. 4, p. 479-486, 2008.

ANDERSON, T. W. **An introduction to multivariate statistical analysis**. 3 ed. New York: J. Wiley, 2003. 752 p.

ANDRADE, A.; BOERO, A.; ESCALANTE, M.; LLANES, A.; ARBONA, V.; GOMEZ-CADENAS, A.; ALEMANO, S. Comparative hormonal and metabolic profile analysis based on mass spectrometry provides information on the regulation of water-deficit stress response of sunflower (*Helianthus annuus* L.) inbred lines with different water-deficit stress sensitivity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 168, p. 432-446, 2021.

ARI, E. Effects of different substrates and IBA concentrations on adventitious rooting of native *Vitex agnus-castus* L. cuttings. **Acta Scientiarum Polonorum- Hortorum Cultus**, v. 15, n. 2, p. 27-41, 2016.

ASLMOSHTAGHI, E.; REZA-SHAHSAVAR, A. Endogenous soluble sugars, starch contents and phenolic compounds in easy - and difficult – to – root olive cuttings. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences**, v. 4, n. 11, p. 83–86, 2010.

BORTOLINI, M. F. et al. *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: Enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, v. 18, n. 2, p. 159–171, 2008.

BRANCALION, P. H. S.; VIANI, R.; ARONSON, J.; RODRIGUES, R. R.; NAVE, A. G. Improving planting stocks for the Brazilian Atlantic Forest restoration through community-based seed harvesting strategies. **Restoration Ecology**, v. 20, p. 704–711, 2012.

CARPANEZZI, A.A.; CARPANEZZI, O.T.B. **Espécies nativas recomendadas para recuperação ambiental no Estado do Paraná, em solos não degradados**. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 52p. (Embrapa Florestas. Documentos, 136).

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. **Plant, Cell e Environmental**, v. 34, n. 1, p. 1-20, 2011.

CHITAPANARUX, I.; TRAISATHIT, P.; CHITAPANARUX, T.; JIRATRACHU, R.; CHOTTAWEESAK, P.; CHAKRABANDHU, S.; RASIO, W.; PISPRASERT, V.; SRIPAN, P. Arginine, glutamine, and fish oil supplementation in cancer patients treated with concurrent chemoradiotherapy: A randomized control study. **Current Problems in Cancer**, v. 44, n. 1, 2020.

COSTA, C. T.; ALMEIDA, M. R.; RUEDELL, C. M.; SCHWAMBACH, J.; MARASCHIN, F. 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. 1-19, 2013.

DE KLERK, G. J.; GUAN, H.; HUISMAN, P.; MARINOVA, S. Effects of phenolic compounds on adventitious root formation and oxidative decarboxylation of applied indoleacetic acid in *Malus* “Jork 9”. **Plant Growth Regulation**, v. 63, n. 2, p. 175–185, 2011.

DENAXA, N. K.; VEMMOS, S. N.; ROUSSOS, P. A. The role of endogenous carbohydrates and seasonal variation in rooting ability of cuttings of an easy and a hard to root olive cultivars (*Olea europaea* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 143, p. 19–28, 2012.

DHANOKAR, S.; KALE, M.; AHER, A.; GAWALI, S.; PATIL, R. LUTEOLIN-Phytoconstituents Responsible For Anti-Inflammatory Activity in Leaves of *Vitex negundo* Linn. (Lamiaceae). **Current Trends in Pharmacy and Pharmaceutical Chemistry**, v. 2, n. 4, p. 45-50, 2020.

DIAS, C. D.; OLIVEIRA, L. S.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 72, p. 453-462, 2012.

DIAS, J. P. T.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. IBA e carboidratos no enraizamento de brotações procedentes de estacas radiciais de *Rubus* spp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. spe1, p. 666–671, 2011.

DRUEGE, U.; FRANKEN, P.; HAJIREZAEI, M. R. Plant hormone homeostasis, signaling, and function during adventitious root formation in cuttings. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 381, 2016.

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.

ERTURK, Y.; ERCISLI, S.; HAZNEDAR, A.; CAKMAKCI, R. Effects of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. **Biological Research**, v. 43, p. 91-98, 2010.

EVANS, R. C.; GARRAWAY, M. O. Effect of nitrogen-source and vitamins on ethanol and pyruvate production by *bipolaris-maydis* race. **Mycopathol. Mycol. Appl**, v. 76, p. 515–522, 1984.

FERREIRA, D. F. **Estatística Multivariada**. 3 ed. Lavras: UFLA, 2018. 624 p.

FERRIANI, A. P. et al. Estaquia e anatomia de vassourão-branco. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 2, p. 159–166, 2008.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; HELM, C. V.; BOZA, A.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Produção de brotações e enraizamento de miniestacas de *Piptocarpha angustifolia*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, n. 67, p. 257-264, 2011.

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.

FILLMANN, H.; KRETZMANN, N. A.; SAN-MIGUEL, B.; LLESUY, S.; MARRONI, N.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; TUÑÓN, M. J. Glutamine inhibits over-expression of pro-inflammatory genes and down-regulates the nuclear factor kappa B pathway in an experimental model of colitis in the rat. **Toxicology**, v. 236, n. 3, p. 217-26, 2007.

FRAGOSO, R. O.; WITT, N. G. P. M.; OBRZUT, V. V.; VALÉRIO, S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; STUEPP, C. A. Maintenance of leaves and indolebutyric acid in rooting of juvenile Japanese Flowering Cherry cuttings. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 97-101, 2015.

FRANÇA, F. **Revisão de *Aegiphila* Jacq. (Lamiaceae) e seu posicionamento sistemático**. 2003. 500f. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

HAIR JUNIOR, J.F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. **Análise multivariada de dados**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2005, 593 p.

HARLEY, R.; FRANÇA, F.; SANTOS, E.P.; SANTOS, J.S.; PASTORE, J.F. **Lamiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8104>>. Acesso em: 14 junho 2020.

HARTMANN, H. T.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L.; WILSON, S. B. *Plant propagation: principles and practices*. Ninth edition ed. NY, NY: Pearson, 2018.

HEROLD, A.; LEWIS, D.H. Mannose and green plants: occurrence, physiology and metabolism, and use as a tool to study the role of orthophosphate. **New Phytologist**, v. 79, p. 1-40, 1977.

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.

JANG, J.C.; SHEEN, J. Sugar sensing in higher plants. **Trends Plant Science**, Oxford, v. 2, p. 208-214, 1997.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York, MacGraw-Hill Book Co. 1940.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 4 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 816 p.

KACHIGAN, S. K. **Multivariate statistical analysis**. 2 ed. New York: Radius Press, 1991. 303 p.

KANG, Z.Y.; BABAR, M.A.; KHAN, N.; GUO, J.; KHAN, J.; ISLAM, S.; SHRESTHA, S.; SHAHI, D. Comparative metabolomic profiling in the roots and leaves in contrasting genotypes reveals complex mechanisms involved in post-anthesis drought tolerance in wheat. **PLoS One**, v. 14, n. 25, 2019.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198 p.

LI, Z.; YU, J.; PENG, Y.; HUANG, B. Metabolic pathways regulated by abscisic acid, salicylic acid and γ -aminobutyric acid in association with improved drought tolerance in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). **Physiologia Plantarum**, v. 159, n. 1, p. 42–58, 2017.

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 Medicinais**, v. 13, n. 4, p. 422–438, 2011.

MAGGIONI, R.A.; VIEIRA, L.M.; INVERNIZZI, S.F.; CARPANEZZI, A.A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C. Germination potential and vegetative propagation of *Aegiphila brachiata* Vell. **Cerne**, v. 26, n. 2, p. 222-231, 2020.

MARRIOTT, F. H. C. **The interpretation of multiple observations**. London: Academic Press, 1974. 117 p.

MELO, T. O.; FRANCISCON, L.; BROWN, G.; KOPKA, J.; CUNHA, L.; MARTINEZ-SEIDEL, F.; MADUREIRA, L. A. S.; HANSEL, F. A. Univariate statistical analysis of gas chromatography – mass spectrometry fingerprints analyses. **Chemical Data Collections**, v. 33, 100719, 2021.

MOLERO, G.; TCHERKEZ, G.; ROCA, R.; MAUVE, C.; CABRERA-BOSQUE, L.; ARAUS, J. L.; NOGUÉS, S.; ARANJUELO, I. Do metabolic changes underpin physiological responses to water limitation in alfalfa (*Medicago sativa*) plants during a regrowth period? **Agricultural Water Management**, v. 212, P. 1-11, 2019.

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.

NERY, F. S. G.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. Enraizamento de *Psycotria nuda* (Cham. & Schltld.) Wawra (Rubiaceae) nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 1, p. 243-250, 2014.

NUNES, S.; GASTAUER, M.; CAVALCANTE, R. B. L.; RAMOS, S. J.; CALDEIRA JÚNIOR, C. F.; SILVA, D.; RODRIGUES, R. R.; SALOMÃO, R.; OLIVEIRA, M.; SOUZA-FILHO, P. W. M.; SIQUEIRA, J. O. Challenges and opportunities for large-scale reforestation in the Eastern Amazon using native species. **Forest Ecology and Management**, v. 466, p. 118-120, 2020.

NUNES, A.; OLIVEIRA, G.; MEXIA, T.; VALDECANTOS, A.; ZUCCA, C.; COSTANTINI, E. A. C.; AABRAHAM, E. M.; KYRIAZOPOULOS, A. P.; SALAH, A.; PRASSE, R.; CORREIA, O.; MILLIKEN, S.; KOTZEN, B.; BRANQUINHO, C. Ecological restoration across the Mediterranean Basin as viewed by practitioners. **Science of the Total Environment**, v. 566–567, p. 722–732, 2016.

OLIVEIRA, M.C.; RIBEIRO, J.F. Enraizamento de estacas de *Euplassa inaequalis* (Pohl) Engl. de mata de galeria em diferentes estações do ano. **Bioscience Journal**, v. 29, p. 991-999, 2013.

OSTERC, G.; PETKOVŠEK, M. M.; STAMPAR, F. Quantification of IAA metabolites in the early stages of adventitious rooting might be predictive for subsequent differences in rooting response. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 35, n. 2, p. 534–542, 2016.

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.

PEÑA, M. L. P.; ZANETTE, F.; BIASI, L. A. Época de coleta e ácido indolbutírico no enraizamento de miniestacas de pitangueira. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 5, p. 3055-3068, 2015.

PICOS-SALAS, M. A.; HEREDIA, J. B.; LEYVA-LÓPEZ, N.; AMBRIZ-PÉREZ, D. L.; GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E. P. Extraction Processes Affect the Composition and Bioavailability of Flavones from Lamiaceae Plants: A Comprehensive Review. **Processes**, v. 9, p. 1675-713, 2021.

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

PORFIRIO, S.; CALADO, M. L.; NOCEDA, C.; CABRITA, M. J.; SILVA, M. G.; AZADI, P.; PEIXE, A. Scientia Horticulturae Tracking biochemical changes during adventitious root formation in olive (*Olea europaea* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 204, p. 41–53, 2016.

SÁ, F. P.; GOMES, E. N.; MAGGIONI, R. A.; WENDLING, I.; HELM, C. V.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Biochemical and anatomical features of adventitious rhizogenesis in apical and basal mini-cuttings of *Ilex paraguariensis*. **New Forests**, p. 1-20, 2021.

SÁ, F. P. de; 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.

SCHWAMBACH, J.; RUEDELL, C.; ALMEIDA, M. R.; PENCHEL, R.; ARAÚJO, E.; FETT-NETO, A. Adventitious rooting of *Eucalyptus globulus* x *maidennii* mini-cuttings derived from mini-stumps grown in sand bed and intermittent flooding trays: A comparative study. **New Forests**, v. 36, n. 3, p. 261–271, 2008.

SHIOZAKI, S.; MAKIBUCHI, M.; OGATA, T. Hardwood cuttings of recalcitrant-to-root wild grapes native to East Asia: *Vitis davidii* and *Vitis kiusiana*. **Journal of Botany**, v. 2013, p. 1–9, 2013.

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

STEFFENS, B.; RASMUSSEN, A. The physiology of adventitious roots. **Plant Physiology**, v. 170, p. 603–617, 2016.

STUEPP, C. A.; WENDLING, I.; XAVIER, A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 53, n. 9, p. 985-1002, 2018.

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.

URBINA, J. J. O.; SAN-MIGUEL, B.; VIDAL-CASARIEGO, A.; CRESPO, I.; SÁNCHEZ, D. I.; MAURIZ, J. L.; CULEBRAS, J. M.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; TUÑÓN, M. J. Effects Of Oral Glutamine on Inflammatory and Autophagy Responses in Cancer Patients Treated With Abdominal Radiotherapy: A Pilot Randomized Trial. **International Journal of Medical Sciences**, v. 14, n. 11, p. 1065-1071, 2017.

WENDLING, I.; BROOKS, P. R.; TRUEMAN, S. J. *Topophys* in *Corymbia torelliana* × *C. citriodora* seedlings: adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. **New Forests**, v. 46, n. 1, p. 107–120, 2015.

WENDLING, I.; STUEPP, C.A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C. Araucaria clonal forestry: types of cuttings and mother tree sex in field survival and growth. **Cerne**. v. 22, n. 1, p. 19-26, 2016.

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, p. 449-471, 2014.

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

ZARGAR, A. R.; KUMAR, D. Effect of Maturity Stage of Donor Plant on Propagation of *Diploknema butyracea* through Branch Cuttings. **World Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 1, p. 15-19, 2018.

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 Plant Growth Regulation**, v. 35, p. 1-12, 2016.

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

6 CONCLUSÕES GERAIS

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

A estaquia por meio de propágulos provenientes de matrizes rejuvenescidas é viável e recomendada para produção de mudas de *Aegiphila brachiata*. Já o uso de propágulos provenientes de matrizes adultas não é indicado para produção de mudas da espécie.

A inoculação de *Azospirillum brasilense* em estacas não influencia a rizogênese do peloteiro.

As estações do ano influenciam a capacidade rizogênica do peloteiro, sendo a primavera a melhor estação de coleta dos propágulos com maior produção de compostos fenólicos totais, refletindo em maior enraizamento. No processo de rizogênese há um possível consumo de compostos fenólicos e proteínas totais.

Os metabólitos ácido maleico, 2-hidroxi-ácido glutárico, manose-6-fosfato, ácido ribônico, glicina e ácido fosfórico foram observados em maiores concentrações em propágulos oriundos de matrizes rejuvenescidas, influenciando positivamente na capacidade rizogênica.

Não há diferenças anatômicas entre estacas oriundas de plantas rejuvenescidas e adultas da espécie, e os feixes de fibras esclerenquimáticas não atuam como barreiras anatômicas que impeçam o enraizamento adventício.

O fruto de *A. brachiata* é do tipo carnoso indeiscente com cálice persistente; a semente apresenta embrião axial e cotilédones espatulados; a germinação é hipógea e a muda criptocotiledonar.

Sementes de *A. brachiata* possuem baixo potencial germinativo, devido à uma barreira física/mecânica do endocarpo, não somente à absorção de água como à expansão do embrião e emissão da radícula.

A retirada total do endocarpo é o método mais indicado para superação da dormência mecânica e as temperaturas de 25 e 30°C são recomendadas para germinação da espécie.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES PARA PESQUISAS

Os estudos realizados na presente tese são pioneiros e dão início à compreensão dos processos de produção de mudas de *Aegiphila brachiata*, fornecendo importantes perspectivas para pesquisas futuras e usos potenciais, dada a escassez de informações sobre essa espécie nativa.

Constatou-se neste estudo algumas dificuldades relacionadas à propagação seminal da espécie, sendo que parte dos entraves que tangem à germinação foram compreendidos e solucionados. No entanto, as porcentagens de germinação ainda não são satisfatórias, sendo necessárias pesquisas para otimizar esse processo. Recomenda-se estudos que visem identificar se existe outra dormência associada à dormência mecânica das sementes, como a dormência fisiológica, sugerindo a utilização de tratamentos com giberelina aliados à retirada do endocarpo. Além disso, recomenda-se análises anatômicas e a aplicação de testes viabilidade e vigor das sementes, como o teste de tetrazólio, a fim de se verificar o potencial fisiológico das sementes e, dessa forma, acelerar e trazer homogeneidade para o processo germinativo e formação das mudas.

A propagação vegetativa por meio da estaquia mostrou-se uma alternativa viável para a produção de mudas de *A. brachiata*; no entanto, há muito o que aprimorar, visto os índices ainda regulares de enraizamento apresentados neste estudo. Recomenda-se tratamentos com pulverização de auxina com intuito de aumentar a relação auxina/etileno e evitar a abscisão prematura das folhas. Trabalhos com miniestaquia da espécie também podem trazer resultados mais promissores de enraizamento, já que são diversos os relatos do sucesso dessa técnica de rejuvenescimento na propagação de espécies florestais. Sugere-se também a avaliação dos níveis endógenos de ácido-indol-3-acético nas estacas, relacionando-os com o acúmulo de flavonoides, como a luteolina, e com o ácido glicurônico, com o intuito de identificar se existe relação desses metabólitos com a proteção e conjugação da auxina endógena.

Como os estudos realizados nessa tese são pioneiros, e pouco se sabe sobre *A. brachiata*, há muitas pesquisas a serem desenvolvidas não só para aprimorar os processos de produção de mudas, mas também para conhecer os potenciais usos

dessa espécie nativa. A espécie pode apresentar potenciais alimentícios por meio de seus frutos, que apresentam sabor peculiar. Dessa forma, sugere-se estudos visando a caracterização nutricional e testes de aceitação do fruto do peloteiro.

Visto todo o histórico medicinal e aromático da família Lamiaceae e especificamente do gênero *Aegiphila*, somado à presença de metabólitos com importância farmacológica encontrados no capítulo III da presente tese, como a luteolina (possui capacidade antioxidante, anti-inflamatória e propriedades anti-tumorais), pesquisas que identifiquem o potencial medicinal do peloteiro podem auxiliar na descoberta e elaboração de novos fármacos.

Esse foi o primeiro estudo com produção de mudas de *A. brachiata* e um dos poucos na literatura que trata especificamente dessa espécie, o que traz grandes perspectivas para pesquisas futuras com intuito não somente de aprimorar os processos de produção de mudas mas de unir informações que agreguem valor à espécie, demonstrando seus potenciais.

8 REFERÊNCIAS GERAIS

- ABUD, H. F.; GONÇALVES, N. R.; REIS, R. E. R.; GALLÃO, M. I.; INNECCO, R. Morfologia de sementes e plântulas de cártamos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 259-265, 2010.
- AGULLÓ-ANTÓN, M. Á.; SANCHES-BRAVO, J.; ACOSTA, M.; DRUEGE, U. Auxins or sugars: what makes the difference in the adventitious rooting of stored carnation cuttings? **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 30, n. 1, p. 100–113, 2011.
- AGULLÓ-ANTÓN, M. Á.; FERNÁNDEZ-AYELA, A.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, N.; NICOLÁS, C.; ALBACETE, A.; PÉREZ-ALFOCEA, F.; SÁNCHEZ-BRAVO, J.; PÉREZ-PÉREZ, J. M.; ACOSTA, M. Early steps of adventitious rooting: Morphology, hormonal profiling and carbohydrate turnover in carnation stem cuttings. **Physiologia Plantarum**, v. 150, n. 3, p. 446–462, 2014.
- AHKAMI, A. H.; LISCHESKI, S.; HAENSCH, K.; PORFIROVA, S.; HORFMANN, J.; ROLLETSCHEK, H.; MELZER, M.; FRANKEN, P.; HAUSE, B.; DRUEGE, U.; 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.
- ALMEIDA, A. B.; LIMA, T. M.; OLIVEIRA-FILHO, J. G.; ALMEIDA, M. J.; PRADO, N. F. O.; SILVA, R. M. P.; EGEA, M. B. Capítulo 1: carotenoides como compostos bioativos em frutos nativos do Brasil. In: EGEA, M. B.; MARCIONILIO, S. M. L. O. **A biodiversidade como fonte de compostos bioativos: moléculas e aplicações**. 1. ed. Rio Verde, GO: IF Goiano, 2022. 9-25 p.
- ALMEIDA, D.S. **Recuperação ambiental da mata atlântica** (online). 3. ed. Ilhéus, BA: Editus, 2016.
- ALMEIDA, M.; GRANESR, E. M.; BRONDANI, G. E.; OLIVEIRA, L. S.; ARTOLI, F. A.; ALMEIDA, L. V.; LEONE, G. F.; BACCARIN, F. J. B.; ANTONELLI, P. O.; CORDEIRO, G. M.; OBERSCHELP, G. P. J.; PIOTTO, K. D. B. Plant morphogenesis: theoretical bases. **Advances in Forestry Science**, v. 2, n. 1, p. 13-22, 2015.
- ALMEIDA, M. R. de; AUMOND JR. M.; COSTA, C. T. da; SCHWAMBACH, J.; RUEDELL, C. M.; CORREA, L. R.; FETTNETO, A. G. Environmental control of adventitious rooting in Eucalyptus and Populus cuttings. **Trees**, v.31, p.1377-1390, 2017.
- ALVES, M. C. J. L.; LIMA, P. B.; LIMA, L. F.; ZICKEL, C. S. Descrição morfológica para identificação das plântulas de nove espécies lenhosas de uma floresta de restinga. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 3, p. 374-383, 2013.

- AMANCIO, R. D.; SILVA, M. V. da. Consumo de carotenoides no Brasil: a contribuição da alimentação fora do domicílio. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 19, n. 2, p. 130-141, 2012.
- AMISSAH, J. N.; PAOLILLO, D. J. JR.; BASSUK, N. Adventitious root formation in stem cuttings of *Quercus bicolor* and *Quercus macrocarpa* and its relationship to stem anatomy. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 133, n. 4, p. 479-486, 2008.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- ANTAR, G.M.; HARLEY, R.M.; OLIVEIRA, A.B.; BUCHOSKI, M.G.; FRANÇA, F.; FARIA, M.T.; SOARES, A.S.; MOTA, M.C.A.; SCHLIEWE, M.A.; PASTORE, J.F.B. *Lamiaceae in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB142>>. Acesso em: 03 maio 2022
- ANDERSON, T. W. **An introduction to multivariate statistical analysis**. 3 ed. New York: J. Wiley, 2003. 752 p.
- ANDRADE, A.; BOERO, A.; ESCALANTE, M.; LLANES, A.; ARBONA, V.; GOMEZ-CADENAS, A.; ALEMANO, S. Comparative hormonal and metabolic profile analysis based on mass spectrometry provides information on the regulation of water-deficit stress response of sunflower (*Helianthus annuus* L.) inbred lines with different water-deficit stress sensitivity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 168, p. 432-446, 2021.
- ARI, E. Effects of different substrates and IBA concentrations on adventitious rooting of native *Vitex agnus-castus* L. cuttings. **Acta Scientiarum Polonorum**, v. 15, n. 2, p. 27-41, 2016.
- ASLMOSHTAGHI, E.; REZA-SHAHSAVAR, A. Endogenous soluble sugars, starch contents and phenolic compounds in easy - and difficult – to – root olive cuttings. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences**, v. 4, n. 11, p. 83–86, 2010.
- BARBEDO, C.J.; CENTENO, D.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Do recalcitrant seeds really exist? **Hoehnea**, v. 40, p. 583-593, 2013.
- BARRETTO, S. S. B.; FERREIRA, R. A. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, plântulas e mudas de Leguminosae mimosoideae: *Anadenanthera colubrina* (Vellozo) Brenan e *Enterolobium contortisiliquum* (Vellozo) Morong. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 2, p. 223-232, 2011.
- BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L. & ICHAÇO, C.L.F. 1999. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa, UFV. 443p.

BATISTA, G.S.; COSTA, R.S.; GIMENES, R.; PIVETTA, K.F.L.; MÔRO, F.V. Aspectos morfológicos dos diásporos e das plântulas de *Syagrus oleracea* (Mart.) Becc - Arecaceae. **Comunicata Scientiae**, v. 2, n. 3, p. 170-176, 2011.

BENDOR, T.; LESTER, T.W.; LIVENGOOD, A.; DAVIS, A.; YONAVJAK, L. Estimating the size and impact of the ecological restoration economy. **PLoS One**, v. 10, p. 1–15, 2015.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994.

BEWLEY, J.D.; BRAFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M.; NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of development, germination and dormancy**. 3 ed. New York: Springer, 2013.

BFG. Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**, v. 69, n. 4, p.1513-1527. 2018.

BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 3, p. 277-281, 2009.

BORTOLINI, M. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S.; CARPANEZZI, A. A.; DESCHAMPS, C.; OLIVEIRA, M. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: Enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, v. 18, n. 2, p. 159, 2008.

BRACK, P.; KOHLER, M.; CORRÊA, C. A.; ARDISSONE, R. E.; SOBRAL, M. E. G.; KINUPP, V. F. Frutas nativas do Rio Grande do Sul, Brasil: riqueza e potencial alimentício. **Rodriguésia**, v. 71, e03102018, 2020.

BRANCALION, P. H. S.; VIANI, R.; ARONSON, J.; RODRIGUES, R. R.; NAVE, A. G. Improving planting stocks for the Brazilian Atlantic Forest restoration through community-based seed harvesting strategies. **Restoration Ecology**, v. 20, p. 704–711, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Glossário ilustrado de morfologia**. Brasília: Mapa/ACS, 2009b. 406p.

BRONDANI, G. E.; BACCARIN, F. J. B.; ONDAS, H. W. W.; STAPE, J. L.; GONÇALVES, A. N.; ALMEIDA M. Low temperature, IBA concentrations and optimal

time for adventitious rooting of *Eucalyptus benthamii* mini-cuttings. **Journal of Forestry Research**, v. 23, n. 4, p. 583–592, 2012.

BRÜNING, F.O.; LÚCIO, A.D.; MUNIZ, M.F. B. Padrões para germinação, pureza, umidade e peso de mil sementes em análises de sementes de espécies florestais nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 2, p. 193-202, 2011.

CAIAFA, A.N. **A raridade de espécies arbóreas na Floresta Ombrófila Densa Atlântica**: uma análise de metadados. Tese de Doutorado. Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas, 2008.

CANTINO, P. D. Evidence for a polyphyletic origin of the Labiatae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 79, n. 2, p. 361-379, 1992.

CARPANEZZI, A.A.; CARPANEZZI, O.T.B. **Espécies nativas recomendadas para recuperação ambiental no Estado do Paraná, em solos não degradados**. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 52p. (Embrapa Florestas. Documentos, 136).

CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O. Caracterização biométrica e respostas fisiológicas de diásporos de murucizeiro a tratamentos para superação da dormência. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 704-712, 2013.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência tecnologia e produção. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2012.

CASSÁN, F.; PERRIG, D. SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. Corrigendum to *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 28–35, 2009.

CEDZICH, A.; STRANSKY, H.; SCHULZ, B.; FROMMER, W. B. Characterization of cytokinin and adenine transport in Arabidopsis cell cultures. **Plant Physiology**, v. 148, n. 4, p. 1857-1867, 2008.

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. **Plant, Cell e Environmental**, v. 34, n. 1, p. 1-20, 2011.

CHIA, K.A.; SADLER, R.; TURNER, S.R.; BASKIN, C.C. Identification of the seasonal conditions required for dormancy break of *Persoonia longifolia* (Proteaceae), a species with a woody indehiscent endocarp. **Annals of Botany**, v. 118, p. 331-346, 2016.

CHITAPANARUX, I.; TRAISATHIT, P.; CHITAPANARUX, T.; JIRATRACHU, R.; CHOTTAWEEESAK, P.; CHAKRABANDHU, S.; RASIO, W.; PISPRASERT, V.; SRIPAN, P. Arginine, glutamine, and fish oil supplementation in cancer patients

treated with concurrent chemoradiotherapy: A randomized control study. **Current Problems in Cancer**, v. 44, n. 1, 2020.

COLONETTI, S.; CITADINI-ZANETTE, V.; MARTINS, R.; SANTOS, R.; ROCHA, E.; JARENKOW, J. A. Florística e estrutura fitossociológica em floresta ombrófila densa submontana na barragem do rio São Bento, Siderópolis, Estado de Santa Catarina. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 31, n. 4, p. 397-404, 2009.

COMOS, N.L.; GOGOSZ, A. M.; NOGUEIRA, A. C.; BONA, C.; KUNIYOSHI, Y. S. Morfologia do fruto, da semente e morfo-anatomia da plântula de *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke (Lamiaceae). **Acta Botanica Brasílica**, v.23, n.2, p. 389-397, 2009.

COSTA, C. T.; ALMEIDA, M. R.; RUEDELL, C. M.; SCHWAMBACH, J.; MARASCHIN, F. 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. 1-19, 2013.

CRUZ, E. D.; MARTINS, F. O.; CARVALHO, J. E. U. Biometria de frutos e sementes e germinação de jatobácuruba (*Hymenaea intermedia* Ducke, Leguminosae - Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p.161-165, 2001.

DE KLERK, G. J; GUAN, H.; HUISMAN, P.; MARINOVA, S. Effects of phenolic compounds on adventitious root formation and oxidative decarboxylation of applied indoleacetic acid in Malus "Jork 9". **Plant Growth Regulation**, v. 63, n. 2, p. 175–185, 2011.

DE KLERK, G. J.; KRIEKEN, W. V. D.; JONG, J. C. The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. **In Vitro Cellular e Developmental Biology – Plant**, v. 35, p. 189–199, 1999.

DENAXA, N. K.; VEMMOS, S. N.; ROUSSOS, P. A. The role of endogenous carbohydrates and seasonal variation in rooting ability of cuttings of an easy and a hard to root olive cultivars (*Olea europaea* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 143, p. 19–28, 2012.

DENAXA, N. K.; ROUSSOS, P. A.; VEMMOS, S. N.; FASSEAS, K. Assessing the effect of oxidative enzymes and stem anatomy on adventitious rooting of *Olea europaea* (L.) leafy cuttings. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 17, n. 3, 2019.

DIAS, C. D.; OLIVEIRA, L. S.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 72, p. 453-462, 2012.

DIAS, J. P. T.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. IBA e carboidratos no enraizamento de brotações procedentes de estacas radiciais de *Rubus* spp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. spe1, p. 666–671, 2011.

DUARTE, D. F.; GIACOMELLI, F.B.; FERNANDES, S. Y.; SOUZA, B. O.; MORAIS, G. A. Biometria e Potencial Germinativo em Sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert – Fabaceae. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, e228101321204, 2021.

DUARTE, M. M.; MILANI, J. E. F.; BLUM, C. T.; NOGUEIRA, A. C. Germinação e morfologia de sementes e plântulas de *Albizia edwallii* (Hoehne) Barneby & J. W. Grimes. **Revista Caatinga**, v.28, n.3, p.166-173, 2015.

ERTURK, Y.; ERCISLI, S.; HAZNEDAR, A.; CAKMAKCI, R. Effects of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. **Biological Research**, v. 43, p. 91-98, 2010.

EVANS, R. C.; GARRAWAY, M. O. Effect of nitrogen-source and vitamins on ethanol and pyruvate production by bipolaris-maydis race. **Mycopathol. Mycol. Appl**, v. 76, p. 515–522, 1984.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. Propagação de plantas frutíferas. **Embrapa Informações Tecnológicas**, Brasília, p. 221, 2005.

FERREIRA, D. F. **Estatística Multivariada**. 3 ed. Lavras: UFLA, 2018. 624 p.

FERREIRA, J. C. B. **Avaliação da qualidade fisiológica e ozonização de sementes de *Aegiphila sellowiana* CHAM.** 2016. 73 f., Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais), Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

FERREIRA, M. A.; CARVALHO, T.; TURATTI, I.; FURTADO, N. A. J. C.; MARTINS, C. H.G.; LOPES, N.P.; CUNHA, W. R.; CROTTI, A. E. M. Antimicrobial activity of *Aegiphila sellowiana* Cham., Lamiaceae, against oral pathogens. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 246–249, 2010.

FERRIANI, A. P. et al. Estaquia e anatomia de vassourão-branco. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 2, p. 159–166, 2008.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; HELM, C. V.; BOZA, A.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Produção de brotações e enraizamento de miniestacas de *Piptocarpha angustifolia*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, n. 67, p. 257-264, 2011.

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.

FILLMANN, H.; KRETZMANN, N. A.; SAN-MIGUEL, B.; LLESUY, S.; MARRONI, N.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; TUÑÓN, M. J. Glutamine inhibits over-expression of pro-inflammatory genes and down-regulates the nuclear factor kappa B pathway in an experimental model of colitis in the rat. **Toxicology**, v. 236, n. 3, p. 217-26, 2007.

FRAGOSO, R.O.; WITT, N.G.P.M.; OBRZUT, V.V.; VALÉRIO, S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; STUEPP, C.A. Maintenance of leaves and indolebutyric acid in rooting of juvenile *Japanese Flowering Cherry* cuttings. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 97-101, 2015.

FRANÇA, F. **Revisão de *Aegiphila* Jacq. (Lamiaceae) e seu posicionamento sistemático**. 2003. Tese (Doutorado em Ciência) - Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, 2003.

FRIGIERI, F. F.; IWANICKI, N. S.; GANDARA, F. B.; FERRAZ, E. M.; ROMÃO, G. O.; COLETTI, G. F.; SOUZA, V. C.; MORENO, M. A. **Guia de plântulas e sementes da Mata Atlântica do estado de São Paulo**. Piracicaba: IPEF, 2016.

GARRETT, A.T.A.; PERES, F.S.B.; INOUE, M.T.; OLIVEIRA, F.A.G. Adaptation of Cedro-Vermelha, Taruma-Azeitona, Inga-Doce, Branquilha-Bravo and Ocotea-Guaica Seedlings to Shading Levels. **Floresta e Ambiente**, v. 27, n. 3, p. 1-8, 2020.

GOGOSZ, A. M.; BOEGER, M. R. T.; COSMO, N. L.; NOGUEIRA, A. C. Morfologia de diásporos e plântulas de espécies arbóreas da floresta com araucária, no sul do Brasil. **Floresta**, v. 45, n. 4, p. 819-832, 2015.

GONÇALVES, L. G. V.; ANDRADE, F. R.; MARIMON JUNIOR, B. H.; SCHOSSLER, T. R.; LENZA, E.; MARIMON, B. S. Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancronia speciosa* Gomes) em vegetação natural na região de Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n.1, p. 31-40, 2013.

GREENWOOD, M. S. Juvenility and maturation in conifers: current concepts. **Tree Physiology**, v. 15, n. 7/8, p. 433-438, 1995.

HAIR JUNIOR, J.F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. **Análise multivariada de dados**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2005, 593 p.

HARLEY, R. M.; ATKINS, S.; BUDANTSEV, A.; CANTINO, P. D.; CONN, B.; GRAYER, R.; HARLEY, M. M.; KOK, R. DE; KRESTOVSKAJA, T.; MORALES, A.; PATON, A. J.; RYDING, O.; UPSON, T. Labiatae. In: Kadereit, J.W. (ed.). **The families and genera of vascular plants** (Kubitzki, K.: ed.). v. 7, 2004.

HARLEY, R. M.; PASTORE, J. F. B. A genetic revision and new combinations in the *Hyptidinae* (Lamiaceae), based on molecular and morphological evidence. **Phytotaxa**. v. 58, n. 1, p. 1-55, 2012.

HARLEY, R.; FRANÇA, F.; SANTOS, E. P.; SANTOS, J. S.; PASTORE, J. F. 2015. **Lamiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8104>>.

HARTMANN, H. T.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L.; WILSON, S. B. Plant propagation: principles and practices. 9° ed. NY, NY: Pearson, 2018.

HARTMANN, L. S.; RODRIGUES, R. S. Morfologia de plântulas de *Martiodendron excelsum* e sua relevância sistemática em *Dialiinae* (Leguminosae, “Caesalpinioideae”). **Rodriguésia**, v. 65, n.3, p. 577-586. 2014.

HEROLD, A.; LEWIS, D.H. Mannose and green plants: occurrence, physiology and metabolism, and use as a tool to study the role of orthophosphate. **New Phytologist**, v. 79, p. 1-40, 1977.

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.

HUSEN, A. Changes of soluble sugars and enzymatic activities during adventitious rooting in cuttings of *Grewia optiva* as affected by age of donor plants and auxin treatments. **American Journal of Plant Physiology**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2012.

IKEUCHI, M; SUGIMOTO, K.; IWASE, A. Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. **The Plant Cell**, v. 25, p. 3159–3173, 2013.

ITO, Y.; NAKANO, T. Development and regulation of pedicel abscission in tomato. **Frontiers Plant Science**, v.8, p.442, 2015.

JANG, J.C.; SHEEN, J. Sugar sensing in higher plants. **Trends Plant Science**, Oxford, v. 2, p. 208-214, 1997.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York, MacGraw-Hill Book Co. 1940.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 4 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 816 p.

KACHIGAN, S. K. **Multivariate statistical analysis**. 2 ed. New York: Radius Press, 1991. 303 p.

KANG, Z.Y.; BABAR, M.A.; KHAN, N.; GUO, J.; KHAN, J.; ISLAM, S.; SHRESTHA, S.; SHAHI, D. Comparative metabolomic profiling in the roots and leaves in contrasting genotypes reveals complex mechanisms involved in post-anthesis drought tolerance in wheat. **PLoS One**, v. 14, n. 25, 2019.

KARAKURT, H.; ASLANTAS, R.; OZKAN, G.; GULERYUZ, M. Effects of indole-3-butyric acid (IBA), plant growth promoting *Rhizobacteria* (PGPR) and carbohydrates

on rooting of hardwood cutting of MM 106 Apple rootstock. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 2, p. 60-64, 2009.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198 p.

LABORIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington, DC: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983.

LAESTADIUS, L.; BUCKINGHAM, K.; MAGINNIS, S.; SAINT-LAURENT, C. Before Bonn and beyond: a history of forest landscape restoration and an outlook for the future. **Unasyva**, v. 66, n. 245, p. 11-18, 2015.

LATOH, L. P. **Aspectos morfo-fisiológicos e metabolômicos no enraizamento de quatro espécies de *Tibouchina***. 2019. 155 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2019.

LEIVAR, P.; QUAIL, P.H. PIFs: Pivotal components in a cellular signaling hub. **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 1, p. 19–28, 2011.

LEON, P.; J. SHEEN. Sugar and hormone connections. **Trends in Plant Science**, v. 8, p. 110-116, 2003.

LI, S. W.; XUE, L.; XU, S.; FENG, H.; NA, L. Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. **The Botanical Review**, v. 75, p. 230-247, 2009.

LI, Z.; YU, J.; PENG, Y.; HUANG, B. Metabolic pathways regulated by abscisic acid, salicylic acid and γ -aminobutyric acid in association with improved drought tolerance in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). **Physiologia Plantarum**, v. 159, n. 1, p. 42–58, 2017.

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, n.4, p.422-438, 2011.

LIMA, R. K., CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**, v. 3, n. 3, p. 14–24, 2007.

LUDWIG-MULLER, J. Auxin conjugates: Their role for plant development and in the evolution of land plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 6, p. 1757–1773, 2011.

MACEDO, M. C.; SCALON, S. P. Q.; SARI, A. P.; SCALON FILHO, H.; ROSA, Y. B. C. J.; ROBAINA, A. D. Biometria de frutos e sementes e germinação de *Magonia pubescens* St. Hil (Sapindaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 202-211, 2009.

MACHADO, D. F. M.; BORTOLIN, G. S.; PARANHOS, J. T.; SILVA, A. C. F. Temperatura, luz e desinfecção na germinação das sementes de *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera. **Revista de Ciências Agrárias**, v.39, n.1, p. 144-152, 2016.

MAGGIONI, R. A.; VIEIRA, L. M.; INVERNIZZI, S. F.; CARPANEZZI, A. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Germination potential and vegetative propagation of *Aegiphila brachiata* Vell. **Cerne**, v. 26, n. 2, p. 222-231, 2020.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARASEK-CIOLAKOWSKA, A., SANIEWSKI, M., DZIURKA, M., KOWALSKA, U., GÓRAJ-KONIARSKA, J., UEDA, J., & MIYAMOTO, K. Formation of the secondary abscission zone induced by the interaction of methyl jasmonate and auxin in *Bryophyllum calycinum*: Relevance to auxin status and histology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 8, p. 2784, 2020.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015.

MARIOSIA, T. N.; MELLONI, E. G. P.; MELLONI, R.; FERREIRA, G. M. R.; SOUZA, S. M. P.; SILVA, L. F. O. Rizobactérias e desenvolvimento de mudas a partir de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.). **Revista Ciências Agrárias**, v. 60, n. 4, p. 302-306, 2017.

MARRIOTT, F. H. C. **The interpretation of multiple observations**. London: Academic Press, 1974. 117 p.

MAUÉS, M.; KRUG, C.; WADT, L.H.O.; DRUMOND, P.M.; CAVALCANTE, M.C.; SANTOS, A.C.S. **A castanheira-do-Brasil: avanços no conhecimento das práticas amigáveis à polinização**. Rio de Janeiro: Funbio, 2015.

MAYER, J.L.S.; CARDOSO, N.A.; CUQUEL, F.; BONA, C. Formação de raízes em estacas de duas espécies de *Calliandra* (Leguminosae - Mimosoideae). **Rodriguésia**, v. 59, n. 3, p. 487-495, 2008.

MAYRINCK, R. C.; AFONSO, T. A. V.; DAVIDE, A. C. Classificação fisiológica de sementes florestais quanto à tolerância à dessecação e ao comportamento no armazenamento. **Cerne**, v. 22, n. 1, p. 85-92, 2016.

MELO, F.P.L.; AGUIAR NETO, A.V.; SIMABUKURO, E.A.; TABARELLI, M. Recrutamento e estabelecimento de plântulas. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. São Paulo: Artmed, 2004.

MELO, L.C.; OLIVEIRA, C.V.; MANFREDI, C.; BALDANI, V.L.D.; FERREIRA, J.S. Efeito de bactérias na promoção do enraizamento em clone de eucalipto. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n.15, p.736-748, 2012.

MELO, T. O.; FRANCISCON, L.; BROWN, G.; KOPKA, J.; CUNHA, L.; MARTINEZ-SEIDEL, F.; MADUREIRA, L. A. S.; HANSEL, F. A. Univariate statistical analysis of gas chromatography – mass spectrometry fingerprints analyses. **Chemical Data Collections**, v. 33, 100719, 2021.

MENDONÇA, F. A. C.; SILVA, K. F.; SANTOS, K. K.; RIBEIRO JÚNIOR, K. A.; SANT'ANA, A. E. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 7-8, p. 629-636, 2005.

MOLERO, G.; TCHERKEZ, G.; ROCA, R.; MAUVE, C.; CABRERA-BOSQUE, L.; ARAUS, J. L.; NOGUÉS, S.; ARANJUELO, I. Do metabolic changes underpin physiological responses to water limitation in alfalfa (*Medicago sativa*) plants during a regrowth period? **Agricultural Water Management**, v. 212, P. 1-11, 2019.

MONDER, M. J.; KOZAKIEWICZ, P.; JANKOWSKA, A. Anatomical structure changes in stem cuttings of rambler roses induced with plant origin preparations. **Scientia Horticulturae**, v. 255, p. 242–254, 2019.

NASCIMENTO, P.; LAFETA, B. O.; FERREIRA, J. C. B. Pre-germination treatments and their relation with *Aegiphila sellowiana* Cham seeds germination. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 11, n. 5, p. 69-79, 2017.

NASRI, F.; FADAKAR, A.; SABA, M.K.; YOUSEF, B. study of indole butyric acid (IBA) effects on cutting rooting improving some of wild genotypes of damask roses (*Rosa damascena* Mill.). **Journal of Agricultural Sciences**, v. 60, n. 3, p. 263-275, 2015.

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.

NEYA, T.; DABOUE, E.; NEYA, O.; QUEDRAOGO, I. Germination Characteristics of *Parinari curatellifolia* Planch. Ex Benth, *Vitex doniana* Sweet and *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam) Watermann Seeds. **Annual Research & Review in Biology**, v.12, n.3, p.1-12, 2017.

NERY, F. S. G.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. Enraizamento de *Psycotria nuda* (Cham. & Schltld.) Wawra (Rubiaceae) nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 1, p. 243-250, 2014.

NUNES, S.; GASTAUER, M.; CAVALCANTE, R. B. L.; RAMOS, S. J.; CALDEIRA JÚNIOR, C. F.; SILVA, D.; RODRIGUES, R. R.; SALOMÃO, R.; OLIVEIRA, M.;

SOUZA-FILHO, P. W. M.; SIQUEIRA, J. O. Challenges and opportunities for large-scale reforestation in the Eastern Amazon using native species. **Forest Ecology and Management**, v. 466, p. 118-120, 2020.

NUNES, A.; OLIVEIRA, G.; MEXIA, T.; VALDECANTOS, A.; ZUCCA, C.; COSTANTINI, E. A. C.; AABRAHAM, E. M.; KYRIAZOPOULOS, A. P.; SALAH, A.; PRASSE, R.; CORREIA, O.; MILLIKEN, S.; KOTZEN, B.; BRANQUINHO, C. Ecological restoration across the Mediterranean Basin as viewed by practitioners. **Science of the Total Environment**, v. 566–567, p. 722–732, 2016.

OFFIONG, M.O.; UDOFIA, S.I.; OLAJIDE, O.; UFOT, I. N. Comparative Study of Pre-Germination Treatments and their Effects on the Growth of *Tectona Grandis*. **African Research Review**, v. 4, n. 3b, p. 368-378, 2010.

OLIVEIRA FILHO, A. T. et al. Espécies de ocorrência exclusiva do domínio atlântico. In: OLIVEIRA FILHO, A. T.; SCOLFORO, J. R. (ed). **Inventário Florestal de Minas Gerais: espécies arbóreas da flora nativa**. Lavras: UFLA, 2008.

OLIVEIRA, M. C.; RIBEIRO, J. F. Enraizamento de estacas de *Euplassa inaequalis* (Pohl) Engl. de mata de galeria em diferentes estações do ano. **Bioscience Journal**, v. 29, p. 991-999, 2013.

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

OSTERC, G.; PETKOVŠEK, M. M.; STAMPAR, F. Quantification of IAA metabolites in the early stages of adventitious rooting might be predictive for subsequent differences in rooting response. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 35, n. 2, p. 534–542, 2016.

OSTERC, G.; ŠTAMPAR, F. Differences in endo/exogenous auxin profile in cuttings of different physiological ages. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, n. 17, p. 2088–2092, 2011.

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.

PEÑA, M. L. P.; ZANETTE, F.; BIASI, L. A. Época de coleta e ácido indolbutírico no enraizamento de miniestacas de pitangueira. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 5, p. 3055-3068, 2015.

PICOS-SALAS, M. A.; HEREDIA, J. B.; LEYVA-LÓPEZ, N.; AMBRIZ-PÉREZ, D. L.; GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E. P. Extraction Processes Affect the Composition and Bioavailability of Flavones from Lamiaceae Plants: A Comprehensive Review. **Processes**, v. 9, p. 1675-713, 2021.

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

PIVETTA, K. F. L.; PEDRINHO, D. R.; FÁVERO, S.; BATISTA, G. S.; MAZZINI, R. B. Época de coleta e ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de espiroleira (*Nerium oleander* L.). **Revista Árvore**, v. 36, n. 1, p. 17–23, fev. 2012.

POP, T. I.; PAMFIL, D.; BELLINI, C. Auxin control in the formation of adventitious roots auxin control in the formation of adventitious roots. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 39, p. 307–316, 2011.

PORFIRIO, S.; CALADO, M. L.; NOCEDA, C.; CABRITA, M. J.; SILVA, M. G.; AZADI, P.; PEIXE, A. Tracking biochemical changes during adventitious root formation in olive (*Olea europaea* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 204, p. 41–53, 2016.

PRADO, S. A. L. **Estudo fitoquímico e atividade biológica de *Aegiphila integrifolia* (Jacq.)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Roraima, Boa Vista/RR, 2014.

RAJAN, S.A.; RADHAKRISHNA, D. Effect of entophytic bacteria on the rooting and establishment of cuttings of *Hibiscus rosasinensis*. **Journal of Agriculture and Veterinary Science**, v. 3, n. 2, p. 17-21, 2013.

RASMUSSEN, A.; HOSSEINI, S. A.; HAJIREZAEI, M. R.; DRUEGE, R.; GEELEN, D. Adventitious rooting declines with the vegetative to reproductive switch and involves a changed auxin homeostasis. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 5, p. 1437-1452, 2015.

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

REGO, S.S.; NOGUERIA, A.C.; KUNIYOSHI, Y.S.; SANTOS, A.F. Germinação de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. em diferentes substratos e condições de temperatura, luz e umidade. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 212- 220, 2009.

REIS, J.M.R.; CHALFUN, N.N.; LIMA, L.C.O.; LIMA, L.C. Efeito do estiolamento e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência Agrotécnica**, v. 24, n. 4, p. 931-938, 2000.

RICKLI-HORST, H.C; DUARTE, M.M.; CHIRINZANE, C.J.; NOGUEIRA, A.C. Carposeminal biometry and germination of *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. **Floresta**, v.47, n.4, p. 391-396, 2017.

ROBINSON, W.; WAREING, P. F. Experiments on the juvenile-adult phase change in some woody species. **New Phytology**, v. 68, p. 67-78, 1969.

ROCHA, C.R.M.; COSTA, D.S.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CRUZ, E.D. Morfobiometria e germinação de sementes de *Parkia multijuga* Benth. *Nativa*, v.2, n.1, p.42-47, 2014.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T. et al. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 552-555, 2004.

ROLIM, R. G.; REIS, C. R. M. Capítulo III – Espécies Frutíferas. In: SILVA, D. B.; BERNARDES, M. G.; CERVINÁ, M.; TEDY, N. C.; CALDERARO, P. C.; FURTADO, R. D. C.; RITTER, V. M. **Flora da bacia do rio Pelotas: uso e conservação de espécies**. Porto Alegre: UFRGS, 2016. p. 54-76.

ROLLAND, F.; BAENA-GONZALEZ, E.; SHEEN, J. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, n. 1, p. 675–709, 2006.

ROSA, D.D.; VILLA, F.; DA SILVA, D.F.; CARBARI, F. Rooting of semihardwood cuttings of olive: indolbutyric acid, calcium and *Azospirillum brasilense*. **Comunicata Scientiae**, v. 9, n. 1, p. 34-40, 2018.

ROUT, G. R. Effect of Auxins on Adventitious Root Development from Single Node Cuttings of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze and Associated Biochemical Changes. **Plant Growth Regulation**, v. 48, n. 2, p. 111–117, 2006.

SÁ, F. P. ***Ilex paraguariensis* A.St.-Hil: miniestaquia, caracterização anatômica e bioquímica e, estimativa do enraizamento por espectroscopia NIR**. 2018, 142P. (Tese, Doutorado em Agronomia (Produção Vegetal)). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

SÁ, F. P.; GOMES, E. N.; MAGGIONI, R. A.; WENDLING, I.; HELM, C. V.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; ZUFFELATTO-RIBAS, K. C. Biochemical and anatomical features of adventitious rhizogenesis in apical and basal mini-cuttings of *Ilex paraguariensis*. **New Forests**, p. 1-20, 2021.

SÁ, F. P. de; 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.

SABOGAL, C.; BESACIER, C.; MCGUIRE, D. Forest and landscape restoration: concepts, approaches and challenges for implementation. **Unasylva**, v. 245, p. 3–10, 2015.

SAIRANEN, I.; J NOVÁK, O.; PENCÍK, 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.

SANTNER, A.; ESTELLE, M. Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling. **Nature**, v. 459, n. 7250, p. 1071–1078, 2009.

SANTOS, F. S.; PAULA, R. C.; SABONARO, D. Z.; VALADARES, J. Biometria e qualidade fisiológica de sementes de diferentes matrizes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex A. DC.) Standl. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 82, p. 163-173, 2009.

SANTOS, M. R. A.; PAIVA, R.; GOMES, G. A. C.; PAIVA, P. D. O.; PAIVA, L. Estudos sobre superação de dormência em sementes de *Smilax japecanga* Grisebach. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 2, p. 319-324, 2003.

SANTOS, R.; ZANETTE, V. C.; ELIAS, G. A.; PADILHA, P. T. **Biodiversidade em Santa Catarina: Parque Estadual da Serra Furada**. Criciúma, SC: UNESC, 2016.

SAYED, S. A. A.; EL-NAGGAR, A. I. Promotion of rooting and growth of some types of bougainvilleas cutting by plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in combination with indole-3-butyric acid (IBA). International. **Journal of Science And Research**, v. 3, p. 97-108, 2014.

SCHMIDT, I.B.; URZEDO, D.I. de; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; VIEIRA, D.L.M.; REZENDE, G.M. de; SAMPAIO, A.B.; JUNQUEIRA, R. G. P. Community-based native seed production for restoration in Brazil – the role of science and policy. **Plant Biology**, v. 21, p. 389–397, 2019.

SCHWAMBACH, J.; RUEDELL, C. M.; ALMEIDA, M. R.; PENCHEL, R. M.; ARAÚJO, E. F.; FETT-NETO, A. G. Adventitious rooting of *Eucalyptus globulus x maidennii* mini-cuttings derived from mini-stumps grown in sand bed and intermittent flooding trays: A comparative study. **New Forests**, v. 36, n. 3, p. 261–271, 2008.

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**, v. 2013, p. 1-9, 2013.

SILVA, A.P.M. da; SCHWEIZER, D.; MARQUES, H.R.; TEIXEIRA, A.M.C.; SANTOS, T.V.M.N. dos; SAMBUICHI, R.H.R.; BADARI, C.G.; GAUDARE, U.; BRANCALION, P.H.S. Can current native tree seedling production and infrastructure meet an increasing forest restoration demand in Brazil?, **Restoration Ecology**, v. 25, n.4, p. 509-515, 2016.

SILVA, F. A. S. **ASSISTAT** - Assistência Estatística - versão 7.7 beta (pt). Programa computacional. Universidade Federal de Campina Grande Campus de Campina Grande-PB - DEAG/CTR. 2014. Disponível em: <<http://www.assistat.com/>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

SILVA, R. C.; BELNIKI, A. C.; VIEIRA, E. S. N.; CUQUEL, F. L.; PANOBIANCO, M. Subsidies for propagation of native species in Brazil with medicinal potential: *Calophyllum brasiliense* Cambess. **Journal of Seed Science**, v.41, n.3, p.318-327, 2019.

SILVEIRA, V.; VITA, A. M.; MACEDO, A. F.; DIAS, M. F. R.; FLOH, E. I. S.; SANTA-CATARINA, C. Morphological and polyamine content changes in embryogenic and non-embryogenic callus of sugarcane. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 114, n. 3, p. 351-364, 2013.

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

SOUZA, C. O. D.; MENEZES, J. D. D. S.; RAMOS NETO, D. C.; ASSIS, J. G. D. A.; SILVA, S. R. D.; DRUZIAN, J. I. Carotenoides totais e vitamina A de cucurbitáceas do banco ativo de germoplasma da Embrapa Semiárido. **Ciência Rural**, v. 42, p. 926-933, 2012.

STEFFENS, B.; RASMUSSEN, A. The physiology of adventitious roots 1. **Plant Physiology**, v. 170, p. 603–617, 2016.

STUEPP, C. A.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Estaquia de árvores adultas de *Paulownia fortunei* var. *mikado* a partir de brotações epicórmicas de decepa. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 3, p. 667-677, 2015.

STUEPP, C. A.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Successive cuttings collection in *Piptocarpha angustifolia* mini-stumps: effects on maturation, root formation and root vigor. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 39, n. 2, p. 245-253, 2017.

STUEPP, C. A.; WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. The use of auxin quantification for understanding clonal tree propagation. **Forests**, v. 8, n. 1, p. 27-42, 2017.

STUEPP, C. A.; WENDLING, I.; XAVIER, A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 9, p. 985-1002, 2018.

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

TAKAHASHI, F. et al. Sugar-induced adventitious roots in *Arabidopsis* seedlings. **Journal of plant research**, v. 116, n. 2, p. 83–91, 2003.

THOMPSON, D. S. Space and time in the plant cell wall: relationships between cell type, cell wall rheology and cell function. **Annals of Botany**, v. 101, n. 2, p. 203-211, 2008.

TRONCOSO, N. S. **Los géneros de Verbenáceas de Sudamérica Extratropical**. Darwiniana: Instituto de Botánica Darwinion, v. 18, 1974.

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.

URBINA, J. J. O.; SAN-MIGUEL, B.; VIDAL-CASARIEGO, A.; CRESPO, I.; SÁNCHEZ, D. I.; MAURIZ, J. L.; CULEBRAS, J. M.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; TUÑÓN, M. J. Effects Of Oral Glutamine on Inflammatory and Autophagy Responses in Cancer Patients Treated With Abdominal Radiotherapy: A Pilot Randomized Trial. **International Journal of Medical Sciences**, v. 14, n. 11, p. 1065-1071, 2017.

VIEIRA, E. L.; SOUZA, G. S.; SANTOS, A. R.; SILVA, J. S. **Manual de fisiologia vegetal**. 1.ed. São Luís: EDUFMA, 2010. 230p.

VOGEL, G. F.; MARTINKOSKI, L.; RUZICKI, M. Efeitos da utilização de *Azospirillum brasilense* em poáceas forrageiras: importâncias e resultados. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 10, n. 1, p. 1-6, 2014.

WENDLING, I.; BROOKS, P. R.; TRUEMAN, S. J. Topophysis in *Corymbia torelliana* x *C. citriodora* seedlings: adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. **New Forests**, v. 46, p. 107-120, 2015.

WENDLING, I.; STUEPP, C. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Araucaria clonal forestry: types of cuttings and mother tree sex in field survival and growth. **Cerne**. v. 22, n. 1, p. 19-26, 2016.

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, p. 449-471, 2014.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 187–194, 2001.

WETZEL, M. M. V. S.; REIS, R. B.; RAMOS, K. M. **Metodologia para criopreservação de sementes de espécies florestais nativas**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular Técnica, 26).

WIND, J.; SMEEKENS, S.; HANSON, J. Sucrose: Metabolite and signaling molecule. **Phytochemistry**, v. 71, p. 1610–1614, 2010.

XAVIER, A. A. O.; PÉREZ-GÁLVEZ, A. Carotenoids as a source of antioxidants in the diet. In: **Carotenoids in nature**. London: Springer, 2016. p. 359-375.

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

ZARGAR, A. R.; KUMAR, D. Effect of Maturity Stage of Donor Plant on Propagation of *Diploknema butyracea* through Branch Cuttings. **World Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 1, p. 15-19, 2018.

ZHANG, M.; TANG, H.R.; WANG, D.; REN, S.X.; LIU, R.D. A study of rooting characteristics and anatomical structure of *Feijoa* cuttings. **Agricultural Journal**, v. 4, n. 2, p. 86-90, 2009.

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 Plant Growth Regulation**, v. 35, p. 1-12, 2016.

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.

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