

KARINE FERNANDES CAIAFA

**RESGATE DE DNA E INDUÇÃO DE FLORESCIMENTO PRECOCE DE ÁRVORES
NATIVAS DA REGIÃO DE BRUMADINHO E NOVA LIMA, MG**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Gleison Augusto dos Santos

Coorientadora: Genaina Aparecida de Souza

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

C133r
2022
Caiafa, Karine Fernandes, 1984-
Resgate de DNA e indução de florescimento precoce de
árvores nativas da região de Brumadinho e Nova Lima, MG /
Karine Fernandes Caiafa. – Viçosa, MG, 2022.
1 tese eletrônica (131 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexos.

Orientador: Gleison Augusto dos Santos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Engenharia Florestal, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.542>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Plantas - Propagação. 2. Enxertia. 3. Paclobutrazol
(Fungicida). I. Santos, Gleison Augusto dos, 1977-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia
Florestal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal.
III. Título.

GFDC adapt CDD 22. ed. 634.92323285

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552

KARINE FERNANDES CAIAFA

**RESGATE DE DNA E INDUÇÃO DE FLORESCIMENTO PRECOCE DE ÁRVORES
NATIVAS DA REGIÃO DE BRUMADINHO E NOVA LIMA, MG**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 22 de agosto de 2022.

Assentimento:



Karine Fernandes Caiafa
Autora



Gleison Augusto dos Santos
Orientador

Ao meu filho Davi.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Suely Caiafa e Aloísio Caiafa pela educação, amor e dedicação incondicionais.

Aos meus sogros, Silvana Rocha e José Fábio de Araújo, por sempre estarem por perto ajudando com os cuidados do meu filho.

Ao meu filho, Davi Caiafa, que, embora tão pequeno, possui sabedoria, amor e compreensão gigantes.

Ao meu marido Daniel Rocha Araújo, pelo amor, cuidado e incentivo.

A toda família do “Sítio Sô Toninho” pelo apoio incondicional.

Ao meu orientador Gleison Augusto dos Santos pela confiança, incentivo e ensinamentos.

À minha Coorientadora Genáina Aparecida de Souza, por todos os conselhos, dedicação, ensinamentos e amizade.

Ao meu colega de trabalho Alexandro Moreira da Cruz pela dedicação, comprometimento e amizade.

A todos meus amigos do Departamento de Engenharia Florestal (Julien, Elizabete, Marina, Dilson, Alexandre, Neuza e Tatiane) que sempre me proporcionaram momentos de descanso e descontração maravilhosos.

Ao meu amigo e colega de trabalho Francisco Gabriel Lopes Rosado pela amizade, carinho, compreensão e ajuda com as atividades da Revista *Árvore*.

Ao colega de trabalho Jerônimo Monteiro pela amizade e por tantos ensinamentos ao longo desses anos de convivência.

Aos meus amigos da vida que estão sempre ao meu lado, me incentivando e torcendo por mim.

Ao amigo Alexmiliano Vogel de Oliveira pela grande ajuda com as análises estatísticas.

A minha colega de equipe e membro da banca de qualificação Thaline Martins Pimenta que me ajudou muito com a organização dos gráficos, análises anatômicas e inúmeras sugestões nos capítulos da tese.

Aos professores Aloísio Xavier e Samuel Cordeiro Vitor Martins pelas sugestões apresentadas durante minha qualificação que, com certeza, foram fundamentais para a melhoria deste trabalho.

À professora Aristéa Alves Azevedo pela grande ajuda em relação à interpretação das análises anatômicas.

A todos os estagiários do viveiro que me ajudaram na execução deste projeto.

A todos os professores da Universidade Federal de Viçosa que contribuíram com meu aprendizado, especialmente ao Professor Antônio Lelis Pinheiro que me incentivou a voltar a trabalhar com a Engenharia Florestal.

Ao Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa que disponibilizou toda estrutura física do viveiro de pesquisas para que este trabalho fosse realizado.

Ao laboratório de anatomia vegetal da Universidade Federal de Viçosa, onde as análises anatômicas foram realizadas.

A Mineradora Vale pelo financiamento e disponibilização de funcionários para que esta pesquisa fosse realizada.

A Universidade Federal de Viçosa, que tem sido minha segunda casa desde os tempos de Coluni.

A Sociedade de Investigações Florestais (SIF) pela concessão da bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Refloresta

*Manter em pé o que resta não basta
Que alguém virá derrubar o que resta
O jeito é convencer quem devasta
A respeitar a floresta*

*Manter em pé o que resta não basta
Que a motosserra voraz faz a festa
O jeito é compreender que já basta
E replantar a floresta*

*Milhões de espécies, plantas e animais
Zumbidos, berros, latidos, tudo mais
Uivos, murmúrios, lamentos ancestrais
Por que não deixamos nosso mundo em paz?*

*Além do morro, o deserto se alastra
Toda terra, da serra aos confins
O toco oco, casco de Canastra
Onde enterramos saguis*

*Manter em pé o que resta não basta
Já quase todo o verde se foi
Agora é hora de ser refloresta
Que o coração não destrói*

*Milhões de espécies, plantas e animais
Zumbidos, berros, latidos, tudo mais
Uivos, murmúrios, lamentos ancestrais
Por que não deixamos nosso mundo em paz?*

*Manter em pé o que resta não basta
Que alguém virá derrubar o que resta
O jeito é convencer quem devasta
A respeitar a floresta*

*Manter em pé o que resta não basta
Já quase todo o verde se foi
Agora é hora de ser refloresta
Que o coração não destrói*

*Replantar a floresta
Que o coração não destrói
E respeitar a floresta
Replantar a floresta
Que o coração não destrói”.*

(Gilberto Gil)

RESUMO

CAIAFA, Karine Fernandes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2022. **Resgate de DNA e indução de florescimento precoce de árvores nativas da região de Brumadinho e Nova Lima, MG.** Orientador: Gleison Augusto dos Santos. Coorientadora: Genaina Aparecida de Souza.

A enxertia pode ser uma boa alternativa para o resgate de árvores de interesse econômico ou ecológico. Esta técnica, quando associada à aplicação de paclobutrazol (PBZ) pode antecipar o florescimento das plantas, garantindo a sua propagação. Os objetivos deste trabalho foram: (1) resgatar, por enxertia, árvores nativas com risco de morte e avaliar o desenvolvimento dessas plantas no campo (com ou sem aplicação de PBZ e em condições de sol ou sombra); (2) verificar a eficiência da enxertia de *Euplassa semicostata* Plana em porta-enxertos de diferentes espécies arbóreas e complementarmente observar as possíveis diferenças anatômicas entre elas; e (3) verificar a eficiência da aplicação de paclobutrazol na indução do florescimento precoce e realizar a caracterização de doenças em *E. semicostata* em condições de campo. Seguintos caulinares de matrizes de *Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius*, *Cariniana estrellensis* e *Euplassa semicostata* foram coletados e enxertados por garfagem em fenda em mudas seminais. As três primeiras espécies foram encontradas em Brumadinho/MG e a última em um fragmento florestal de Nova Lima/MG. Propágulos de *E. semicostata* foram enxertados em cinco diferentes espécies. Noventa dias após a realização das enxertias, foram avaliadas a sobrevivência, o número de brotações e o crescimento. Mudas enxertadas de *D. nigra* e *H. serratifolius* foram plantadas no local de origem em dois diferentes experimentos. No primeiro, o delineamento foi em blocos casualizados, em esquema fatorial (2x2), com duas espécies e aplicação de PBZ ou não. No segundo as espécies não foram consideradas tratamentos. Neste, os tratamentos foram apenas as condições ambientais (pleno sol e sombra) às quais cada uma das espécies foi exposta. O florescimento dos enxertos foi avaliado por um ano, com visitas a cada 15 dias. O crescimento, número de brotações e a sobrevivência foram mensurados aos oito meses após o plantio das mudas. Para a indução de florescimento de *E. semicostata* no campo, foram aplicados 20 mL de PBZ em cinco matrizes, diretamente no solo, em um raio de dois metros ao redor do tronco. Duas árvores foram utilizadas como testemunhas. A floração e frutificação desta espécie no campo foi monitorada com

visitas periódicas. Para a caracterização de doenças de *E. semicostata*, amostras foliares foram enviadas para Laboratório de Patologia Florestal/Bioagro da Universidade Federal de Viçosa, para diagnose. Foi possível resgatar, por enxertia, todas as matrizes de *D. nigra*, *H. serratifolius* e *C. estrellensis*. *H. serratifolius* floresceu durante o período de avaliação dos enxertos no campo. O PBZ e o plantio em pleno sol favoreceram o florescimento desta espécie. Nenhum enxerto de *E. semicostata* sobreviveu aos 90 dias após a enxertia. Todas as plantas desta espécie, que receberam aplicação de PBZ no campo, floresceram e posteriormente três frutificaram. As árvores testemunhas não apresentaram flores. Com as sementes foi possível produzir mudas para restabelecimento da população desta espécie no campo. Foram encontrados os seguintes patógenos nas folhas de *E. semicostata*: *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregaria*.

Palavras-chave: Enxertia por garfagem em fenda. Paclobutrazol. Propagação vegetativa.

ABSTRACT

CAIAFA, Karine Fernandes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2022. **DNA rescue and early flowering induction of native trees in the Brumadinho region and Nova Lima, MG.** Adviser: Gleison Augusto dos Santos. Co-Adviser: Genaina Aparecida de Souza.

Grafting can be a good alternative for rescuing trees of economic or ecological interest. This technique, when associated with the application of paclobutrazol (PBZ) can anticipate the flowering of the plants, guaranteeing their propagation. The objectives of this work were: (1) to rescue, by grafting, native trees at risk of death and to evaluate the development of these plants in the field (with or without PBZ application, in full sunlight or under shade conditions); (2) to verify the efficiency of *Euplassa semicostata* Plana grafting on rootstocks of different tree species and, in addition, to observe the possible anatomical differences between them; and (3) to verify the efficiency of the application of paclobutrazol in the induction of early flowering and, characterize *E. semicostata* diseases under field conditions. Stem tracks of *Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius*, *Cariniana estrellensis*, and *Euplassa semicostata* matrices were collected and grafted by cleft grafting onto seminal seedlings. The first three species were found in Brumadinho/MG and the last one was in a forest fragment in Nova Lima/MG. *E. semicostata* propagules were grafted onto five different species. Ninety days after grafting, survival, the number of shoots, and growth were evaluated. Grafted seedlings of *D. nigra* and *H. serratifolius* were planted at the place of origin in two different experiments. In the first, the design was in randomized blocks, in a factorial scheme (2x2), with two species and application of PBZ or not. In the second, the species were not considered treatments. In this one, the treatments were only the environmental conditions (full sun or shade) to which each of the species studied were exposed. The flowering of the grafts was evaluated for one year, with visits every 15 days. The growth, number of shoots, and survival were measured eight months after planting the seedlings. For the induction of flowering of *E. semicostata* in the field, 20 mL of PBZ were applied in five matrices, directly in the soil, in a radius of two meters around the trunk. Two trees were used as controls. The flowering and fruiting of this species in the field was monitored with periodic visits. For the characterization of *E. semicostata* diseases, leaf samples were sent to the Laboratory of Forest Pathology/Bioagro of the Federal University of Viçosa, for diagnosis. It was possible to

rescue, by grafting, all matrices of *D. nigra*, *H. serratifolius*, and *C. estrellensis*. *H. serratifolius* flourished during the period of evaluation of grafts in the field. PBZ and planting in full sunlight favored the flowering of this species. No *E. semicostata* graft survived 90 days after grafting. All plants of this species, which received PBZ application in the field, flowered and three later fruited. The control trees did not show flowers. With the seeds, it was possible to produce seedlings to restore the population of this species in the field. The following pathogens were found on the leaves of *E. semicostata*: *Diaporthe* sp. and *Mycosphaerella gregaria*.

Keywords: Slit grafting. Paclobutrazol. Vegetative propagation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 – Resgate de DNA de árvores nativas afetadas pelo rompimento da barragem Córrego do Feijão em Brumadinho, MG e seu desenvolvimento em campo

Figura 1: Árvores localizadas na região estudada (Brumadinho/MG, Brasil) apresentando risco de morte. A e B) Árvores de *Dalbergia nigra* com os troncos danificados pela lama e com risco de supressão. C e D) *Handroanthus serratifolius* com tronco danificado e em área com risco de supressão E e F) *Cariniana estrellensis* localizada em área adjacente à barragem Córrego do Feijão, cuja vegetação poderá ser suprimida.....56

Figura 2: Coleta de propágulos (segmentos caulinares) da copa de árvores adultas selecionadas.57

Figura 3: Procedimento para coleta de material no campo para enxertia. A) Segmentos caulinares coletados, B) umedecidos e envolvidos em papel toalha, C) posteriormente envolvidos em papel alumínio. D) Propágulos armazenados em caixa térmica para manutenção da turgescência durante o transporte até o local da enxertia.58

Figura 4: Procedimento de enxertia por garfagem em fenda utilizado. A) Corte na porção média do caule do porta-enxerto, deixando folhas. B) União entre o enxerto e a fenda longitudinal (2,0 cm) no porta-enxerto. C) união entre o enxerto e o porta-enxerto. D) Planta enxertada após a aplicação do parafilm e fita veda-rosca.....59

Figura 5: Plantio das mudas enxertadas. A) Preparação das covas, B) aplicação de fertilizantes, C) aplicação de hidrogel e D) muda após o plantio.....61

Figura 6: Local onde parte dos plantios foram realizados. As mudas foram plantadas em pleno sol e na sombra (local). Os círculos representam os locais de plantio. A distância entre estas áreas foi de pelo menos 150 m.62

Figura 7: (A) Muda plantada e identificada com uma placa acrílica contendo um QR code ao ser lido pelo aplicativo QR nativas, abre uma página contendo informações sobre a espécie (B), sobre a localização da árvore matriz e tratamentos recebidos pela muda (C) e fotos da planta mãe (D).63

Figura 8: Taxa de sobrevivência e crescimento das brotações de enxertos das espécies *Cariniana estrellensis*, *Handroanthus serratifolius* e *Dalbergia nigra* em duas épocas do ano (meses de agosto e novembro). A) Sobrevivência. B) Comprimento. C) Diâmetro das brotações. Letras maiúsculas diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre as épocas do ano para a mesma espécie ($P < 0.05$). Letras minúsculas diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre as espécies para a mesma época do ano ($P < 0.05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 10 repetições.65

Figura 9: Número de brotações por planta maiores que 10 cm em *Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis* enxertadas em duas épocas do ano (meses de agosto e novembro). Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 10 repetições.....66

Figura 10: Crescimento em campo dos enxertos com e sem aplicação de paclobutrazol (PBZ). A) Número de brotações por planta. B) Comprimento das brotações. C) Diâmetro das brotações, nos enxertos com e sem aplicação de paclobutrazol. D) Sobrevivência dos enxertos em campo com e sem aplicação de paclobutrazol. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.....67

Figura 11: Crescimento em campo das espécies enxertadas de *Dalbergia nigra* e *Handroanthus serratifolius*. A) Número de brotações por planta B) Comprimento das brotações. C) Diâmetro das brotações. D) Sobrevivência dos enxertos em campo. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.68

Figura 12: Florescimento de *Handroanthus serratifolius* com e sem a aplicação de paclobutrazol. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.69

Figura 13: Mudanças enxertadas de ipê-amarelo (*Handroanthus serratifolius*) logo após o plantio em campo (A), com gemas apicais modificadas para produção de flores (B), com flores (C) e com frutos (D).70

Figura 14: Número de brotações e crescimento (comprimento e diâmetro) em campo de *Dalbergia nigra* em ambiente de pleno sol e sombra. A) Número de brotações por planta B) Comprimento das brotações. C) Diâmetro das brotações. D) sobrevivência. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.71

Figura 15: Número de brotações e crescimento (comprimento e diâmetro) em campo de *Handroanthus serratifolius* em ambiente de pleno sol e sombra. A) Número de brotações por planta B) Comprimento das brotações. C) Diâmetro das brotações. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.72

Figura 16: Florescimento de *Handroanthus serratifolius* plantados em diferentes ambientes. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições. ...73

CAPÍTULO 2 – Enxertia de *Euplassa semicostata* em diferentes espécies de porta-enxertos e suas incompatibilidades anatômicas

Figura 1: Propágulos de *Euplassa semicostata* Plana sendo coletados nas árvores matrizes (A), umedecidos, e envolvidos em papel toalha (B) e papel alumínio (C) e, posteriormente, acondicionados em caixa térmica para manutenção da turgescência durante o transporte até o local da enxertia (D).90

Figura 2: Procedimento de enxertia por garfagem em fenda cheia utilizada para *Euplassa semicostata* em diferentes espécies como porta-enxertos. Segmentos caulinares foram retirados de árvores matrizes no campo, cortados em cunha, enxertados em mudas, previamente cortadas na porção média do caule do porta-enxerto, deixando folhas, posteriormente envolvidos com parafilm para evitar a perda de umidade e fita veda rosca.91

Figura 3: Percentual de sobrevivência (%) de enxertias de *Euplassa semicostata* Plana utilizando as espécies *Inga vera*, *Tapirira guianensis*, *Samanea inopinata*, *Pterocarpus violaceus* e *Sapindus saponaria* como porta-enxertos.....93

Figura 4: Anatomia de folha e caule de *Euplassa semicostata* Plana. A) Nervura central (evidenciando os vasos condutores), pontas de seta indicam a fragmentação dos feixes vasculares por parênquima radial). B) Detalhe dos feixes vasculares, pontas de seta indicam a região dos feixes vasculares. C) Caule. D) Detalhe da descontinuidade do tecido condutor. Barras A e C= 500 µm; B e D = 1000 µm. O círculo evidencia a nervura central da folha, com seus feixes vasculares desuniformes e segregados por parênquimas).94

Figura 5: Comparação entre cortes transversais do caule de *Euplassa semicostata* e das espécies utilizadas como porta-enxertos. (A) *Euplassa semicostata*, (B) *Samanea inopinata* (C) *Tapirira guianensis*; (D) *Inga vera*; (E) *Pterocarpus violaceus* e (F) *Sapindus saponaria*. A seta branca indica o parênquima axial e a seta preta o câmbio vascular. Barras A, C - F 600 µm; B 200 µm.....95

CAPÍTULO 3 – Indução de florescimento e frutificação em campo de *Euplassa semicostata* Plana

Figura 1: Folha de *Euplassa semiscostata* coletadas em Nova Lima/MG, com manchas sugerindo a presença de doenças..... 107

Figura 2: Ramos floridos de árvores de *Euplassa semicostata* seis meses após a aplicação de 20 mL de paclobutrazol no solo ao redor do tronco de cada árvore... 108

Figura 3: Frutos e semente de *Euplassa semicostata*, oito meses após a aplicação de 20 mL de paclobutrazol, no solo, ao redor do tronco de cada matriz. A) Fruto na árvore. B e C) Frutos coletados. D) Semente..... 109

Figura 4: Mudanças de *Euplassa semicostata* produzidas com sementes desenvolvidas após a aplicação de 20 mL de paclobutrazol, no solo, ao redor de cada tronco desta planta. A) Sementes sendo colocadas na sementeira. B) Plântulas na sementeira. C) Mudanças transferidas para sacolas plásticas..... 110

Figura 5: (A) Folha de *Euplassa semicostata* recebida para diagnose com presença de manchas no limbo foliar; (B) Ascoma de *Mycosphaerella gregaria*; (C) Ascoma de *Diaporthe* sp.; (D) Cultura de *Mycosphaerella gregaria* e (E) Cultura de *Diaporthe* sp. 112

Figura 6: Estruturas fúngicas encontradas em folha de *Euplassa semicostata*, visualizadas sob microscópio de luz: A - B - Ascósporos e ascos de *Mycosphaerella gregaria*; C-D – Ascos e ascósporos de *Diaporthe* sp..... 113

Figura 7: Papel do paclobutrazol na indução do florescimento precoce de plantas de *Euplassa semicostata*. O paclobutrazol (PBZ) aplicado no solo é absorvido pelas raízes e transportado para as áreas de crescimento da planta. O PBZ reduz a síntese de giberelinas (GA) e aumenta o ácido abscísico (ABA), citocininas e clorofilas a e b (Chl a e Chl b). O ABA também atua no controle da abertura e fechamento dos estômatos, tornando a fotossíntese mais eficiente, aumentando assim o armazenamento de açúcar e antecipando a fase adulta da planta. 115

ANEXO 2 – Fotos das operações de plantio, do florescimento e frutificação.

Figura 1: Mudanças de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra*) (A), Jequitibá-rosa (*Cariniana estrellensis*) (B) e ipê-amarelo (*Handroanthus serratifolius*) (C) plantadas em Brumadinho/MG, 90 dias após a enxertia. Todas foram identificadas com um QR code contendo informações sobre a árvore matriz (D)..... 129

ANEXO 3 – Dados climatológicos da estação de Viçosa/MG no ano de 2020, em que as enxertias foram realizadas.

Figura 1: Temperaturas diárias máxima, mínima e média da estação meteorológica de Viçosa/MG (A510) nos meses de agosto (A) e novembro (B) de 2020. Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia..... 129

Figura 2: Umidades diárias média e mínima da estação meteorológica de Viçosa/MG (A510) nos meses de agosto (A) e novembro de 2020 (B). Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia..... 130

ANEXO – Capítulo 3

Figura 1: Enxertias de *Euplassa semicostata* realizadas em porta-enxertos da mesma espécie, que só puderam ser produzidos em função da aplicação de paclobutrazol nas plantas matrizes. 131

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – Resgate de DNA de árvores nativas afetadas pelo rompimento da barragem Córrego do Feijão em Brumadinho, MG e seu desenvolvimento em campo.

Tabela 1: Quadro de análise de variância da sobrevivência, 90 dias após a enxertia de três espécies (*Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis*) realizadas em duas diferentes épocas do ano: inverno (agosto) e primavera (novembro)..... 125

Tabela 2: Quadro de análise de variância do comprimento de brotações com tamanho superior à 10 cm por planta, 90 dias após a enxertia de três espécies (*Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis*) realizadas em duas diferentes épocas do ano: inverno (agosto) e primavera (novembro)..... 125

Tabela 3: Quadro de análise de variância do diâmetro de brotações com tamanho superior à 10 cm por planta, 90 dias após a enxertia de três espécies (*Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis*) realizadas em duas diferentes épocas do ano: inverno (agosto) e primavera (novembro)..... 126

Tabela 4: Quadro de análise de variância do número de brotações com tamanho superior à 10 cm por planta, 90 dias após a enxertia de três espécies (*Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis*) realizadas em duas diferentes épocas do ano: inverno (agosto) e primavera (novembro)..... 126

Tabela 5: Quadro de análise de variância do número de brotações, 90 dias após o plantio em campo de mudas enxertadas das espécies *Dalbergia nigra* e *Handroanthus serratifolius*. 126

Tabela 6: Quadro de análise de variância do comprimento de brotações, 90 dias após o plantio em campo de mudas enxertadas das espécies *Dalbergia nigra* e *Handroanthus serratifolius*..... 127

Tabela 7: Quadro de análise de variância do diâmetro de brotações, 90 dias após o plantio em campo de mudas enxertadas das espécies *Dalbergia nigra* e *Handroanthus serratifolius*. 127

Tabela 8: Quadro de análise de variância do florescimento em campo de mudas enxertadas de *Handroanthus serratifolius* com e sem aplicação de Paclobutrazol (tratamento)..... 127

SUMÁRIO

PREÂMBULO	18
INTRODUÇÃO GERAL	20
REFERÊNCIAS.....	21
REVISÃO DE LITERATURA	25
1. Descrição das espécies estudadas	25
1.1 <i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S.Grose.....	25
1.2 <i>Dalbergia nigra</i> (Vell.) Allemão ex Benth	26
1.3. <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze	28
1.4. <i>Euplassa semicostata</i> Plana	29
2. Conservação genética de espécies florestais nativas	30
3. Indução do florescimento de espécies florestais por meio da enxertia e aplicação de paclobutrazol	31
3.2 Enxertia	32
3.3 Atuação do paclobutrazol.....	35
3.4 Indução de florescimento em espécies florestais	37
REFERÊNCIAS.....	39
CAPÍTULO 1 – RESGATE DE DNA DE ÁRVORES NATIVAS AFETADAS PELO ROMPIMENTO DA BARRAGEM CÓRREGO DO FEIJÃO EM BRUMADINHO, MG E SEU DESENVOLVIMENTO EM CAMPO	51
Resumo.....	51
Abstract.....	53
1. Introdução	54
2. Material e métodos.....	55
2.1 Seleção das espécies	55
2.2 Coleta de material e enxertia	57
2.3 Plantio em campo	60
3. Resultados	64
3.1 Enxertias	64
3.2 Plantio em campo	66
3.2.1 Plantio em campo com e sem paclobrutazol	66
3.2.2 Plantio em pleno sol e sombra.....	70
4. Discussões.....	73
4.1 Enxertias	73
4.2 Plantio em campo	75
4.2.1 Plantio em campo com e sem paclobutrazol	76
4.2.2 Plantio em pleno sol e sombra.....	78
5. Conclusões.....	79

6. Referências	80
CAPÍTULO 2 – ENXERTIA DE <i>Euplassa semicostata</i> EM DIFERENTES ESPÉCIES DE PORTA-ENXERTOS E SUAS INCOMPATIBILIDADES ANATÔMICAS	85
Resumo	85
Abstract	87
1. Introdução	88
2. Material e métodos	89
2.1 Enxertias	89
2.2 Análise anatômicas	92
3. Resultados	92
3.1 Enxertias	92
3.2 Caracterização anatômica.....	93
4. Discussões	96
5. Conclusões.....	98
6. Referências	98
CAPITULO 3 – INDUÇÃO DE FLORESCIMENTO PRECOCE E CARACTERIZAÇÃO DE DOENÇAS EM CONDIÇÕES DE CAMPO DE <i>Euplassa semicostata</i> PLANA	101
Resumo	101
Abstract	103
1. Introdução	104
2. Materiais e Métodos	105
2.1 Caracterização da área de estudo	105
2.2 Monitoramento da floração.....	106
2.3 Indução de florescimento	106
2.4 Caracterização de doenças.....	106
3. Resultados	107
4. Discussões	113
5. Conclusões.....	116
6. Referências	117
CONSIDERAÇÕES FINAIS	122
ANEXOS	124
CAPÍTULO 1	125
CAPÍTULO 3	131

PREÂMBULO

O presente trabalho de doutorado, está organizado em 05 diferentes seções, com os seguintes tópicos:

1) Introdução geral: contextualização e justificativa do trabalho sobre resgate de DNA e indução de florescimento em espécies arbóreas nativas;

2) Revisão Bibliográfica: abordagem sobre as espécies estudadas e principais pesquisas relacionadas ao resgate vegetativo e indução de florescimento em espécies florestais;

3) Capítulos:

- Resgate de DNA de árvores nativas afetadas pelo rompimento da barragem em Brumadinho/MG e seu desenvolvimento em campo com aplicação de paclobutrazol.

- Enxertia de *Euplassa semicostata* Plana em diferentes espécies de porta-enxertos e suas incompatibilidades anatômicas

- Indução de florescimento precoce e caracterização de doenças em condições de campo de *Euplassa semicostata* Plana

4) Considerações Finais: principais conclusões sobre os resultados apresentados nos diferentes capítulos dessa tese.

5) Anexos: tabelas, gráficos e figuras que podem auxiliar na interpretação dos resultados apresentados nos diferentes capítulos.

SEÇÃO 1
INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

A mineração é uma das principais atividades econômicas do Estado de Minas Gerais e se concentra, principalmente, no quadrilátero ferrífero, um ecótono de Cerrado/Mata Atlântica (IBGE, 2004). A conservação de espécies florestais desta região é muito importante, especialmente por se tratar de um dos 36 hotspots de biodiversidade do mundo (Brancalion et al., 2018). A mineração causa impactos negativos significativos ao meio ambiente, como o desmatamento, a contaminação de rios e a erosão; alterando a superfície terrestre e resultando em ecossistemas degradados e incapazes de retornar ao estado original (Tavares et al., 2019; Sousa et al., 2020).

O rompimento da barragem Mina Córrego do Feijão, em Brumadinho, Minas Gerais foi um dos maiores desastres socioambientais da história do Brasil (Dias et al., 2018). Formou-se uma avalanche de lama, que provocou perdas irreparáveis nas comunidades vegetais (Carvalho et al., 2017). Diversas espécies ameaçadas foram afetadas, entre elas *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth (jacarandá-caviúna), *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose (ipê-amarelo) e *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kintze (jequitibá-rosa).

Jacarandá-caviúna foi alvo de intensa exploração, que, somada à degradação de seu ambiente natural, resultou na redução de suas populações a pequenos fragmentos isolados e a unidades de conservação (Santos et al., 2020a). As espécies ipê-amarelo e jequitibá-rosa destacam-se, entre outras espécies arbóreas, pelo grande potencial madeireiro (Santos et al., 2020b; Tambarussi et al., 2015). Ambas espécies são ameaçadas, e ocorrem em uma baixa densidade populacional, geralmente menor que uma árvore por hectare (Santos et al., 2020b et al., 2020; Tambarussi et al., 2015).

Em um fragmento florestal pertencente à Mineradora Vale S.A. em Nova Lima/MG foram observados alguns indivíduos da espécie *Euplassa semicostata* Plana, uma árvore rara que ocorre, mais frequentemente, na região central do Estado de Minas Gerais. Existem poucos indivíduos catalogados desta espécie e a grande maioria estão localizados em fragmentos florestais de áreas destinadas à mineração (CRIA, 2022). Esta espécie apresenta florescimento tardio, o que dificulta ainda mais a sua propagação e, conseqüentemente, provoca redução da sua população.

A enxertia pode ser uma alternativa para o resgate de matrizes, uma vez que apresenta que não necessita abater a árvore matriz para coleta de propágulos, além de ser uma prática simples e baixo custo (Xavier, 2013). Caso os propágulos utilizados sejam retirados da parte adulta da árvore, o florescimento das plantas enxertadas pode acontecer mais cedo, e as copas terão seu porte reduzido, facilitando a colheita das sementes (Rocha et al., 2002). Esta técnica permite a preservação de alelos de interesse a custos compatíveis e pode ser utilizada para a conservação genética de espécies arbóreas (Mendes et al., 2020; Castro et al., 2021; Simões et al., 2021). É uma técnica muito influenciada por condições ambientais, como a temperatura e umidade (Xavier et al., 2013).

Alguns reguladores de crescimento, como o paclobutrazol (PBZ), também têm sido utilizados com sucesso na indução de florescimento em espécies florestais (Mendes et al., 2020). Tanto o uso da enxertia, como a indução de florescimento pelo PBZ podem ser alternativas viáveis para evitar a perda de variabilidade genética de espécies ameaçadas, evitando a morte destas plantas antes que possam produzir descendentes (Mendes et al., 2021).

O objetivo deste trabalho foi resgatar, por enxertia, árvores de espécies nativas com risco de morte, avaliar o desenvolvimento dessas plantas no campo e verificar a eficiência da aplicação do paclobutrazol na indução do florescimento de mudas enxertadas e em árvores com dificuldade de florescimento no campo.

REFERÊNCIAS

- Branca Lion PHS, Bello C, Chazdon RL, Galetti M, Jordano P, Lima RAF, Medina A, Pizo MA, Reid JL. Maximizing biodiversity conservation and carbon stocking in restored tropical forests. *Conservation Letters*. 2018; 11(4):1-9. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/179791>>.
- Castro CAO, Santos GA, Takahashi EK, Nunes ACP, Souza GA, Resende MDV. Accelerating Eucalyptus breeding strategies through top grafting applied to young seedlings. *Industrial Crops and Products*. 2021; 171(1): 113906. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113906
- Carvalho MS, Ribeiro KD, Moreira RM, Almeida AM. Concentration of metals in the Doce river in Mariana, Minas Gerais, Brazil. *Acta Brasiliensis*. 2017; 1(3):37-41. doi: 10.22571/Actabra13201758

- Centro de Referência e Informação Ambiental – CRIA/. 2011. Specieslink - simple search. Disponível em <http://www.splink.org.br/index> (Acesso em 20/07/2011).
- Dias CA, Costa ASV, Guedes GR, Umbelino GJM, Sousa LG, Alves JH, Silva TGM. Impactos do rompimento da barragem de Mariana na qualidade da água do rio Doce. *Revista Espinhaço*. 2018; 7(1): 21-35.
- IBGE. Mapa de biomas do Brasil e mapa de vegetação do Brasil. 3. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2004.
- Lima RAF, Souza VC, Siqueira MF, Steege H. Defining endemism levels for biodiversity conservation: tree species in the Atlantic Forest hotspot. *Biological Conservation*. 2020; 252:108825. doi: 10.1016/j.biocon.2020.108825.
- Mendes GGC, Santos GA, Resende MDV, Martins SV, Souza GA, Nunes ACP, Martins TGV. Flowering acceleration in native Brazilian tree species for genetic conservation and breeding. *Annals of Forest Research*. 2020; 63(1): 39-52. doi: 10.15287/afr.2019.1751.
- Mendes GGC, Santos GA, Xavier A, Martins SV, Souza GA, Martins TGV, Reis Neto RF. Grafting efficiency in Brazilian native tree species. *Scientia Forestalis*. 2021; 49(132): e3687. doi: 10.18671/scifor.v49n132.04
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*. 2000; 403(6772):853-858. doi: doi.org/10.1038/35002501
- Santos AR, Gonçalves¹ EO, Gibson EL, Araújo EF, Caldeira MVW. Controlled-release fertilizer in the growth of *Dalbergia nigra* seedlings. *Floresta*. 2020a; 50(2): 1203-1212. doi: 10.5380/rf.v50 i2. 6208
- Santos MF, Santos LE, Costa DL, Vieira TA, Lustosa DC. *Trichoderma* spp. on treatment of *Handroanthus serratifolius* seeds: effect on seedling germination and development. *Heliyon*. 2020b; 6(6): e04044. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e04044.
- Simões IM, Lopes JC, Schmidt ER, Ferreira A, Baptista JO, Araujo CP, Rosa TLM, Amaral GC, Alexandre RS. Grafting between species of the genus *Handroanthus* for the production of multi-colored flower canopies. *Scientia Forestalis*. 2021; 49(132): e3701. doi: 10.18671/scifor.v49n132.07
- Sousa SS, Freitas DAF, Latini AO, Silva BM, Viana JHM, Campos MP, Peixoto DS, Botula Y. Iron ore mining areas and their reclamation in Minas Gerais State,

- Brazil: impacts on soil physical properties. SN Applied Sciences. 2020; 2: 1659. doi: 10.1007/s42452-020-03457-9
- Tambarussi EV, Boshier D, Vencovsky R, Freitas MLM, Sebbenn AM. Paternity analysis reveals significant isolation and near neighbor pollen dispersal in small *Cariniana legalis* Mart. Kuntze populations in the Brazilian Atlantic Forest. Ecology and Evolution. 2015; 5(23):5588-5600.doi: 10.1002/ece3.1816
- Tavares W, Beiroz A, Fialho F, Frazão R, Macedo J, Louzada J, Audino L. Eucalyptus plantations as hybrid ecosystems: Implications for species conservation in the Brazilian Atlantic Forest, Forest Ecology and Management. 2019; 433: 131-139. doi: 10.1016/j.foreco.2018.10.063.
- Xavier A, Wendling I, Silva RL. Silvicultura clonal - princípios e técnicas. Viçosa: Editora UFV, 2013.

SEÇÃO 2
REVISÃO DE LITERATURA

REVISÃO DE LITERATURA

1. Descrição das espécies estudadas

1.1 *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S.Grose

Handroanthus serratifolius (Vahl) S. Grose é uma espécie arbórea da família das Bignoniaceae e popularmente conhecida como ipê-amarelo, pau-d'arco-amarelo, ipê-ovo-de-macuco entre outros nomes (Lorenzi, 2009). A partir do trabalho de Olmstead e Grose (2007) esta árvore, anteriormente classificada como pertencente ao gênero *Tabebuia*, foi incluída no gênero *Handroanthus*. Ocorre em diversos países da América Latina, como Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Peru, Suriname, Trinidad e Tobago, Venezuela e no Brasil pode ser observada desde o estado da Amazônia até o Paraná, passando pelos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal (Carvalho, 2003; Lohmann, 2015). É típica das florestas pluviais densas, desde o nível do mar até altitudes de 1200 m, ocorrendo também em florestas secundárias e campinas (Ferreira et al., 2004).

É uma árvore de porte médio a alto, alcançando, entre 8 a 20 m de altura e 60 a 80 cm de diâmetro, contudo, em algumas florestas pode alcançar até 50 m (Lorenzi, 2009). Suas folhas são compostas digitadas (5-folioladas, eventualmente 4), com folíolos glabros ou pubescentes, oblongos, ovais a lanceolados, com ápice acuminado e base arredondada a acuneada; apresentam consistência membranácea a subcoriácea; com margem serreada, crenado-serreada ou raramente inteira (Lorenzi, 2009; Ferreira et al., 2004).

As flores são hermafroditas, livres ou em tríades, com pedúnculos curtos, dispostas nas extremidades dos ramos em conjuntos umbeliformes. O cálice apresenta coloração esverdeada e ligeiramente pubescente. Já a corola tem coloração amarelo dourada e mede 6 a 8 cm de comprimento, porém ambos apresentam estrutura tubular com cinco lóbulos (Ferreira et al., 2004). O fruto é uma vagem septicida, coriácea, glabra, linear, de 20 a 65 cm de comprimento e 2,5 a 3,5 cm de espessura. As sementes são numerosas, retangulares, laminares, leves, com duas asas hialinas e curtas (Ferreira et al., 2004). Os principais agentes polinizadores são as abelhas (Fernandes, 2015).

H. serratifolius possui desenvolvimento lento. Estima-se que o crescimento em altura e diâmetro sejam, respectivamente de 0,67 m e 0,84 cm por ano (Kroll et al. 1994), apresentando um incremento médio anual de 6,6 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ (Campos Filho e Sartorelli, 2015). Sua madeira é bastante pesada com densidade aproximada de 1,08 g/cm³, muito dura, o que a torna difícil de serrar; além disso, possui excelente durabilidade mesmo em condições que favoreçam seu apodrecimento, porém, é bem fácil de secar (Ferreira et al., 2004; Lorenzi, 2009).

Esta espécie tem sido utilizada em marcenaria, construções pesadas e estruturas externas, tanto civis quanto navais. Por apresentar floração muito atraente, a árvore tem sido amplamente utilizada em projetos de paisagismo. No entanto, não se recomenda o plantio em locais próximos a residências ou em calçadas públicas. Seu sistema radicular pode danificar o calçamento e/ou rede de esgoto ou ainda, provocar o entupimento de calhas no período em que perde suas folhas (Ferreira et al., 2004; Lorenzi, 2009). O ipê-amarelo possui um princípio ativo chamado Lapachol em sua madeira, caule e casca (Matos, 2000), uma naftoquinona usada desde o final do século XX no tratamento de várias doenças, incluindo certos tipos de câncer (Miranda, 2018).

A propagação desta espécie normalmente, ocorre por via sexuada (Carvalho, 2003) da mesma forma que a grande maioria das espécies florestais nativas, pois a falta de informações silviculturais, o reduzido domínio técnico e menores custos iniciais, tornam essa prática mais comum (Dias et al., 2012). Junto com *H. impetiginosus* é considerada a madeira mais explorada do Brasil o que vem promovendo uma drástica redução do tamanho de suas populações (Schulze et al., 2008). Com o rápido crescimento das atividades humanas, a expansão agropecuária e industrial, as áreas de ocorrência do Ipê-amarelo foram e continuam sujeitas à destruição e fragmentação de hábitat. Esse processo reduz a biodiversidade e coloca em risco a estabilidade de populações nativas, pois leva à sua diminuição ou até mesmo à extinção, pela perda de diversidade genética (Silva et al., 2014)

1.2 *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth

Dalbergia nigra (Vell.) Allemão ex Benth é uma árvore conhecida popularmente como jacarandá-da-bahia, jacarandá-preto ou jacarandá-caviúna. Pertence à família Fabaceae, subfamília Papilionoideae (Lorenzi, 2009). É endêmica

do Brasil e ocorre no Domínio Fitogeográfico da Mata Atlântica, em praticamente todo Nordeste, até a região Sul, no estado do Paraná, podendo ser observada tanto nas Florestas Estacionais Semidecíduais quanto nas Florestas Ombrófilas (Lima, 2015). Apesar de ocorrer em todos estes estados, a maior zona de ocorrência natural do jacarandá-da-Bahia é no sul da Bahia e norte do Espírito Santo, mais precisamente em altitudes que variam entre 30 a 1700 m (Rêgo, 2003). Na floresta, a espécie aparece em terrenos ondulados e montanhosos, ocupando o topo e as encostas das elevações onde ocorrem solos argilosos e argiloarenosos, profundos e de boa drenagem (Rêgo, 2003).

É uma espécie de grande porte, que pode alcançar até 30 m de altura. Possui folhas compostas pinadas de 5 a 8 cm de comprimento, com 11 a 17 folíolos glabrescentes de 12 a 15 mm de comprimento (Lorenzi, 2009). Apresenta inflorescência composta por flores hermafroditas na cor branco-amareladas, pequenas e bem perfumadas, encontrando-se em cachos axilares medindo até 6 cm de comprimento, originando a panículas de até 20 cm (Carvalho, 2003). Os frutos são do tipo legume indeiscente podendo atingir de 3 a 8 cm de comprimento e com 18 a 22 mm de largura, onde se pode encontrar de uma a duas sementes pequenas e membranáceas. Possui fruto seco, plano e comprido, adaptado à dispersão anemocórica (Carvalho, 2003; Bortoluzzi et al., 2004).

A madeira de *D. nigra* é moderadamente pesada e densa ($0,87 \text{ g cm}^{-3}$), possui grande durabilidade natural e é muito decorativa, o que resulta em seu alto valor agregado (Rizzini, 1972). Apesar de possuir madeira muito densa, seu crescimento não é considerado lento, com um incremento médio anual (IMA) entre 10 e 20,80 $\text{m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. É considerada a mais valiosa do Brasil (Campos Filho e Sartorelli, 2015). Pode ser utilizada na fabricação de mobiliário de luxo, de instrumentos musicais, como o piano, acabamentos internos em construção civil, entre outros. Por ser muito ornamental, é bastante empregada no paisagismo. É bastante rústica e se adapta bem em terrenos secos, o que a torna ótima opção para plantios mistos em terrenos degradados (Carvalho, 2003; Lorenzi, 2009). É uma espécie que apresenta alto potencial para recuperação de solo, por depositar razoável camada de folhas e mostrar grande amplitude de tolerância ambiental (Carvalho, 2003; Lorenzi, 2009).

A intensa fragmentação das subpopulações, associada a acentuada extração de sua madeira e ao desmatamento, está reduzindo a diversidade genética desta espécie. Estima-se uma perda de pelo menos 30% da sua população. A extração

ilegal da madeira é uma realidade, principalmente de raros indivíduos de grande porte, remanescentes em áreas de floresta primária, e para que a espécie possa restabelecer sua população será necessário o controle das suas áreas de ocorrência, assim como estudos que comprovem a variabilidade genética da população (CNCFlora, 2012). Suas populações estão restritas a algumas unidades de conservação ou áreas mais remotas de difícil acesso (Costa et al., 1998). Hoje a espécie consta como vulnerável à extinção na lista da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN- International Union for Conservation of Nature) (Campos Filho e Sartorelli, 2015)

1.3. *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze

Cariniana estrellensis (Raddi) Kuntze é uma espécie da família Lecythidaceae vulgarmente conhecida como jequitibá-rosa, jequitibá-branco, jequitibá-rei, entre outros nomes populares (Lorenzi, 2009). Apresenta distribuição disjunta entre os biomas Amazônico e Mata Atlântica. Nessa última, é a espécie que consegue habitar as regiões de maior altitude e latitude (Ribeiro et al., 2020).

Quanto aos aspectos morfológicos, esta espécie pode apresentar até 50 m de altura e 215 cm de DAP (Carvalho et al., 2000). Suas folhas são simples, oblongo-elípticas a lanceoladas, com margem serrada; ápice acuminado e pecíolo de cor avermelhada quando nova. Possui tronco reto, cilíndrico, colunar, com fuste de até 25 m de altura e com grandes expansões tabulares na sua base, devido às raízes grossas. As flores são pequenas, branco-creme, reunidas em racemos axilares solitários, de 3 a 6 cm de comprimento, com cinco a quinze flores inseridas nas axilas das folhas. Os frutos são tipo pixídio fibroso (em forma de urna inviolável), cilíndrico-oblongo, lenhoso, de cor parda, com poucas lenticelas mais claras, contendo de 20 a 35 sementes (Carvalho, 2003).

Possui madeira moderadamente pesada, pouco durável em condições naturais, alburno pouco diferenciado do cerne e pode ser empregada na fabricação de móveis, compensados, construção civil, caixotaria. Por ser bastante ornamental, pode ser utilizada na arborização de grandes áreas, como parques, por exemplo. Suas sementes são muito apreciadas pela fauna, principalmente macacos, tornando-a interessante em reflorestamentos heterogêneos (Lorenzi, 2009). O jequitibá-rosa também é muito utilizado na medicina popular na forma de chás, que segundo a

crença, sua casca é um poderoso adstringente e tem grande poder desinfetante, sendo, portanto, recomendada para inflamações das mucosas e faringite (Carvalho, 2003)

Como consequência de seus atributos madeireiros, a espécie encontra-se em perigo de extinção, restando um número reduzido de populações remanescentes isoladas em pequenos fragmentos, o que justifica a necessidade de realizar estudos que auxiliem na conservação *in situ* e *ex situ* dessa espécie (Guidugli et al., 2010; CNCFlora, 2012).

1.4. *Euplassa semicostata* Plana

Euplassa semicostata Plana é uma espécie arbórea, pouco conhecida. É endêmica de Minas Gerais, porém um único registro foi encontrado no Estado da Bahia. É encontrada de maneira disjunta, sempre em altitudes elevadas e em pequenas áreas de ocupação. Suspeita-se que sua população esteja severamente fragmentada. Na Bahia, a espécie ocorre em uma área de encontro dos biomas Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. Em Minas Gerais, em Campo Rupestre e Cerrado (CNCFlora, 2012).

E. semicostata está sujeita a diversas ameaças presentes nesses dois Estados. As principais são: a alta frequência do fogo, especialmente na região da Chapada Diamantina; e a mineração, na região central da Serra do Espinhaço (Vasconcelos et al., 2008; Neves e Conceição, 2010). Até o momento não existem registros de trabalhos científicos com esta espécie, e raros são os registros encontrados em herbários no Brasil.

A espécie *Euplassa semicostata* possui em média 4 metros de altura e se diferencia das demais de seu gênero por ter como traço mais característico a forma como a nervura mediana não alcança o ápice do folíolo (Plana & Prance, 2004). Os caules, quando jovens, são tomentosos e ferruginosos e desbotam com a maturidade, apresentando cor acinzentada quando mais velhos. As folhas são subcoriáceas, foscas, com forma obovada a elíptica, com três a quatro pares de folíolos opostos. A inflorescência é em pseudo-racemo, simples ou ramificada, em posição axilar ou terminal, com diâmetro em torno de 1,8 - 2,3 cm com coloração amarelada ou creme (Plana & Prance, 1998). As sementes possuem formato obovoide a elipsoide.

2. Conservação genética de espécies florestais nativas

Ações humanas, muitas vezes, causam grandes impactos nocivos ao meio ambiente, diminuindo o tamanho da população natural e conseqüentemente, reduzindo o fluxo genético entre seus indivíduos (Gonçalves et al. 2014). Populações pequenas, fragmentadas e isoladas têm, geralmente, baixa variabilidade genética, logo, são mais suscetíveis a oscilações demográficas, ambientais e estocasticidades genéticas (El-Kassaby et al. 2019). Isso aumenta o risco de deriva genética, depressão por endogamia e até de extinção (Bittencourt et al., 2019; Coates et al., 2018). Dentro deste contexto, é fundamental que exista diversidade genética para a manutenção da biodiversidade, sendo, portanto, importante a incorporação de ações e políticas conservacionistas visando a sua proteção (Moritz e Faith, 1998).

A biodiversidade vem sofrendo uma alarmante redução nos últimos anos mesmo após iniciativas importantes, como por exemplo, a ampliação das áreas protegidas no planeta (Ward et al., 2020). As Unidades de Conservação raramente são capazes de resguardar todos os habitats e espécies de interesse (Kati et al., 2004). O resgate genético é fundamental para que se possa expandir o tamanho efetivo populacional (N_e), possibilitando assim, o cumprimento de metas de conservação em curto e longo prazo (El-Kassaby et al., 2019). Seu objetivo é promover a conservação de alelos em populações fragilizadas pela fragmentação (Leroy et al., 2017).

A conservação *in situ* pode ser realizada em parques estaduais e nacionais, unidades de conservação, bosques, área de coleta de sementes entre outros (Sebbenn, 2003). É uma estratégia importante na preservação dos recursos genéticos, pois contribui com a conservação de todo ecossistema associado àquela espécie, propiciando maiores condições de sobrevivência e mantendo a variabilidade genética (Hayaward e Hamilton, 1997).

Como estratégia complementar à conservação *in situ*, pode-se utilizar a conservação *ex situ*, que é quando as plantas são mantidas em bancos de germoplasma, fora do seu habitat natural (Kati et al., 2004). Deve ser utilizada quando a primeira é insuficiente ou impraticável (Graudal et al., 1997). Na conservação *ex situ* é necessário manter o tamanho efetivo populacional (N_e) alto, haja visto que este parâmetro é capaz de influenciar significativamente a capacidade da população em manter suas características genéticas ao longo das gerações, interferindo no processo

evolutivo das espécies (Sebbenn, 2003; Willi et al., 2007). Desse modo, o Ne é fundamental na análise da viabilidade de conservação de uma população a médio e longo prazo (Espeland e Rice, 2010).

3. Indução do florescimento de espécies florestais por meio da enxertia e aplicação de paclobutrazol

O florescimento das plantas é o resultado de diversos estímulos que sinalizam à planta que ela deve alterar seu programa de desenvolvimento (Taiz e Zeiger, 2017). Quando isso ocorre, o meristema caulinar se modifica para produzir os primórdios florais (Würz et al., 2018). Os fatores que afetam o florescimento podem ser de origem ambiental como o fotoperíodo, a temperatura e disponibilidade de água (Freire et al. 2013; Lubke et al., 2021; Silva et al., 2021a), mas também existem aqueles de origem endógena, como o estado nutricional e o balanço hormonal (Kosera et al., 2018; Menegusso et al., 2021).

As plantas possuem a habilidade de detectar essas variações no meio ambiente, possibilitando que o florescimento ocorra em uma determinada estação do ano (Lubke et al., 2021). A floração acontece em sincronia com outros indivíduos da mesma espécie, evitando a autofecundação e, portanto, aumentando a variabilidade genética em resposta a essas variações ambientais (Peruzzolo et al., 2019, Silva et al., 2021b).

O fotoperiodismo é a sensibilidade dos vegetais em relação à duração do dia e da noite e embora existam vários processos fisiológicos afetados por ele, o florescimento é o mais estudado (Taiz e Zeiger, 2017). Os vegetais podem ser classificados como plantas de dias curtos ou de dias longos, pois florescem quando submetidas a luz por um período menor e maior, respectivamente, que o valor crítico em um período de 24 horas (Dong et al., 2020; Lopez et al., 2020; Lu et al., 2020). Aquelas que não dependem do comprimento do dia e da noite para florescerem são chamadas de plantas de dias neutros (Lu et al., 2020; Sidhu et al., 2021).

Em algumas plantas a floração ocorre após a sua exposição a baixas temperaturas por um determinado tempo (Yuan et al., 2020). Este processo é chamado de vernalização e pode estar associado à necessidade posterior de dias longos (Ribeiro et al., 2006). Na ausência do frio, algumas plantas atrasam seu

florescimento ou permanecem na fase vegetativa, não desenvolvendo a competência para responder aos sinais florais (Matar et al., 2020).

A disponibilidade de água também é outro fator importante para o crescimento e floração dos vegetais (Lubke et al., 2021; Silva et al., 2021a). A resposta à umidade, ou a falta dela, permite que a floração seja uniforme e sincronizada com outros indivíduos da mesma espécie (Silva et al., 2021a). Como é o caso do café, que necessita ser submetido a estresse hídrico para que suas gemas florais possam se diferenciar (Torres et al., 2020). Logo após esse período de estresse hídrico, já nas primeiras chuvas, ou disponibilidade de água a gema entumece entrando na fase reprodutiva (Miranda et al., 2020).

Os mecanismos de controle da floração por meio da nutrição são diversos (Taiz e Zeiger, 2017). Alguns nutrientes favorecem a transição floral, contudo, a resposta a adubação não é igual para todas as espécies (Wang, 2007; Ghanbari et al., 2019;). A relação carbono/nitrogênio pode promover ou inibir o florescimento, dependendo da espécie (Wada e Shinozaki 1985). Como por exemplo a deficiência de fósforo, que pode atrasar o florescimento e reduzir o número de flores (Chauhan et al., 1992).

Outro fator relevante está relacionado aos hormônios vegetais, que controlam o desenvolvimento das plantas (Schaller et al., 2015). As citocininas podem promover ou retardar o florescimento dependendo da sua concentração (Abad Farooqi et al., 1994; Taylor et al., 2005; Taiz e Zeiger, 2017). Giberelinas estão relacionadas com a formação de estruturas reprodutivas em alguns vegetais (He et al., 2020; Verdolin et al., 2021). O ácido abscísico (ABA) regula o florescimento e também está relacionado com a maturação e dormência de sementes, crescimento de raízes entre outros (Taiz e Zeiger, 2017).

3.2 Enxertia

A enxertia possibilitou muitas conquistas dentro dos programas de melhoramento genético florestal (Hartmann et al. 2011). A partir desta técnica é possível resgatar as matrizes selecionadas reduzindo consideravelmente o tempo para realização de cruzamentos controlados (Mendes et al., 2020). Plantas enxertadas apresentam porte reduzido, o que facilita muito o trabalho do melhorista, que alcança mais facilmente os órgãos reprodutivos das árvores (Hartmann et al.

2011). Além dos benefícios já mencionados, a enxertia viabiliza o resgate de genótipos importantes; combina genótipos com propósitos distintos e faz com que as plantas se tornem mais produtivas (Ribeiro et al., 2005; Hartmann et al., 2011; Xavier, 2013).

A enxertia é composta pelo porta-enxerto e pelo enxerto (Rocha et al., 2018; Baron et al., 2019). O porta-enxerto compõe a parte inferior da planta, cuja função é absorver água e nutrientes e fixar a planta ao solo (Baron et al., 2019). O enxerto compõe a parte superior e produtiva da planta que se quer multiplicar (planta selecionada), desempenhando funções de condução de seiva, fotossíntese, florescimento, frutificação, etc (Xavier, 2013).

A fase reprodutiva de uma planta é relativamente estável e se mantém durante a propagação vegetativa por enxertia (Simões et al., 2021). O enxerto de um segmento caulinar retirado da copa de uma árvore madura, poderá florescer mesmo quando enxertado em mudas jovens (Mendes et al., 2020). No entanto, cabe destacar que a juvenilidade do porta-enxerto, principalmente daqueles produzidos a partir de sementes, pode ser transmitida para o enxerto, que terá sua maturidade revertida (Andrade, 2010). Durante este processo, há transmissão de sinais entre as células do porta-enxerto para o enxerto, como fitormônios, por exemplo, que desencadeiam o processo de rejuvenescimento (Andrade, 2010). A enxertia seriada é considerada, inclusive, um método eficaz e amplamente utilizado para o rejuvenescimento de algumas plantas (Santin et al., 2015). A copa de uma árvore é composta por ramos com expressões de maturidade diferenciadas que variam, principalmente, em função da idade e da espécie. Desse modo, quando o objetivo é obter mudas com florescimento precoce, a escolha dos propágulos é fundamental (Evstigneev e Korotkov, 2016).

Na literatura são encontradas diversas técnicas de enxertia que podem ser organizadas em três categorias: borbulhia, encostia e garfagem (Xavier, 2013). Na borbulhia uma gema é destacada da árvore matriz e introduzida no porta-enxerto (Prabpree et al., 2018; Sudsiri et al., 2022). Esta técnica é muito simples e de fácil execução, e a gema utilizada pode ser ativa ou dormente (Xavier, 2013). A encostia é pouco utilizada por ser uma técnica complexa e mais demorada que as demais (Ribeiro et al., 2005). Ela consiste na união do enxerto ao porta-enxerto antes da separação da planta de origem. Esta técnica pode ser uma alternativa para o resgate

de árvores adultas que não podem ser propagadas por outros métodos de enxertia (Xavier, 2013).

A enxertia por garfagem é caracterizada pela união de um segmento caulinar da planta que se deseja multiplicar, em um porta-enxerto previamente decapitado. A garfagem em fenda é uma das técnicas mais utilizadas em função da sua alta praticidade (Ribeiro et al., 2005). Para garantir o sucesso desta técnica, recomenda-se o recobrimento do enxerto com um plástico (parafilm) a fim de minimizar a perda de água e manter a sua turgidez. Além disso, é interessante envolver o local da união com um fitilho, que dará mais firmeza à esta conexão (Xavier, 2013; Mendes et al., 2020). A união entre o enxerto e o porta-enxerto inicia-se por intensa divisão celular e formação de um tecido cicatricial, que posteriormente se diferencia em tecido vascular. Para o sucesso da enxertia, é fundamental que os câmbios das diferentes partes que a compõe estejam em contato direto, permitindo a comunicação entre elas (Xavier et al., 2013).

Na silvicultura, a enxertia é uma técnica muito empregada na formação de pomares clonais para produção de sementes melhoradas de *Pinus* e *Eucalyptus* (Rocha et al., 2002). No entanto, os estudos relacionados a espécies nativas ainda são incipientes e a maioria não vai além das etapas experimentais (Stuepp, et al., 2018). Em *Hevea brasiliensis* a enxertia tem sido utilizada com o objetivo de intensificar a produtividade de látex, resistência a doenças, entre outras características (Xavier, 2013; Martins et al., 2020). O sucesso da aplicação desta técnica em plantios clonais desta espécie já foi relatado por Pinheiro et al., (1989); Cardinal et al. (2007); Pereira et al. (2019) entre outros.

Algumas árvores nativas têm sido propagadas por enxertia com a finalidade de reduzir a altura da copa e produzir frutos em menor tempo, como por exemplo em *Theobroma cacao* L. (Almeida et al., 2009), *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) (Souza et al., 2002), *Araucaria angustifolia* (Bertol.) (Wendling et al., 2017; Gaspar et al. 2017) e *Bertholletia excelsa* Humn. & Bonpl. (Carvalho e Nascimento, 2016). A enxertia também tem sido aplicada em *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. (Domingos e Wendling, 2006); árvore importante, principalmente para a região sul do Brasil, cuja produção via sementes tem apresentado uma série de limitações.

A técnica de enxertia aplicada às espécies florestais nativas deve contribuir para futuros programas de conservação e melhoramento genético, permitindo a melhor conservação de alelos, com diversidade genética adequada e a custos

compatíveis (Mendes et al., 2020). O florescimento e frutificação precoces permitem que espécies vulneráveis sejam plantadas em seus locais de ocorrência natural já na fase reprodutiva, atraindo dispersores e polinizadores e, conseqüentemente, acelerando a recuperação destas áreas.

3.3 Atuação do paclobutrazol

Os reguladores de crescimento têm sido amplamente utilizados na agricultura e em culturas florestais, e seus benefícios foram relatados em diversas pesquisas (Mendes et al., 2020; Oliveira, 2020; Desta e Amare 2021; Singhal et al., 2021). Dentre estes reguladores, o paclobutrazol (PBZ) é um dos mais utilizados para reduzir o tempo entre a fase juvenil e reprodutiva (Taiz e Zeiger, 2017). O PBZ é transportado acroptamente via xilema, embora já tenha sido observado no floema (Kishore et al., 2015) e tem sido utilizado com sucesso para regulação do florescimento em plantas perenes (Nartvaranant et al., 2000). O PBZ é um membro do grupo dos reguladores de crescimento triazóis, que inibe a biossíntese de giberelinas (Desta e Amare, 2021). Isto ocorre porque ele reduz a atividade de enzimas, presentes no retículo endoplasmático, responsáveis pela oxidação de ent-caureno, que é um precursor da GA₁₂, a primeira giberelina formada em todas as plantas (Taiz e Zeiger, 2017; Tesfahun e Yildiz, 2018). Além de afetar negativamente a síntese de GAs, o PBZ também é conhecido por afetar a síntese do hormônio ácido abscísico (ABA). O ABA também é sintetizado na via dos terpenóides (Desta e Amare, 2021). Desta forma, quando a síntese de GAs é bloqueada, mais precursores na via dos terpenóides são acumulados e desviados para promover a síntese de ABA (Yan et al., 2011).

As giberelinas regulam positivamente o promotor vegetativo (VP) e negativamente o promotor florigênico (FL) (Nartvaranant et al., 2000). A produção de gemas vegetativas no lugar de reprodutivas é devido ao elevado nível de giberelina. O PBZ, como um inibidor de giberelina, reduz o nível de PV e aumenta a relação FL/VP, estimulando gemas reprodutivas (florescimento), e enfraquecendo gemas vegetativas (Adil et al., 2011).

Este composto pode afetar o crescimento e o desenvolvimento da planta, pois altera a duração da fase juvenil, atingindo a fase reprodutiva mais rapidamente. Essa alteração ocorre pela sua ação em diversas atividades do metabolismo vegetal, como a alteração da taxa fotossintética, a relação fonte-dreno e modificando os níveis de

outros fitohormônios (Tesfahun e Yildiz, 2018). As principais alterações morfológicas provocadas pela aplicação do paclobutrazol é a redução da área foliar e taxa de crescimento em função da redução do comprimento dos entrenós, justamente por ser um antagonista da ação das giberelinas (Ribeiro et al., 2017; Desta e Amare 2021).

Plantas tratadas com PBZ também proporcionam uma maior concentração relativa de citocininas, que por sua vez, previnem a degradação de cloroplastos e clorofilas (Yooyongwech et al., 2017; Fan et al., 2020). Ou seja, as clorofilas ficam em atividade por mais tempo, sem precisarem ser repostas, de forma que, tanto pode haver uma maior taxa fotossintética pela sua conservação, como pela sua concentração por área (Taiz e Zeiger, 2017).

Este regulador de crescimento também contribui para um melhor controle da abertura e fechamento estomático da planta tornando-a mais eficiente na absorção de CO₂ e reduzindo as perdas de H₂O (Souza et al., 2016). Desta forma, ela pode apresentar maior eficiência do uso da água (Damour et al., 2010). O maior controle na captura de CO₂/perda de H₂O, se dá pela contribuição do PBZ na redução do catabolismo normal do ABA. Seu efeito leva ao aumento da concentração de ABA nas folhas, regulando mais eficientemente o fechamento da abertura estomática e reduzindo a perda de água das folhas através da transpiração. O maior conteúdo de ABA reduz o crescimento da parte aérea diminuindo a área foliar para transpiração, gerando mais raízes para absorção de água e provoca alterações nas folhas, o que confere barreiras à perda de água (Damour et al., 2010; Desta and Amare, 2021).

Além disso, a maior concentração de clorofila, associada a um maior controle da abertura e fechamento estomático, aumenta a fotossíntese e, conseqüentemente, a produção de fotoassimilados (Taiz e Zeiger, 2017), sinalizando para a planta que ela pode passar da fase vegetativa para a reprodutiva (Upreti et al., 2014; Muengkaew e Chaiprasart, 2016). A planta então floresce e frutifica mais cedo, garantindo a sobrevivência da espécie (Mog et al., 2019).

Muitas espécies florestais apresentam ciclo reprodutivo muito longo, o que pode ser um risco para a sobrevivência destas plantas. Considerando que as áreas de vegetação nativa vêm sofrendo um grande impacto pela ação humana, árvores que apresentam ciclo reprodutivo curto tem maiores chances de deixar descendentes. A aplicação de paclobutrazol em espécies florestais vulneráveis pode ser uma alternativa viável para evitar a erosão genética, ajudando a reestabelecer a planta já

na fase reprodutiva, ou seja, pode reduzir o risco, inclusive, de predação antes que a planta possa produzir sementes, repovoando o local (Mendes et al., 2020).

3.4 Indução de florescimento em espécies florestais

O desenvolvimento dos vegetais pode ser dividido em fase juvenil, adulta vegetativa e adulta reprodutiva (Taiz e Zeiger, 2017). A transição da fase adulta vegetativa para a reprodutiva pode ser influenciada por diversos fatores que agem de forma isolada ou conjunta (Silva et al., 2021a). A depender da espécie, alguns fatores ambientais como fotoperíodo, temperatura e vernalização são importantes para que o florescimento ocorra (Souza e Funch 2017). No entanto, também existem aqueles intrínsecos à planta como a nutrição, fitohormônios, genética e idade (Menezes 1994).

A antecipação do florescimento de espécies arbóreas tem sido muito utilizada em programas de melhoramento genético, pois reduz consideravelmente o tempo de recombinação entre indivíduos selecionados (Castro et al., 2021). Do ponto de vista ambiental, diminui o risco de morte da planta antes da sua reprodução, além de permitir a propagação de algumas espécies com dificuldades para florescer (Taiz e Zeiger, 2017).

A enxertia e a aplicação de reguladores de crescimento vegetal são estratégias utilizadas para induzir o florescimento em espécies florestais (Castro et al., 2021). A primeira se baseia na união de diferentes partes da planta, de modo que uma sirva de suporte e de comunicação com o sistema radicular para a outra (Xavier, 2013). Embora as duas partes formem uma planta única, cada uma mantém sua individualidade genotípica (Hartmann et al., 2011; Xavier, 2013).

Reguladores vegetais são utilizados com muito sucesso em diversas culturas no Brasil, desempenhando um papel importante na indução do florescimento (Soumya et al., 2017; Oliveira, 2020; Desta e Amare 2021). O paclobutrazol (PBZ) é um regulador de crescimento vegetal que age inibindo a biossíntese de giberelinas e aumentando proporcionalmente a concentração de ácido abscísico (ABA) (D'Arêde et al., 2017; Taiz e Zeiger, 2017). Tudo isso promove alterações morfológicas e fisiológicas na planta que culminam com mudança da fase vegetativa para a reprodutiva (Desta e Amare 2021).

Técnicas de indução de florescimento são usadas em espécies florestais principalmente em pomares de sementes, visando a produção de sementes

melhoradas (Mendes et al., 2020). A maioria dos estudos são concentrados em espécies produtoras de madeira, como *Eucalyptus* spp. (Hasan e Reid, 1995). Em espécies de eucalipto o uso das técnicas de enxertia juntamente com a aplicação de paclobutrazol já é bastante consolidado. Este regulador de crescimento foi aplicado em mudas de *Eucalyptus globulus* (Labill.) demonstrando sua eficácia na indução da floração desta espécie (Hasan e Reid, 1995). Enxertos de *Eucalyptus nitens* (Dean & Maiden) tratados com paclobutrazol aumentaram significativamente sua capacidade reprodutiva (Moncur et al., 1994; Castro et al., 2021).

Trabalhos visando a antecipação do florescimento em espécies não madeireiras vem ganhando mais destaque nos últimos anos (Mendes et al., 2020; Simões et al., 2021). Mudas de *Jacaranda mimosifolia*, *Handroanthus heptaphyllus* e *Schinus terebinthifolius* foram induzidas ao florescimento precoce com a aplicação conjunta destas duas técnicas (Mendes et al., 2020). A enxertia como indutor de florescimento também foi utilizada para produzir árvores do gênero *Handroanthus* com copas multicoloridas por meio de enxertos de diferentes espécies na mesma planta (Simões et al., 2021).

A produção da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) normalmente é feita por meio do extrativismo, porém é crescente o número de produtores que cultivam esta planta, principalmente na região Norte do Brasil (Almeida et al., 2020). Esta espécie pode ser propagada por enxertia a fim de antecipar a produção de frutos e também de reduzir o tamanho da árvore facilitando a colheita (Baldoni, 2018; Almeida et al., 2020). A enxertia em *Araucaria angustifolia* promoveu a produção precoce de flores, reduzindo o tempo para realização de novos cruzamentos e permitindo a frutificação mais rápida, contribuindo para o uso sustentável desta espécie (Wendling et al., 2016).

O uso da enxertia e da aplicação do paclobutrazol na indução do florescimento em espécies florestais, normalmente alcança bons resultados. Contudo, algumas plantas não respondem a estes tratamentos. O uso combinado destes dois processos em plantas de *Swietenia macrophylla*, *Cariniana legalis*, e *Hymenaea courbaril* não produziram flores em um período de dois anos (Mendes et al., 2020). Em *Pinus* spp, normalmente utiliza-se a giberelina e não o paclobutrazol para indução de florescimento precoce (Guo et al., 2021).

REFERÊNCIAS

- Abad Farooqi AH, Shukla YN, Sharma S, Bansal RP. Relationship between gibberellin and cytokinin activity and flowering in *Rosa damascena* Mill. *Plant Growth Regulation*. 1994; 14: 109-113. doi:10.1007/BF00025210
- Almeida CMVC, Dias LAS, Silva AP. Agronomical characterization of cacao accessions. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2009; 44(4): 368-373. doi: 10.1590/S0100-204X2009000400006.
- Almeida II, Santos RF, Mayer MM, Silva JZ. Rootstocks and grafting of Brazil nuts by the patch budding. *Revista de ciências agrárias*. 2020;63(1):1-9.
- Andrade WF. Indução do rejuvenescimento de teca (*Tectona grandis* L. f) através de enxertia seriada e micropropagação. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, Piracicaba, 75p.
- Baldoni AB. Como fazer enxertia por borbúlia em castanheirado-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.). Sinop: Embrapa Agrossilvipastoril, 2018.
- Baron D, Amaro ACE, Pina A, Ferreira G. An overview of grafting re-establishment in woody fruit species. *Scientia Horticulturae*. 2019; 243(1): 84-91. doi: 10.1016/j.scienta.2018.08.012.
- Bittencourt R, Steiner F, Sant’Anna CS, Montagna T, Fernandes CD, Silva FALS, Reis MS. Genetic diversity and structure of *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. populations in the mixed ombrophilous forest of Santa Catarina state. *Ciência Florestal*. 2019; 29(1): 63-74. doi :10.5902/198050984449.
- Bortoluzzi RLC, Carvalho-Okano RM, Garcia FCP, Tozzi AMGA. Leguminosae, Papilionoideae at Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brazil. II: trees and climbing shrubs. *Acta Botânica*. 2004; 18(1): 49-71. doi: 10.1590/S0102-33062004000100006
- Campos Filho EM, Sartorelli PAR. Guia de árvores com valor econômico. São Paulo: Agroicone, 2015.
- Cardinal ABB, Gonçalves OS, Martins ALM. Influence of six rootstocks on yield of superior rubber tree clones. *Bragantia*. 2007;66(2):277-284. doi: 10.1590/S0006-87052007000200011.
- Carvalho DA, Oliveira-Filho AT, Vilela EA, Curi N. Floristic composition and structure of the tree community of a fragment of the submontane semideciduous forest in

- Itambé do Mato Dentro Minas Gerais State, south-eastern Brazil. *Acta Botanica Brasilica*. 2000; 14(1): 37-55. doi: 10.1590/S0102-33062000000100005
- Carvalho PER. *Espécies arbóreas brasileiras*. Colombo: Embrapa Informações Tecnológicas, 2003.
- Carvalho JEU, Nascimento WMO. Enxertia da castanheira-do brasil pelo método de garfagem no topo em fenda cheia. Comunicado Técnico 283. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2016.
- Castro CAO, Santos GA, Takahashi EK, Nunes ACP, Souza GA, Resende MDV. Accelerating Eucalyptus breeding strategies through top grafting applied to young seedlings. *Industrial Crops and Products*. 2021; 171(1): 113906. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113906
- Chauhan YS, Johansen C, Venkataratnam N. Effects of phosphorus deficiency on phenology and yield components of short-duration pigeon pea. *Tropical Agriculture*. 1992; 69(3): 235-238.
- Coates DJ, Byrne M, Moritz C. Genetic diversity and conservation units: dealing with the species-population continuum in the age of genomics. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 2018; 6(165): 1-13. doi: 10.3389/fevo.2018.00165
- CNCFlora. *Dalbergia nigra* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2. Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Dalbergia nigra](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Dalbergia_nigra)>. Acesso em 19 março 2020.
- Costa CMR, Herrmann G, Martins CS, Lins LV, Lamas IR. *Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para sua conservação*. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 1998.
- D'Arêde LO, Viana AESV. Paclobutrazol and water restriction on the growth and development of coffee plants. *Coffee Science*. 2017;12(4):534 – 543.
- Desta B, Amare G. Paclobutrazol as a plant growth regulator. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2021; 8(1):1-15. doi:/10.1186/s40538-020-00199-z
- Dias PC, Oliveira LS, Xavier A, Wendling I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. *Pesquisa Florestal Brasileira*. 2012; 32(72): 453-462. doi: 10.4336/2012.pfb.32.72.453.

- Domingos DM, Wendling I. Survival and vegetative vigor of *Ilex paraguariensis* a. st.-hil. plants grafted directly in the field. *Ciência Florestal*. 2006; 16(1): 107-112. doi: 10.5902 / 198050981892.
- Dong W, Li M, Li Z, Li S, Zhu Y, Hongxu, Wang Z. Transcriptome analysis of the molecular mechanism of *Chrysanthemum* flower color change under short-day photoperiods. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2020; 146(1):315-328. doi: 10.1016/j.plaphy.2019.11.027.
- El-KassabyYA, Wang Q, Wang T, Ratcliffe B, Bi QX, Wang Z, Mao JF, Guan W. Concept for gene conservation strategy for the endangered Chinese yellowhorn, *Xanthoceras sorbifolium*, based on simulation of pairwise kinship coefficients. *Forest Ecology and Management*. 2019; 432: 976-982. doi: 10.1016/j.foreco.2018.10.045
- Espeland EK, Rice KJ. Ecological effects on estimates of effective population size in an annual plant. *Biological conservation*. 2010; 143(4): 946–951. doi: 10.1016/j.biocon.2010.01.003
- Evstigneev OI, Korotkov VN. Ontogenetic stages of trees: an overview. *Russian Journal of ecosystems ecology*. 2016; 2(2): 1-31. doi: 10.21685/2500-0578-2016-2-1
- Fan ZX, Li SC, Sun, HL. Paclobutrazol Modulates Physiological and Hormonal Changes in *Amorpha fruticosa* under Drought Stress. *Russ J Plant Physiol*. 2020;67(1):122-130. doi:10.1134/S1021443720010069
- Fernandes AC. Propagação vegetativa e estabelecimento in vitro de *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências de Florestas Tropicais) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA/MCTI, Manaus.
- Ferreira L, Chalub D, Muxfeldt R. Ipê-amarelo: *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nichols. Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia, n.5, 2004.
- Freire JM, Azevedo MC, Cunha CF, Silva TF, Resende AS. Fenologia reprodutiva de espécies arbóreas em área fragmentada de Mata Atlântica em Itaboraí, RJ. *Brazilian Journal of Forestry Research*. 2013;33(75):243-252.
- Graudal L, Kjaer ED, Thomsen A, Larsen B. Planning national programmes for conservation of forest genetic resources. Danida Forest Seed Centre. Series of Technical notes 48.

- Gonçalves LO, Pinheiro JB, Zucchi MI, Silva-Mann R. Genetic characterization of the coral tree (*Erythrina velutina* Willd.) in areas of low occurrence. *Revista Ciência Agronômica*. 2014; 45: 290–298. doi: 10.1590/S1806-66902014000200009
- Guo Y, Niu S, El-Kassaby YA, Li W. Transcriptome-wide isolation and expression of NF-Y gene family in male cone development and hormonal treatment of *Pinus tabuliformis*. *Physiologia Plantarum*. 2021; 171: 34-47. doi: 10.1111/ppl.13183
- Hartmann HT, Kester DE, Davies Junior FT, Geneve RL. *Plant propagation: principles and practices*. 8. ed. Boston: Prentice-Hall, 2011.
- Hasan O, Reid JB. Reduction of generation time in *Eucalyptus globulus*. *Plant Growth Regulation*. 1995;17(1):53–60 (1995). <https://doi.org/10.1007/BF00024495>
- He J, Xin P, Ma X, Chu J, Wang G. Gibberellin Metabolism in Flowering Plants: An Update and Perspectives. *Frontiers in Plant Science*. 2020; 11(532):1-6. doi=10.3389/fpls.2020.00532
- Gaspar RGB, Wendling I, Stuepp CA, Angelo AC. Rootstock age and growth habit influence top grafting in *Araucaria angustifolia*. *Cerne*. 2017;23(4):465-471. doi:10.1590/01047760201723042447
- Ghanbari J, Khajoei-Nejad G, Ruth SM, Aghighi, S. The possibility for improvement of flowering, corm properties, bioactive compounds, and antioxidant activity in saffron (*Crocus sativus* L.) by different nutritional regimes. *Industrial Crops and Products*. 2019; 135:301-310. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.04.064.
- Guidugli MC, Accoroni KAG, Mestriner MA, Contel EPB, Martinez CA, Alzate-Marin AL. Genetic characterization of 12 heterologous microsatellite markers for the giant tropical tree *Cariniana legalis* (Lecythidaceae). *Genetics and Molecular Biology*. 2010; 33():131-134. doi: 10.1590/S1415-47572010000100022
- Hayaward MD, Hamilton NRS. Genetic diversity – population structure and conservation. In: Callow JA, Ford-Lloyd BV, Newbury HJ. *Biotechnology and plant genetic research: conservation and use*. Biotechnology in Agriculture Series, Cab internacional, v.19, 1997.
- Kati V, Devillers P, Dufrene M, Legakis A, Vokou D, Lebrun P. Hotspots, complementarity or representativeness? Designing optimal small-scale reserves for biodiversity conservation. *Biological Conservation*. 2004; 120(4):471-480. doi: 10.1016/j.biocon.2004.03.020

- Kishore K, Singh HS, Kurian RM. Paclobutrazol use in perennial fruit crops and its residual effects: A review. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 2015; 85(7): 863-72.
- Kosera C. Reproductive and vegetative behavior of hybrid jaboticaba tree under flowering induction. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 2018; 48(2): 118-125. doi:10.1590/1983-40632018v4851911.
- Kroll B, Nalvarte W, Marmillod D. *Arboles del Peru (especies forestales de Dantas)*. Universidad Agraria La Molina - COTESUL- Organizacion Suiza para el Desarrollo y la Cooperacion. Lima 100, Peru.
- Leroy G, Carroll EL, Bruford MW, DeWoody JA, Strand A, Waits L, Wang J. Next-generation metrics for monitoring genetic erosion within populations of conservation concern. *Evolutionary Applications*. 2018; 11:1066-1083. doi: 10.1111/eva.12564
- Lima HC. *Dalbergia* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22915>>. Acesso em 19 março 2020.
- Lohmann LG. *Bignoniaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB117466>>. Acesso em 19 março 2020.
- Lorenzi H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Plantarum, 2009.
- Lu J, Sun J, Jiang A, Bai M, Fan C, Liu J, Ning G, Wang C. Alternate expression of *CONSTANS-LIKE 4* in short days and *CONSTANS* in long days facilitates day-neutral response in *Rosa chinensis*. *Journal of Experimental Botany*. 2020; 71(14): 4057-4068. doi:10.1093/jxb/eraa161
- Lubke L, Corrêa BJS, Filippi M. Fenofases vegetativas e reprodutivas de *Trema micrantha* (L.) Blume no sudoeste do estado do Paraná. *Ciência Florestal*. 2021;31(2):863-879. doi: 10.5902/1980509831766
- Martins AN, Suguino E, Gazola E, Gonçalves PS, Scaloppi Júnior EJ, Silva JQ. Development of clonal rubber tree rootstocks (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) in a suspended nursery. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*. 2020;3(3):877-883. doi: 10.34188/bjaerv3n3-007

- Matar S, Kumar A, Holtgräwe D, Weisshaar B, Melzer S. The transition to flowering in winter rapeseed during vernalization. *Plant Cell Environment*. 2021; 44(2):506-518. doi: 10.1111/pce.13946
- Matos FJA. *Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil*. 2. ed. Fortaleza: UFC, 2000.
- Mendes G, Santos G, Resende M, Martins S, Souza G, Nunes A, Martins T. Flowering acceleration in native Brazilian tree species for genetic conservation and breeding. *Annals of Forest Research*. 2020;63(1):39-52. doi: 10.15287/afr.2019.1751.
- Mendes GGC, Santos GA, Xavier A, Martins SV, Souza GA, Martins TGV, Reis Neto RF. Grafting efficiency in Brazilian native tree species. *Scientia Forestalis*. 2021; 49(132): e3687. doi: 10.18671/scifor.v49n132.04
- Menegusso FJ, Villa F, Eberling T, Silva LS, Ritter G, Silva DF. Desenvolvimento vegetativo e florescimento de um híbrido de *Encyclia* baseado na fertilização e no substrato. *Ornamental Horticulture*. 2021;27(03):391-397. doi: 10.1590/2447-536X.v27i3.2233.
- Menezes NS. Fatores que afetam a expressão sexual em plantas de pepino. *Ciência Rural*. 1994;24(1):209-215. doi:10.1590/S0103-84781994000100042
- Miranda SEM. Avaliação do lapachol radiomarcado com tecnécio-99m como marcador tumoral e desenvolvimento e caracterização de nanoemulsão contendo lapachol. 2018. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas e Toxicológicas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte.
- Miranda FR, Drumond LCD, Ronchi CP. Synchronizing coffee blossoming and fruit ripening in irrigated crops of the Brazilian Cerrado Mineiro Region. *Australian Journal of Crop Science*. 2020;14(4):605–613. doi:10.3316/informit.261830530746678
- Mog B, Janani P, Nayak MG, Adiga JD, Meena R. Manipulation of vegetative growth and improvement of yield potential of cashew (*Anacardium occidentale* L.) by paclobutrazol. *Scientia Horticulturae*. 2019;257(1):108748. doi: 10.1016/j.scienta.2019.108748
- Moncur MW, Rasmussen GF, Hasan O. Effect of paclobutrazol on flower-bud production in *Eucalyptus nitens* espalier seed orchards. *Canadian Journal of Forest Research*. 1994;24(1): 46-49. doi: 10.1139/x94-007

- Moritz C, Faith DP. Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. *Molecular Ecology*. 1998; 7(4): 419-429. doi: 10.1046/j.1365-294x.1998.00317.x
- Muengkaew R, Chaiprasart P. Effect of paclobutrazol soil drenching on flowering of 'Mahachanok' cultivar. *Acta Hortic*. 2016;1111(1):323-328. doi: 10.17660/Acta Hortic.2016.1111.46
- Neves SPS, Conceição AA. Recently burnt 'campo rupestre' in the Chapada Diamantina, Bahia, Brazil: resprouters and seeders, with endemic rock species. *Acta Botanica Brasilica*. 2010; 24(3): 697-707. doi: 10.1590/S0102-33062010000300013
- Oliveira GP. Use of paclobutrazol in mango production. *Research, Society and Development*. 2020; 9(7): e939975183. doi: 10.33448/rsd-v9i7.5183
- Olmstead RG, Grose SO. Taxonomic revisions in the polyphyletic genus *Tabebuia* s. 1. (Bignoniaceae). *Systematic Botany*. 2007; 32(3): 660-670. doi: 10.1600/036364407782250652
- Pereira AC, Scaloppi JEJ, Costa E, Martins GLM, Souza NC. Efeito da poda apical nos atributos morfofisiológicos do porta-enxerto clonal de seringueira GT1. *Ciência Florestal*. 2019;29(2):900-912. doi: 10.5902/1980509824542.
- Peruzzolo MC, Cruz BCF, Ronqui L. Polinização e produtividade do café no Brasil. *Pubvet*. 2019;13(4):1-6. doi: 10.31533/pubvet.v13n4a317.1-6 PUBVET
- Pinheiro E, Libonati VF, Castro C, Pinheiro FSV. Enxertia de copa na formação de seringais de cultivo nos trópicos úmidos da Amazônia. In: Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. Enxertia de copa em seringueira. Manaus: EMBRAPA 1989.
- Prabpree A, Sangsil P, NualsriC, Nakkonong K. Expression profile of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and phenolic content during early stages of graft development in bud grafted *Hevea brasiliensis*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2018;14(1):88-95. doi: 10.1016/j.bcab.2018.02.010.
- Rêgo GM, Possamai E. Jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra* Vellozo) Leguminosae-Papilionoidae: produção de mudas. Comunicado Técnico Embrapa, n. 106, p. 1-3, 2003.
- Ribeiro GD, Costa JNM, Vieira AH, Santos MRA. Enxertia em fruteiras. *Recomendações técnicas Embrapa*, 2005.

- Ribeiro M, Smith NP, Catenacci FS, Cabello NB. Lecythidaceae in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB8541>>. Acesso em: 04 mar. 2021.
- Rizzini CT. Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira. São Paulo: Editora da USP, 1972.
- Rocha MGB, Rocha D, Clemente VM, Freitas MV, Gomes R, Jesus SV, Chaves RM, Torres GA, Xavier A. Propagação vegetativa de espécies arbóreas nativas. In: Rocha MGB. Melhoramento de espécies arbóreas nativas. Belo Horizonte: Instituto Estadual de Florestas, 2002.
- Ribeiro RV, Machado EC, Brunini O. Ocorrência de condições ambientais para a indução do florescimento de laranjeiras no Estado de São Paulo. Revista Brasileira de Fruticultura. 2006;28(2):247-253. doi: 10.1590/S0100-29452006000200021.
- Ribeiro AFF, Matsumoto SN, Ramos PAS, Santos JLD, Teixeira EC, D'Arêde LO, Viana AESV. Paclobutrazol and water restriction on the growth and development of coffee plants. Coffee Science. 2017; 12:534-543.
- Rocha KB, Rocha JHT, Gonçalves AN. Grafting methods for production of rubber tree seedlings in suspended nursery. Scientia Forestalis. 2018;46(120):646-656. doi: 10.18671/scifor.v46n120.13
- Santin D, Wendling I, Benedetti EL, Morandi D. Enxertia seriada de erva-mate em viveiro e campo. Pesquisa Florestal Brasileira. 2015; 35(84): 409–418. doi: 10.4336/2015.pfb.35.84.903.
- Schaller GE, Bishopp A, Kieber JJ. The Yin-Yang of Hormones: Cytokinin and Auxin Interactions in Plant Development, The Plant Cell. 2015;27(1):44-63, doi: 10.1105/tpc.114.133595
- Sebbenn AM. Tamanho amostral para conservação ex situ de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. Revista do Instituto Florestal. 2003; 15(2): 147-162.
- Sidhu V, Bernier-English V, Lamontagne-Drolet M, Gravel V. Effect of light quality and extended photoperiod on flower bud induction during transplant production of day-neutral strawberry cultivars. Canadian Journal of Plant Science. 2021; doi: 10.1139/CJPS-2021-0081

- Singhal RK, Jatav HS, Aftab T, Pandey S, Mishra UN, Chauhan J, Chand S, Indu, Saha D, Dadarwal BK, Chandra K, Khan MA, Rajput VD, Minkina T, Narayana ES, Sharma MK, Ahmed S. Roles of nitric oxide in conferring multiple abiotic stress tolerance in plants and crosstalk with other plant growth regulators. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2021; 40, 2303–2328. doi :10.1007/s00344-021-10446-8
- Silva CA, Vieira MF, Carvalho-Okano RM, Oliveira LO. Reproductive success and genetic diversity of *Psychotria hastisepala* (Rubiaceae), in fragmented Atlantic forest, Southeastern Brazil. *Revista de Biologia Tropical*. 2014; 62(1): 309-319.
- Silva TRG, Costa MLA, Farias LRA, Santos, MA, Rocha JLL, Silva, JV. 2021. Abiotic factors in plant growth and flowering. *Pesquisa, sociedade e desenvolvimento*. 2021a;10(4): e19710 413817. doi: 10.33448/rsd-v10i4.13817.
- Silva KB, Reiniger LRS, Serrote CML, Rabaiolli SMS, Stefenon VM, Costa LS, Ziegler ACF. Variabilidade Genética de Fragmentos Naturais de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. no Bioma Mata Atlântica. *Biodiversidade Brasileira*. 2021;11(4): 4-11. doi: 10.37002/biobrasil.v11i4.1837
- Simões IM, Lopes JC, Schmildt ER, Ferreira A, Baptista JO, Araujo CP, Rosa TLM, Amaral GC, Alexandre RS. Grafting between species of the genus *Handroanthus* for the production of multi-colored flower canopies. *Scientia Forestalis*. 2021; 49(132): e3701. doi: 10.18671/scifor.v49n132.07
- Soumya PR, Kumar P, Pal M. Paclobutrazol: a novel plant growth regulator and multi-stress ameliorant. *Indian Journal of Plant Physiology*. 2017;22(1):267–278. doi: 10.1007/s40502-017-0316-x
- Souza AGC; Resende MDV, Silva SEL, Sousa NR. The cupuaçu genetic improvement program at Embrapa Amazônia Ocidental. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 2002;2(3):471-478. doi: 10.12702/1984-7033.v02n03a19.
- Souza MA, Mesquita AC, Simoes WL, Ferreira KM, Araújo EFJ. Physiological and biochemical characterization of mango tree with paclobutrazol application via irrigation. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 2016;46(4):442-449. doi:10.1590/1983-40632 016v4642829
- Souza IM, Funch LS. Synchronization of leafing and reproductive phenological events in *Hymenaea* L. species (Leguminosae, Caesalpinioideae): the role of photoperiod as the trigger. *Revista Brasileira de Botânica*. 2017. 40(1): 125-136. 10.1007/s40415-016-0314-7

- Sudsiri CJ, Jumpa N, Ritchie RJ. Stimulation of propagation of para-rubber tree grafts using electromagnetic field irradiation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2022;40(1):102300. doi:10.1016/j.bcab.2022.102300.
- Taylor NJ Light ME, Staden JV. In vitro flowering of *Kniphofia leucocephala*: influence of cytokinins. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2005; 83:327-333. doi:10.1007/s11240-005-8429-8
- Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6^a ed. Porto Alegre: Artmed, 719p. 2017.
- Tesfahun W. A review on: Response of crops to paclobutrazol application. *Cogent Food & Agriculture*. 2018;4(1):1-9. doi: 10.1080/23311932.2018.1525169
- Torres GAL, Campos NS, Salomon MV, Pantano AP, Almeida JAS. *Coffea arabica* L: History, phenology and climatic aptitude of the state of São Paulo, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*. 2021;88:e00602020. Doi:10.1590/1808-1657000602020.
- Upreti KK, Shivu Prasad SR, Reddy YTN, Rajeshwara AN. Paclobutrazol induced changes in carbohydrates and some associated enzymes during floral initiation in mango (*Mangifera indica* L.) cv. Totapuri. *Ind J Plant Physiol*. 2014;19: 317-323. doi:10.1007/s40502-014-0113-8
- Vasconcelos MF, Lopes LE, Machado CG, Rodrigues M. As aves dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço: diversidade, endemismo e conservação. *Megadiversidade*. 2008; 4(1-2): 197-217, 2008.
- Verdolin LG, Mariz BL, Dias LLC. Gibberellin and polyamines effects in growth and flowering of New Guinea impatiens. *Ornamental Horticulture*. 2021;27(2):247-254. doi:10.1590/2447-536X.v27i2.2255
- Wada K, Shinozaki Y. Flowering Response in Relation to C and N Contents of *Pharbitis nil* Plants Cultured in Nitrogen-Poor Media. *Plant and Cell Physiology*. 1985;26(3):525-535. doi.10.1093/oxfordjournals.pcp.a076936
- Wang Y. Potassium Nutrition Affects *Phalaenopsis* Growth and Flowering, *Horticultural Science*. 2007;42(7):1563-1567. doi: 10.21273/HORTSCI.42.7.1563
- Ward M, Saura S, Williams B, Ramírez-Delgado JP, Arafeh-Dalmau N, Allan JR, Venter O, Dubois G, Watson JEM. Just ten percent of the global terrestrial protected area network is structurally connected via intact land. *Nature Communications*. 2020; 11: 4563. Doi: 10.1038/s41467-020-18457-x

- Wendling I, Stuepp CA, Zuffellato-Ribas KC. *Araucaria angustifolia* grafting: techniques, environments and origin of propagation material. *Bosque*. 2016; 37(2): 285-293. doi: 10.4067/S0717-92002016000200007.
- Wendling I, Zanette F, Rickli-Horsti HC; Constantino V. Produção de mudas de araucária por enxertia. In: Wendling, I.; Zanette, F. (Ed.). *Araucária: particularidades, propagação e manejo de plantios*. Brasília: Embrapa, 2017b.
- Willi Y, Van Buskirk J, Schmid B, Fischer M. Genetic isolation of fragmented populations is exacerbated by drift and selection. *Journal of evolutionary biology*. 2007; 20:534-542. doi: 10.1111/j.1420-9101.2006.01263.x.
- Würz DA, Pereira de Bem B, Allebrandt R, Marcon Filho JL, Rufato L, Kretschmar AA. Reguladores de crescimento na fertilidade de gemas e maturação da cultivar 'Nebbiolo' em região de elevada altitude de Santa Catarina. *Scientia Agraria Paranaensis*. 2018;17(1):90-95.
- Yooyongwech, S., Samphumphuang, T., Tisarum, R., Theerawitaya, C., and Cha-um, S., Water-deficit tolerance in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] by foliar application of paclobutrazol: role of soluble sugar and free proline, *Front. Plant Sci.*, 2017, vol. 8, p. 1400.
- Yuan S, Li Z, Yuan N, Hu Q, Zhou M, Zhao J, Li D, Luo H. MiR396 is involved in plant response to vernalization and flower development in *Agrostis stolonifera*. *Horticulture Research*. 2020; 7(173):1-14. doi: 10.1038/s41438-020-00394-x
- Xavier A, Wendling I, Silva RL. *Silvicultura clonal - princípios e técnicas*. Viçosa: Editora UFV, 2013.

SEÇÃO 3
CAPÍTULOS

CAPÍTULO 1

RESGATE DE DNA DE ÁRVORES NATIVAS AFETADAS PELO ROMPIMENTO DA BARRAGEM CÓRREGO DO FEIJÃO EM BRUMADINHO, MG E SEU DESENVOLVIMENTO EM CAMPO

Resumo

A enxertia é uma técnica bem estabelecida na agricultura, porém, sua aplicação na conservação genética de espécies florestais nativas é algo novo. O rompimento da barragem em Brumadinho/MG provocou grandes perdas para a comunidade vegetal local. Apesar do acidente, diversas árvores permaneceram vivas, mesmo após sofrerem danos severos. O objetivo deste trabalho foi resgatar, por enxertia, árvores com risco de morte, e avaliar o desenvolvimento dessas plantas no campo, com a aplicação de Paclobutrazol (PBZ) em condições de sol e de sombra. O experimento foi conduzido em duas etapas: fase de enxertia e fase de plantio em campo. Na primeira, seguimentos caulinares retirados das árvores matrizes foram enxertados em mudas seminais. O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com três espécies (*Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis*), enxertadas nos meses de agosto e novembro. Noventa dias após a realização das enxertias foram avaliados o percentual de sobrevivência, o número e o crescimento das brotações. Na segunda etapa, mudas enxertadas de *D. nigra* e *H. serratifolius* foram plantadas no local de origem em dois diferentes experimentos. No primeiro, o delineamento foi em blocos casualizados, em esquema fatorial (2x2), com duas espécies e com e sem aplicação de PBZ. No segundo, as espécies não foram consideradas tratamentos. Neste, as mudas enxertadas foram plantadas em pleno sol e em sombra. Oito meses após o plantio foram avaliados o crescimento, número de brotações e a sobrevivência destas plantas. O florescimento foi avaliado em visitas periódicas por um ano. As enxertias realizadas no mês de agosto tiveram maior percentual de sobrevivência, maior número de brotações com maior comprimento e diâmetro. Plantas que receberam o tratamento com PBZ apresentaram maior número de brotos. A espécie *H. serratifolius* floresceu em campo e a porcentagem de florescimento foi maior nas plantas com aplicação de paclobutrazol. O número de brotações no campo foi maior nas plantas de *D. nigra* que *H. serratifolius*. O

crescimento dos brotos não diferiu entre as duas espécies. Para a espécie *D. nigra*, somente o diâmetro das brotações diferiram entre os ambientes. A enxertia possibilitou o resgate de árvores nativas com risco de morte, que retornaram ao local de origem, onde seu desenvolvimento foi potencializado pela aplicação do PBZ, garantindo sua descendência e evitando a erosão genética.

Palavras-chave: Enxertia, época do ano, reguladores de crescimento.

Abstract

Grafting is a well-established technique in agriculture, however, its application in the genetic conservation of native forest species is something new. The rupture of the dam in Brumadinho/MG caused great losses for the local plant community. Despite the accident, several trees remain alive, even after suffering severe damage. The objective of this work was to rescue, by grafting, trees at risk of death, and to evaluate the development of these plants in the field, with the application of Paclobutrazol (PBZ) in sunlight and shade conditions. The experiment was conducted in two stages: the grafting phase and the field planting phase. In the first, stem segments taken from the mother trees were grafted onto seminal seedlings. The design was completely randomized, in a factorial scheme, with three species (*Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius*, and *Cariniana estrellensis*), grafted in August and November. Ninety days after grafting, the percentage of survival, the number, and the growth of shoots were evaluated. In the second stage, grafted seedlings of *D. nigra* and *H. serratifolius* were planted at the place of origin in two different experiments. In the first, the design was in randomized blocks, in a factorial scheme (2x2), with two species and application of PBZ or not. In the second, the species were not considered treatments. In this one, the grafted seedlings were planted either in full sunlight or shade. Eight months after planting, the growth, number of shoots, and survival of these plants were evaluated. Flowering was evaluated in periodic visits for one year. The grafts carried out in August had a higher percentage of survival and a greater number of shoots with larger lengths and diameters. Plants that received the treatment with PBZ had a higher number of shoots. The species *H. serratifolius* flowered in the field and the flowering percentage was higher in plants with the paclobutrazol application. The number of shoots in the field was higher in *D. nigra* plants than in *H. serratifolius*. Shoot growth did not differ between the two species. For the species *D. nigra*, only the diameter of shoots differed between environments. Grafting made it possible to rescue native trees at risk of death, which returned to their place of origin, where their development was enhanced by the application of PBZ, guaranteeing their offspring and preventing genetic erosion.

Keywords: Grafting, time of year, growth regulators

1. Introdução

A enxertia tem sido usada na agricultura há mais de 2000 anos (Baron et al., 2019). No entanto, a sua aplicação com vistas à conservação genética de espécies nativas é algo novo e pode ser uma grande aliada em programas de melhoramento genético destas plantas (Mendes et al., 2020). Pomares de cruzamentos controlados podem fornecer sementes com alta variabilidade genética destinadas à plantios de recuperação de áreas degradadas (Mendes et al., 2020). Esta técnica possibilita grande redução do tempo para cruzamentos controlados e plantas com menor altura, facilitando o acesso do melhorista à copa das árvores (Xavier et al., 2013).

Na enxertia, duas partes de diferentes plantas são unidas, de maneira que passem a constituir uma única (Oliveira et al., 2008). A incompatibilidade entre enxerto e porta-enxerto é um dos principais fatores que provocam o insucesso da enxertia (Hartmann et al., 2011; Baron et al., 2019). No entanto, outros motivos devem ser considerados, como, patógenos, condições ambientais (temperatura e/ou umidade) e a incapacidade de alinhar os tecidos cambiais de ambas as partes (Martínez Ballesta et al., 2010; Goldschmidt, 2014; Baron et al., 2019). Em alguns casos, a incompatibilidade pode acontecer logo após a enxertia ou dentro de alguns anos, mesmo em condições abióticas consideradas ótimas (Baron et al., 2019). Isto indica que vários mecanismos bioquímicos, moleculares ou anatômicos podem estar envolvidos no processo de reestabelecimento das plantas (Hartmann et al., 2011; Baron et al., 2019).

As vantagens da enxertia em relação às outras formas de propagação vegetativa estão em sua praticidade, baixo custo e eficiência. Esta prática não requer grandes estruturas de viveiro, é de fácil manuseio, o que a torna relativamente barata. Sua eficiência em espécies florestais arbóreas tem sido comprovada em diversos trabalhos realizados no Brasil e no exterior (Baldoni, 2018, Almeida et al., 2020; Simões et al., 2021). No entanto, para algumas espécies vulneráveis e com riscos de extinção poucos avanços têm sido encontrados. As espécies podem responder de diferentes formas à época de realização da enxertia, ocorrendo diferenças até mesmo dentro da mesma estação do ano (Franzon et al., 2008). A temperatura e umidade estão entre os fatores externos que mais podem afetar o pegamento (Oliveira et al., 2008).

Árvores com risco de morte podem ser resgatadas por enxertia e, retornar ao local de origem, onde estão adaptadas, evitando a perda do seu DNA. Embora as plantas produzidas sejam ainda jovens, muitas já possuem a capacidade de gerar flores e frutos, uma vez que a competência para florescer é relativamente estável, e pode ser mantida durante a propagação vegetativa (Simões et al., 2021). Tudo isso demonstra a importância do uso dessas técnicas no resgate, recuperação e reestabelecimento de espécies nativas em risco. Mudas produzidas por enxertia podem ser incluídas em plantios para recuperação de áreas degradadas com a grande vantagem de estarem florescendo/frutificando (Mendes et al., 2020)

Associado à enxertia, alguns reguladores de crescimento são utilizados para antecipar o florescimento de plantas. O Paclobutrazol (PBZ) é um triazol amplamente utilizado na agricultura. Ele atua inibindo a biossíntese de giberelinas (GA), aumentando a concentração de ácido abscísico (ABA) nas plantas. O desbalanço hormonal provocado pela absorção do PBZ pode induzir o florescimento precoce (Desta e Amare, 2021).

O rompimento da barragem Mina Córrego do Feijão, em Brumadinho, Minas Gerais, provocou grandes prejuízos para a comunidade vegetal da região (Carvalho et al., 2017; Aires et al., 2018). Embora o impacto dos rejeitos tenha sido muito forte, algumas árvores permaneceram vivas. Entre as espécies afetadas encontra-se *Handroanthus serratifolius*, *Dalbergia nigra* e *Cariniana estrellensis*. A enxertia associada à indução do florescimento, pode ser uma boa alternativa para resgatar estes indivíduos e acelerar seu florescimento. Esta estratégia evitaria a erosão genética, uma vez que possibilita que as mudas clonadas retornem ao local de origem e produzam descendentes antes da sua morte.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de resgatar vegetativamente o DNA, por enxertia, de árvores nativas afetadas pelo rompimento da barragem de Brumadinho/MG em duas diferentes épocas do ano, e, posteriormente avaliar seu crescimento e florescimento em campo, com e sem aplicação de PBZ.

2. Material e métodos

2.1 Seleção das espécies

As árvores do estudo foram selecionadas na cidade de Brumadinho, Minas Gerais, em um ecótono da Mata Atlântica e Cerrado onde as formações vegetais variam principalmente entre Floresta Estacional Semidecidual, Cerrado e Campo Rupestre. O clima é quente e temperado, com precipitação e temperatura média 1267 mm e 20.8 °C respectivamente (IBGE, 2004).

A seleção das espécies foi baseada em características ecológicas como endemismo, risco de extinção ou tamanho da população nas áreas de estudo. O principal critério utilizado na escolha dos indivíduos, foi o risco iminente de morte. Todas as árvores foram afetadas pela lama ou serão suprimidas para realização de obras no local (Figura 1).

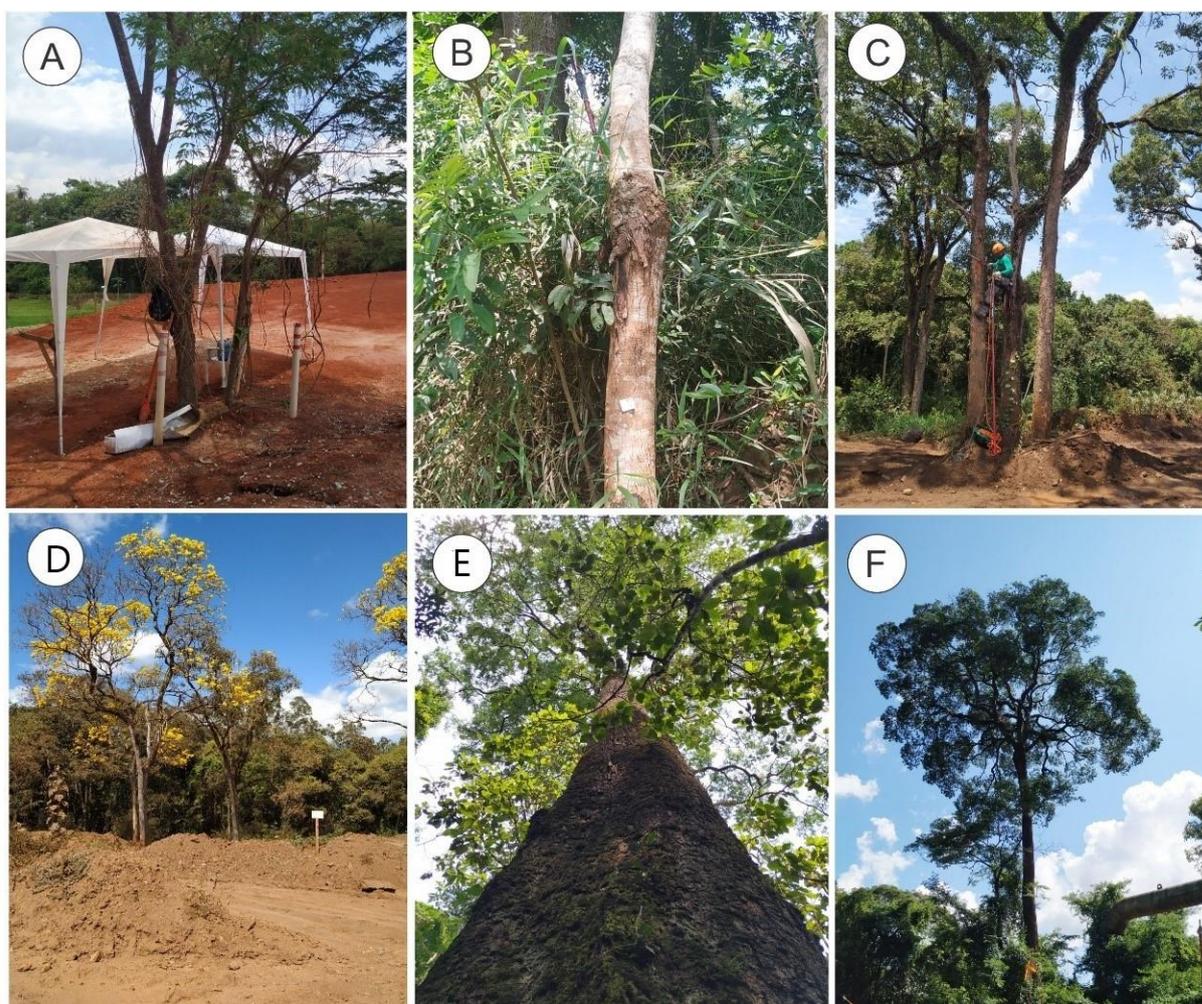


Figura 1: Árvores localizadas na região estudada (Brumadinho/MG, Brasil) apresentando risco de morte. A e B) Árvores de *Dalbergia nigra* com os troncos danificados pela lama e com risco de supressão. C e D) *Handroanthus serratifolius* com tronco danificado e em área com risco de supressão E e F) *Cariniana estrellensis* localizada em área adjacente à barragem Córrego do Feijão, cuja vegetação poderá ser suprimida.

2.2 Coleta de material e enxertia

Todas as árvores selecionadas estavam na fase adulta. Segmentos caulinares contendo pelo menos três gemas laterais e medindo entre 15 e 20 cm foram retirados de duas matrizes de cada espécie (Figura 2). Estes propágulos foram, posteriormente, umedecidos e envolvidos em papel toalha e papel alumínio. Este material foi acondicionado em caixa térmica contendo gelo para manter a turgescência, reduzir a atividade metabólica e a respiração das estacas durante o transporte até o viveiro de pesquisas do Departamento de Engenharia Florestal (DEF) onde foram realizadas as enxertias com um prazo máximo de 2 dias (Figura 3).

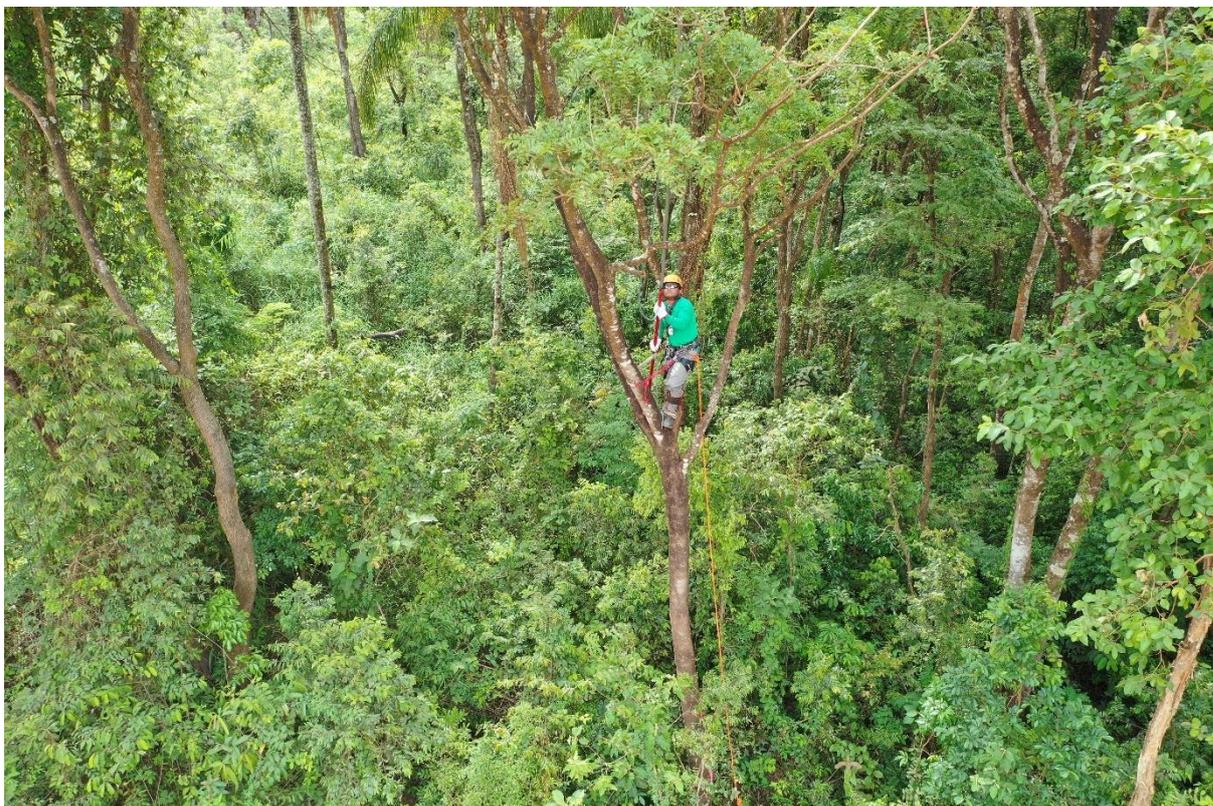


Figura 2: Coleta de propágulos (segmentos caulinares) da copa de árvores adultas selecionadas.



Figura 3: Procedimento para coleta de material no campo para enxertia. A) Segmentos caulinares coletados, B) umedecidos e envolvidos em papel toalha, C) posteriormente envolvidos em papel alumínio. D) Propágulos armazenados em caixa térmica para manutenção da turgescência durante o transporte até o local da enxertia.

Os segmentos caulinares foram enxertados em mudas das mesmas espécies propagadas por sementes, obtidas em viveiros da região de Viçosa/MG. A técnica de enxertia empregada foi a de garfagem em fenda cheia que consiste em decepar o

porta-enxerto a uma certa altura do coleto, e neste efetuar uma fenda para o encaixe do enxerto. Nesta técnica o propágulo é cortado em forma de cunha para que haja um encaixe perfeito (Figura 4).

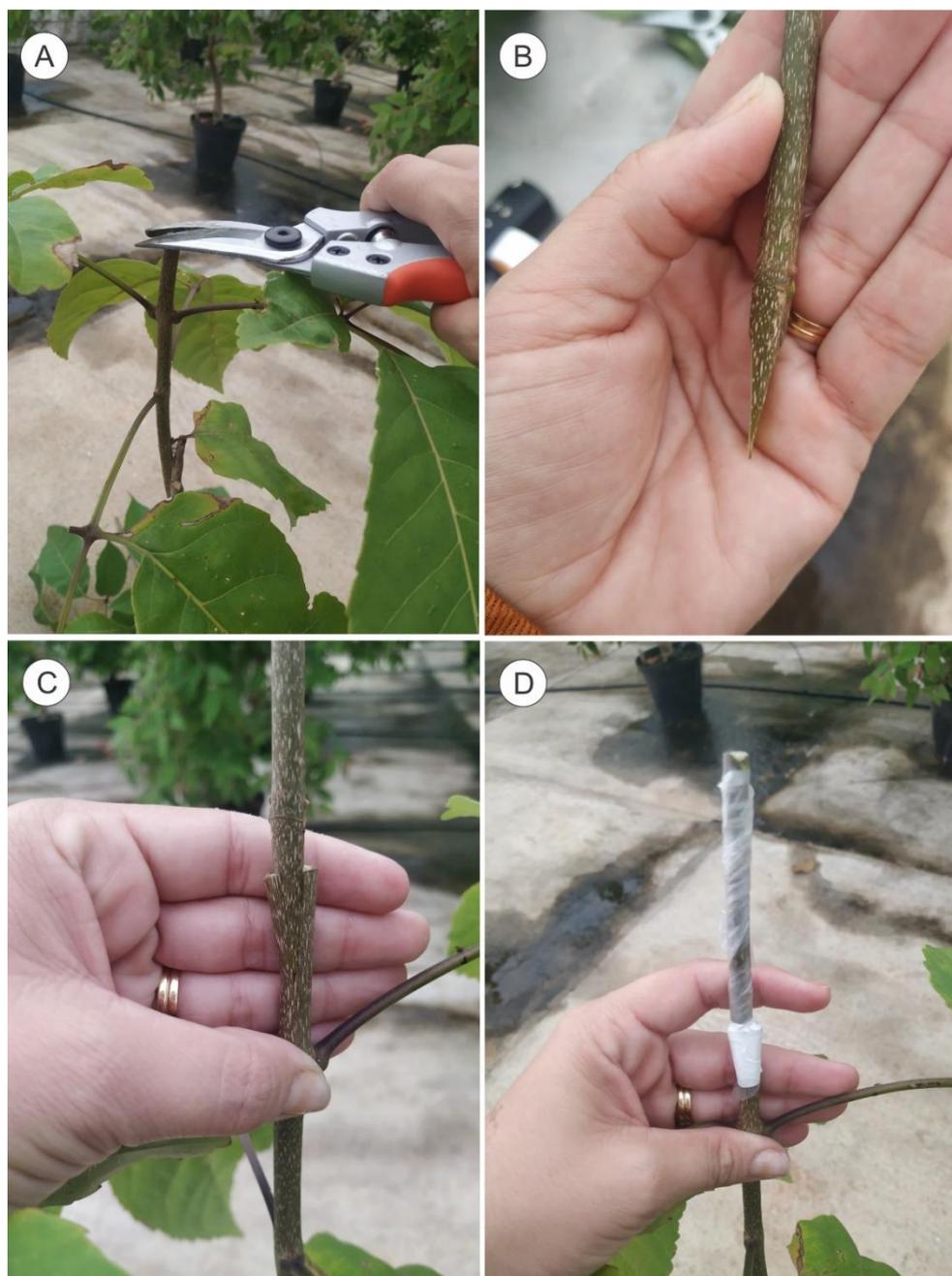


Figura 4: Procedimento de enxertia por garfagem em fenda utilizado. A) Corte na porção média do caule do porta-enxerto, deixando folhas. B) União entre o enxerto e a fenda longitudinal (2,0 cm) no porta-enxerto. C) união entre o enxerto e o porta-enxerto. D) Planta enxertada após a aplicação do parafilm e fita veda-rosca.

Após a união entre as partes, todo o enxerto foi envolvido com um parafilm, para evitar a perda de umidade. Posteriormente, uma fita veda-rosca foi utilizada

somente no local da junção, a fim de isolar e pressionar união do local, evitando a entrada de ar (Figura 4).

Todos os porta-enxertos foram colocados em vasos de 10 litros contendo substrato adubado com osmocote (15-09-12) e superfosfato simples, nas doses de 150 g e 300 g, respectivamente, para cada 25 kg de substrato.

O experimento foi instalado no pomar *in door* do viveiro de pesquisas do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa (UFV). O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x2), sendo três espécies (*D. nigra*, *H. serratifolius* e *C. estrellensis*), com enxertias realizadas em duas épocas do ano (agosto e novembro). Foram instaladas 10 repetições com 6 plantas em cada repetição.

As avaliações foram realizadas 90 dias após a realização das enxertias. A porcentagem de sobrevivência foi avaliada pela contagem do número de enxertos vivos (com brotações), divididos pelo número total de plantas enxertadas em cada tratamento. Todos os brotos com tamanho superior à 10 cm foram contabilizados e seus comprimentos e diâmetros foram mensurados.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R (R Core Team, 2021).

2.3 Plantio em campo

Antes do plantio em campo, metade das mudas foram tratadas com 2 mL de paclobutrazol por planta. Esse regulador de crescimento foi diluído em 250 mL de água e aplicado diretamente no substrato. A fonte comercial de paclobutrazol foi o produto Cultar® 250 SC, com 25% de ingrediente ativo.

Quatro meses após a realização das enxertias, mudas de *D. nigra*, *H. serratifolius* foram plantadas na mesma área em que as matrizes foram resgatadas, utilizando-se espaçamento de 3 x 3 m, com covas de 40 x 40 x 40 cm. Mudas de *C. estrellensis* não foram utilizadas neste experimento, uma vez que não conseguimos produzir um número suficiente de enxertos.

Em cada cova de plantio foram aplicados 100 g de termofosfato Yoorin Master; 90 g de superfosfato triplo; 150 g de NPK 06-30-06 e 2 L de esterco curtido. Na cova de plantio também foi aplicado 10 g de hidrogel hidratado. O adubo orgânico foi bem

misturado ao fertilizante mineral, e posteriormente à terra retirada das covas (Figura 5).



Figura 5: Plantio das mudas enxertadas. A) Preparação das covas, B) aplicação de fertilizantes, C) aplicação de hidrogel e D) muda após o plantio.

O experimento de plantio foi subdividido em dois. O primeiro foi disposto em blocos casualizados, em esquema fatorial (2x2), com duas espécies (*D. nigra* e *H. serratifolius*) com e sem aplicação de PBZ. No segundo, as espécies não foram consideradas tratamentos. Este, foi disposto em blocos casualizados, sendo que os enxertos foram plantados em pleno sol e na sombra. Ou seja, os testes de médias

foram realizados separadamente para cada uma das espécies estudadas. Em ambos experimentos foram realizadas cinco repetições com quatro plantas em cada uma. A distância mínima entre os locais de plantio em pleno sol e na sombra de um mesmo bloco, foi de, pelo menos, 150 m, para evitar possibilidade de autofecundação no futuro (Figura 6).

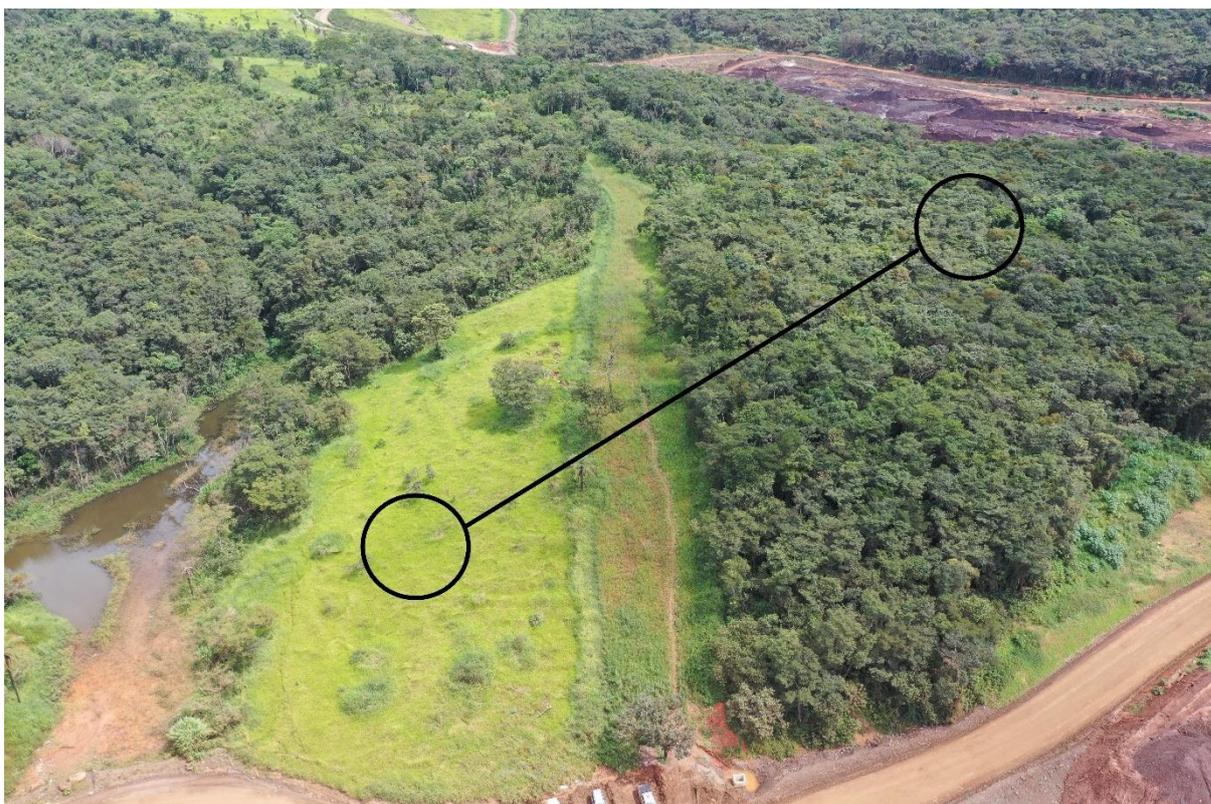


Figura 6: Local onde parte dos plantios foram realizados. As mudas foram plantadas em pleno sol e na sombra (local). Os círculos representam os locais de plantio. A distância entre estas áreas foi de pelo menos 150 m.

Cada planta foi identificada por uma placa acrílica contendo um QR code que, ao ser lido pelo aplicativo QR nativas, abre a página de um site com informações gerais sobre a espécie, o indivíduo (clone), as coordenadas geográficas da planta mãe, tratamento recebido (com ou sem PBZ e se foi plantado em pleno sol ou na sombra) e o local de plantio (Figura 7).

A



C

Nativas P VALE SIF UFV

Vale e UFV
Resgate de DNA e indução de florescimento precoce em espécies nativas
Apoio Pólen Startup Florestal

QR Nativas - Mais informações

Código do indivíduo: vale021

Nome científico: *Cariniana estrellensis*

Nome popular: Jequitibá-rosa

Origem: Brumadinho / MG

Indivíduo: 2

Longitude: -44.11941696

Latitude: -20.11580775

Local de plantio: 1

Método: Enxertia

Data de plantio: 11/03/2021

Informações de tratamentos

Sol / Sombra: Sol

Paciobutrazol (PBZ): Com PBZ

B

Apoio Pólen Startup Florestal

HISTÓRICO DA ESPÉCIE



O Jequitibá-rosa é umas das maiores árvores da mata-atlântica. Sua exuberância, fez com que ganhasse o apelido de o rei da floresta. É uma espécie com grande longevidade, podendo atingir mais de 500 anos. Sua distribuição é bastante ampla, sendo observada desde a região Nordeste até o sul do país. Estudos indicam uma enorme redução na variabilidade genética desta espécie, em função, principalmente, da grande exploração de sua madeira e também pelo intenso desmatamento da Mata Atlântica, seu principal habitat.

HISTÓRICO DESTA INDIVÍDUO

Este é um indivíduo resgatado por enxertia de

COMENTÁRIO + INFO IMAGENS

Pólen ENGENHARIA FLORESTAL

D

Nativas P VALE SIF UFV

Imagens



Realização:

VALE • UFV • SIF • Pólen

INSERIR IMAGEM

Figura 7: (A) Muda plantada e identificada com uma placa acrílica contendo um QR code ao ser lido pelo aplicativo QR nativas, abre uma página contendo informações sobre a espécie (B), sobre a localização da árvore matriz e tratamentos recebidos pela muda (C) e fotos da planta mãe (D).

O monitoramento do florescimento foi realizado a cada 15 dias por um ano. Nesta avaliação foi mensurado o número de plantas com flores e os resultados obtidos

foram transformados em porcentagem. Oito meses após o plantio foram avaliados o comprimento, diâmetro e número de brotações. Para determinação do crescimento, os dados de comprimento e diâmetro foram mensurados também no dia do plantio, ou seja, o comprimento e diâmetro inicial foram subtraídos dos valores finais.

Após o término das avaliações, foi mantida somente uma planta por clone em cada parcela, a fim de evitar a autofecundação.

Os dados de crescimento foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Os dados de florescimento foram submetidos a análise não paramétrica, pelo teste de Kruskal-Wallis. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R (R Core Team, 2021).

3. Resultados

3.1 Enxertias

A porcentagem de sobrevivência das enxertias realizadas no mês de agosto foi superior àquelas realizadas em novembro para as espécies *C. estrellensis* (25% maior) e *D. nigra* (20% maior) com diferença significativa ($P < 0,05$) entre elas. A sobrevivência dos enxertos de *H. serratifolius* não diferiram entre as duas épocas do ano. No mês de agosto a espécie *D. nigra* apresentou o maior percentual de sobrevivência, seguido por *H. serratifolius* e *C. estrellensis*. Em novembro, quando as temperaturas estavam mais altas, as sobrevivências de *D. nigra* e *H. serratifolius* foram superiores à *C. estrellensis* (Figura 8A).

O comprimento das brotações foi superior no mês de agosto que em novembro para *C. estrellensis* (2,02 cm maior) e *D. nigra* (6,8 cm maior), com diferença significativa ($P < 0,05$) entre elas. Por outro lado, não houve diferença no comprimento das brotações em *H. serratifolius*, nas duas épocas do ano. A espécie *D. nigra* apresentou o maior comprimento de brotações comparado às demais espécies, as quais não diferiram entre si (Figura 8B).

Os enxertos realizados no mês de agosto apresentaram brotações com diâmetros superiores aos realizados em novembro para *D. nigra* (1,12 mm maior) e *C. estrellensis* (0,47 mm maior), com diferença significativa entre elas ($P < 0,05$). Não houve diferença no diâmetro das brotações de *H. serratifolius* em relação às épocas

do ano. A espécie *D. nigra* apresentou o maior diâmetro de brotações comparado às demais espécies ($P < 0,05$) (Figura 8C).

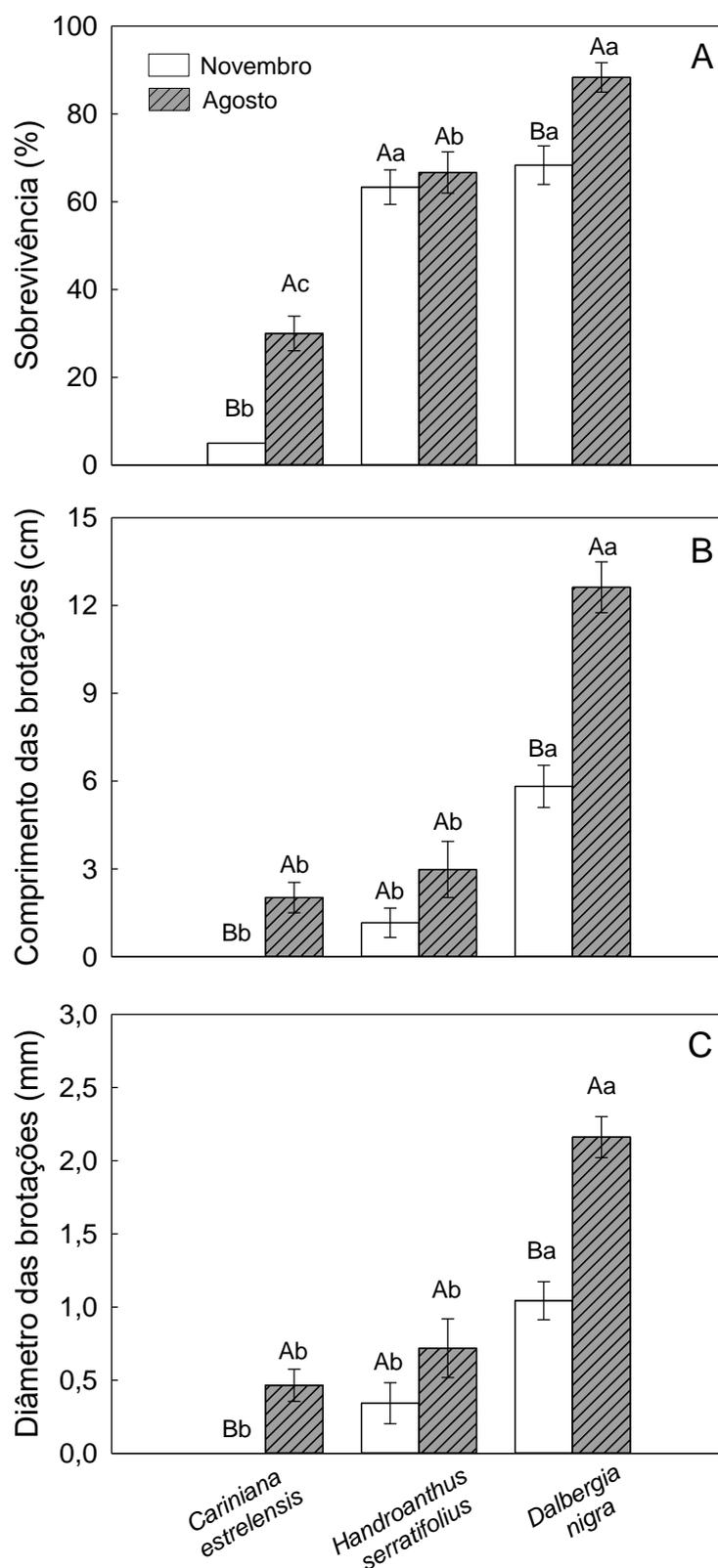


Figura 8: Taxa de sobrevivência e crescimento das brotações de enxertos das espécies *Cariniana estrellensis*, *Handroanthus serratifolius* e *Dalbergia nigra* em duas épocas do ano (meses de agosto e novembro). A) Sobrevivência. B) Comprimento. C)

Diâmetro das brotações. Letras maiúsculas diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre as épocas do ano para a mesma espécie ($P < 0.05$). Letras minúsculas diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre as espécies para a mesma época do ano ($P < 0.05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 10 repetições.

O número médio de brotações por planta com tamanho superior à 10 cm foi maior em agosto (0,60 brotações por planta), que novembro (0,29 brotações por planta) para todas as espécies, com diferença significativa ($P < 0,05$) entre elas (Figura 9A). A espécie *D. nigra* apresentou o maior número de brotações superiores a 10 cm (0,90 brotações por planta), seguida por *H. serratifolius* (0,29 brotações por planta) e *C. estrellensis*, que não diferiram entre si (0,16 brotações por planta) (Figura 9B).

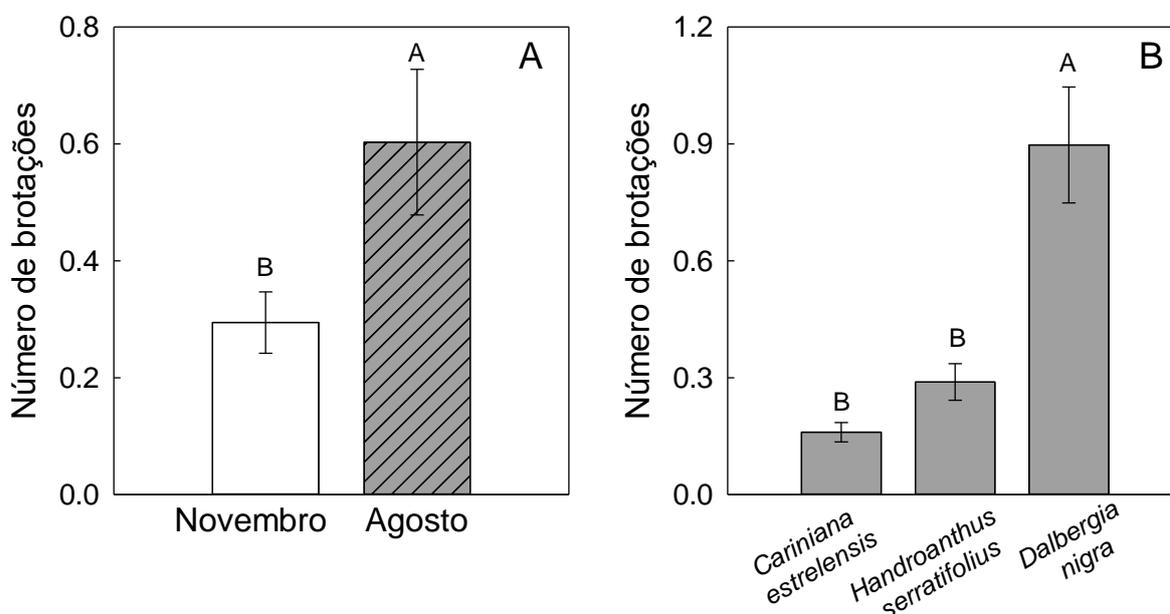


Figura 9: Número de brotações por planta maiores que 10 cm em *Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis* enxertadas em duas épocas do ano (meses de agosto e novembro). Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 10 repetições.

3.2 Plantio em campo

3.2.1 Plantio em campo com e sem paclobutrazol

O número de brotações foi maior nas plantas que receberam o paclobutrazol (2.64 e 1.87 brotos por planta com e sem aplicação de PBZ respectivamente), independente da espécie analisada, com diferença significativa ($P < 0,05$) entre elas

(Figura 10A). A sobrevivência (73 e 83% com e sem PBZ, respectivamente) e o crescimento em comprimento (7,26 e 7,73 cm com e sem PBZ, respectivamente) e diâmetro (1,13 e 1,31 mm com e sem PBZ, respectivamente) não foram influenciados por este regulador de crescimento (Figura 10B, C e D).

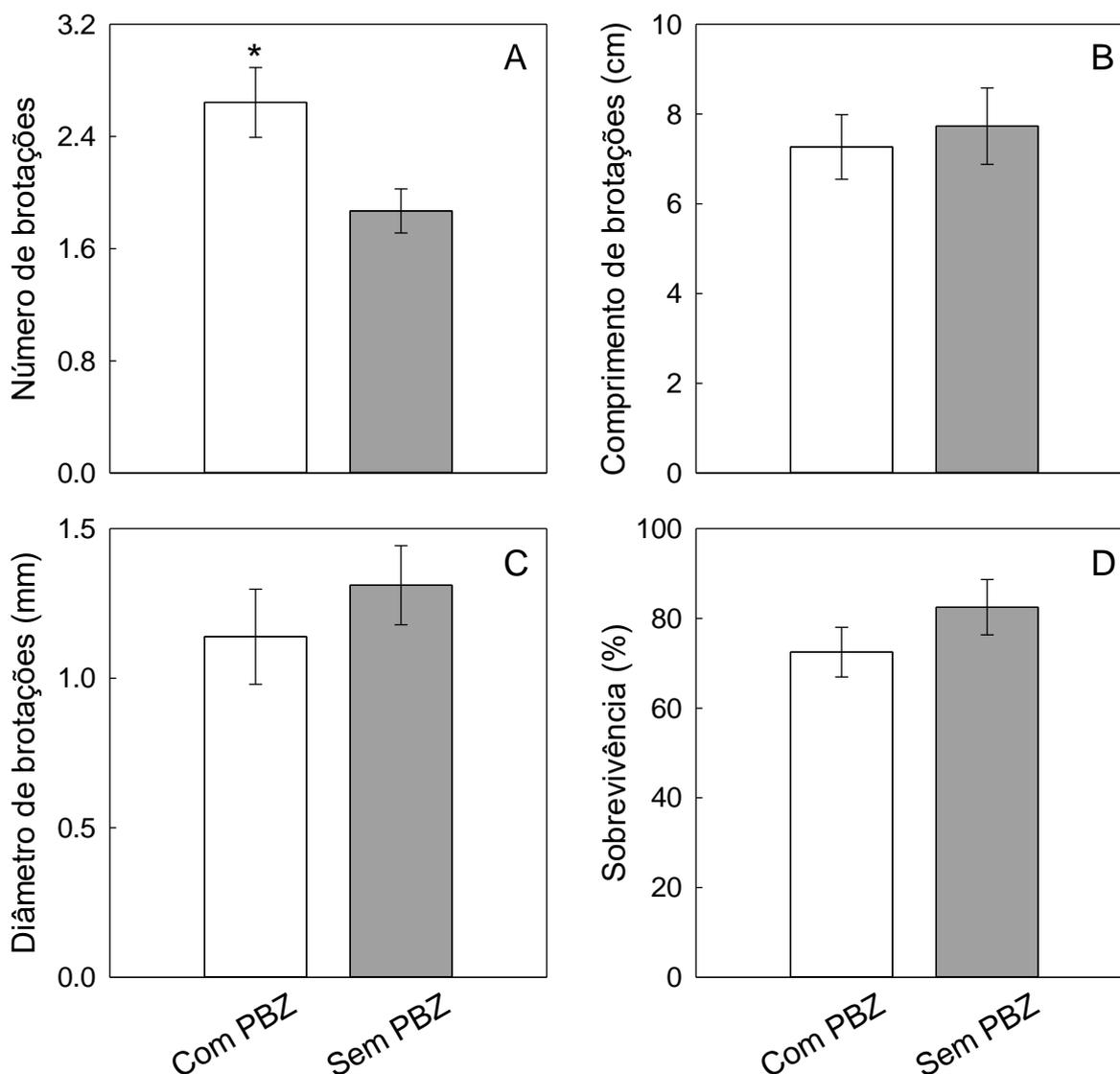


Figura 10: Crescimento em campo dos enxertos com e sem aplicação de paclobutrazol (PBZ). A) Número de brotações por planta. B) Comprimento das brotações. C) Diâmetro das brotações, nos enxertos com e sem aplicação de paclobutrazol. D) Sobrevivência dos enxertos em campo com e sem aplicação de paclobutrazol. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.

O número de brotações por planta foi maior em *D. nigra* (2,86 brotos) que *H. serratifolius* (1,57 brotos) com diferença significativa ($P < 0,05$) entre elas. Contudo, a sobrevivência (80 e 75% para *D. nigra* e *H. serratifolius*, respectivamente) e o

crescimento em comprimento (6,96 e 8,09 cm para *D. nigra* e *H. serratifolius*, respectivamente) e diâmetro (1,17 e 1,3 mm para *D. nigra* e *H. serratifolius* respectivamente) não diferiram entre estas espécies (Figura 11).

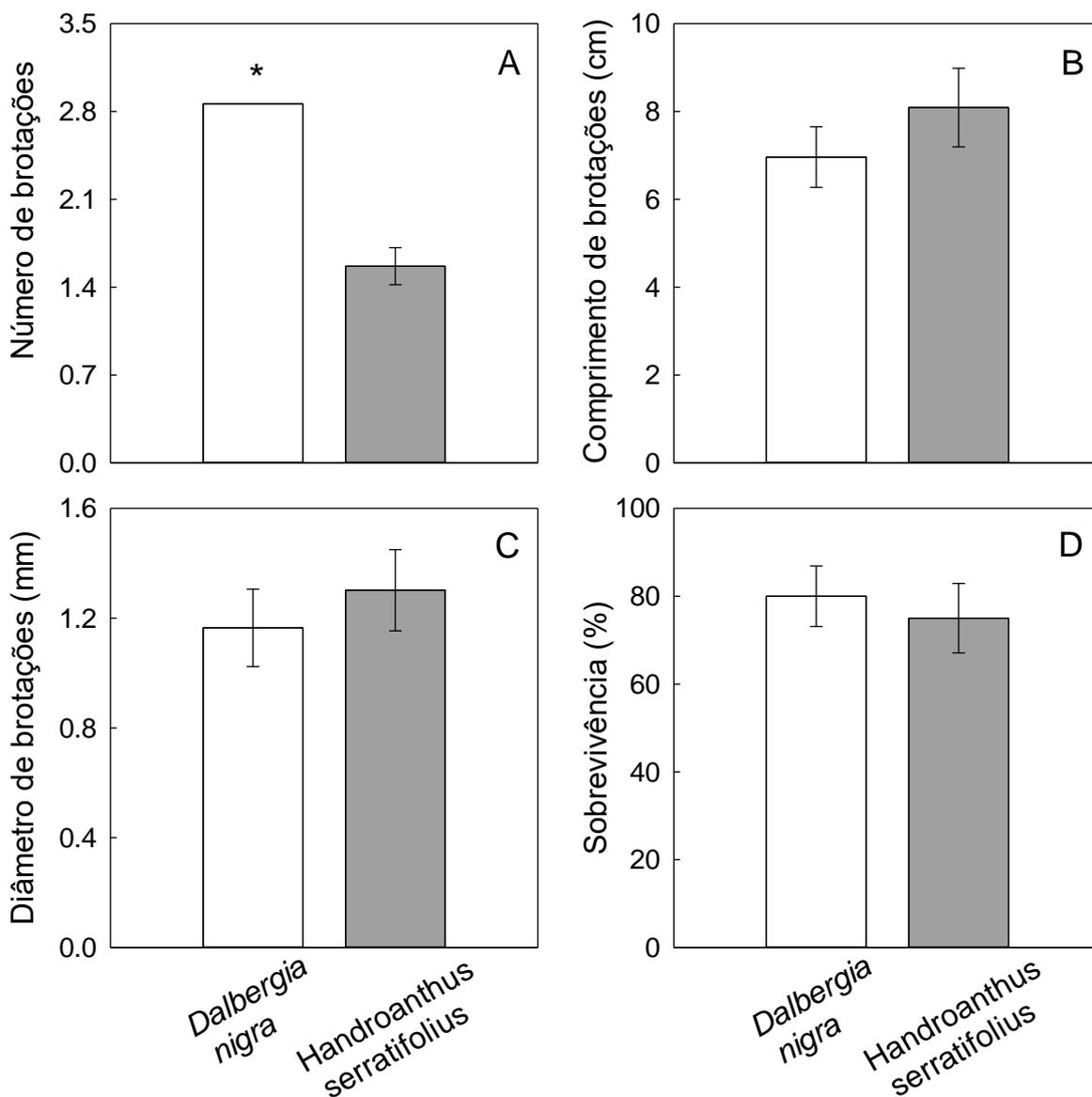


Figura 11: Crescimento em campo das espécies enxertadas de *Dalbergia nigra* e *Handroanthus serratifolius*. A) Número de brotações por planta B) Comprimento das brotações. C) Diâmetro das brotações. D) Sobrevivência dos enxertos em campo. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.

Na avaliação de florescimento, observou-se que *H. serratifolius* floresceu durante o período de avaliações. A porcentagem de florescimento foi maior nas

plantas com aplicação de paclobutrazol (40%) do que naquelas onde este regulador de crescimento não foi aplicado (20%) (Figuras 12 e 13).

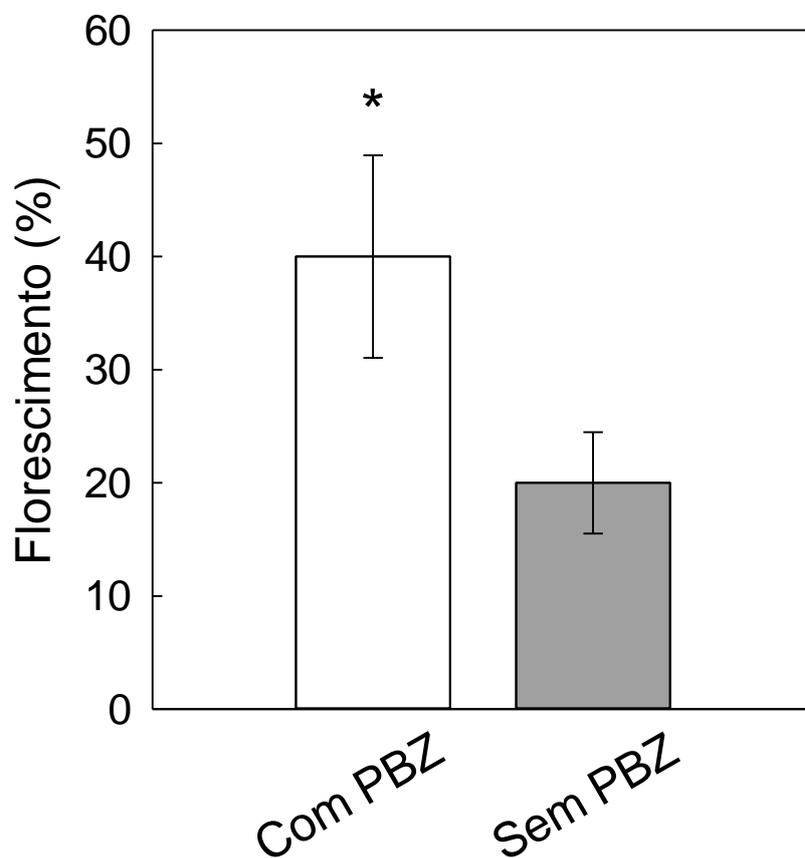


Figura 12: Florescimento de *Handroanthus serratifolius* com e sem a aplicação de paclobutrazol. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.

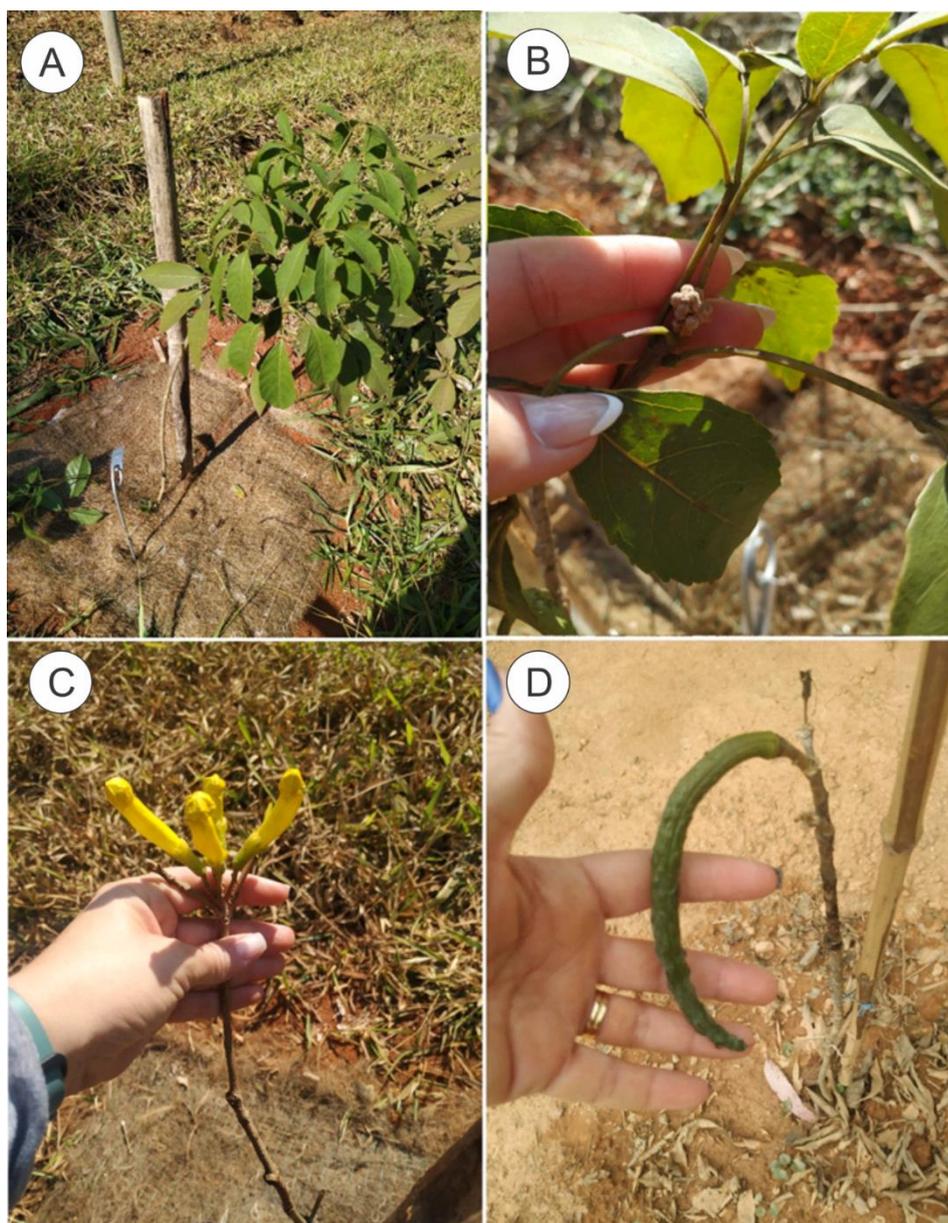


Figura 13: Mudas enxertadas de ipê-amarelo (*Handroanthus serratifolius*) logo após o plantio em campo (A), com gemas apicais modificadas para produção de flores (B), com flores (C) e com frutos (D).

3.2.2 Plantio em pleno sol e sombra

Para a espécie *D. nigra*, a sobrevivência (85 e 75% para plantio em sol e sombra, respectivamente), o número de brotações por planta (3,5 e 2,5 brotos por planta para plantio em sol e sombra, respectivamente) e o comprimento das brotações (9,26 cm e 5,95 cm para plantio em sol e sombra, respectivamente) não diferiram entre os ambientes (Figura 14A, B e C). O diâmetro das brotações desta espécie foi maior no sol (1,39 mm) que na sombra (0,8325 mm) com diferença significativa ($P < 0,05$) entre elas (Figura 14C).

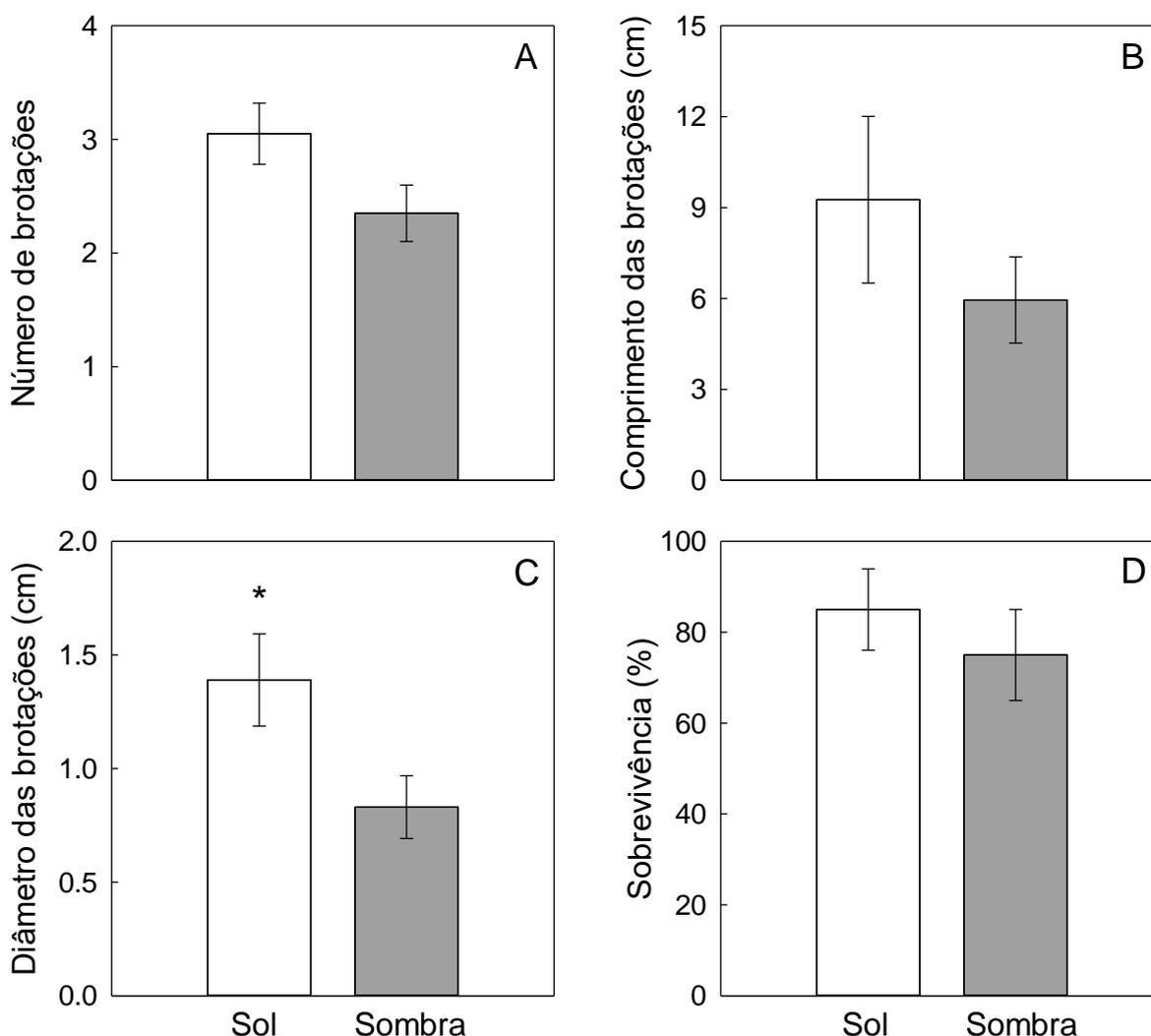


Figura 14: Número de brotações e crescimento (comprimento e diâmetro) em campo de *Dalbergia nigra* em ambiente de pleno sol e sombra. A) Número de brotações por planta B) Comprimento das brotações. C) Diâmetro das brotações. D) sobrevivência. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.

Para a espécie *H. serratifolius* a sobrevivência foi maior no ambiente em pleno sol (90%) que na sombra (60%). O número de brotações por planta (1,45 e 1,50 brotos por planta para os plantios no sol e sombra, respectivamente) e o crescimento em comprimento (8,0 e 7,84 cm para os plantios no sol e sombra, respectivamente) e diâmetro (1,84 e 1,64 mm de diâmetro para os plantios no sol e sombra, respectivamente) das brotações não diferiram entre os ambientes. (Figura 15).

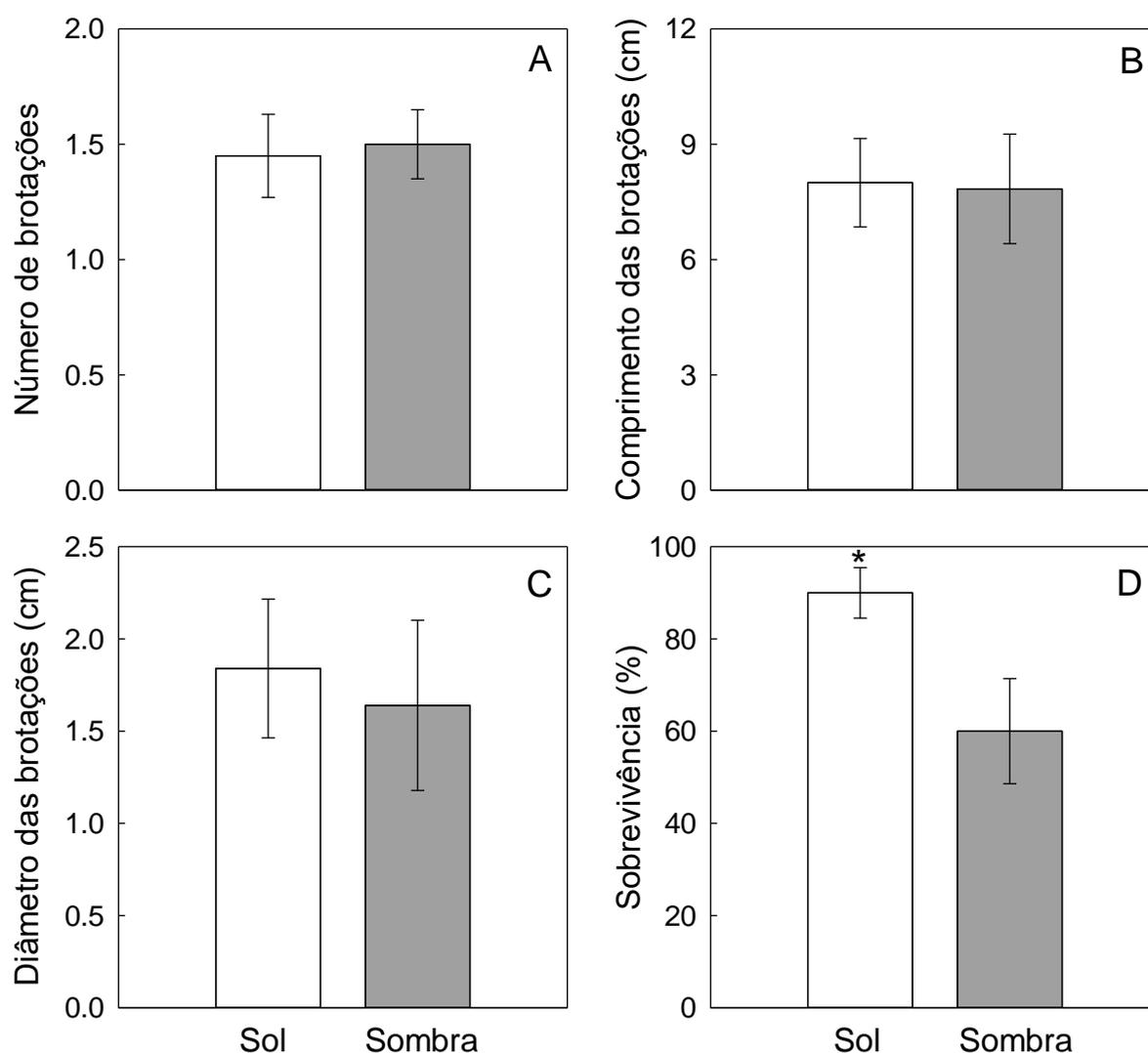


Figura 15: Número de brotações e crescimento (comprimento e diâmetro) em campo de *Handroanthus serratifolius* em ambiente de pleno sol e sombra. A) Número de brotações por planta B) Comprimento das brotações. C) Diâmetro das brotações. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.

O florescimento desta espécie foi maior no sol (50%) que na sombra (10%) com diferença significativa ($P < 0,05$) entre elas (Figura 16).

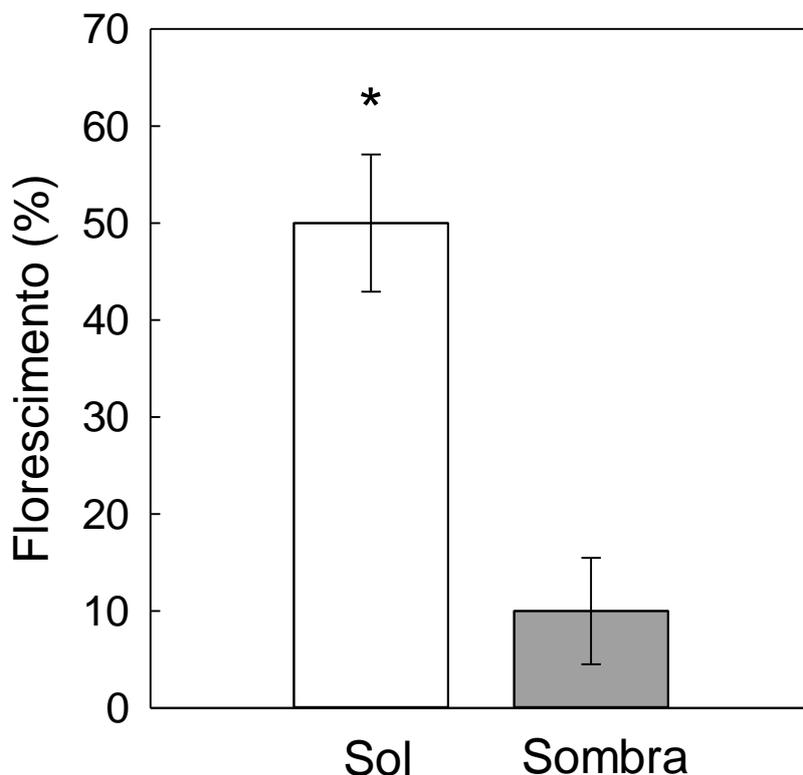


Figura 16: Florescimento de *Handroanthus serratifolius* plantados em diferentes ambientes. Médias seguidas por asterisco diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.

A espécie *D. nigra* não apresentou florescimento em nenhum dos ambientes (pleno sol ou sombra), até a última avaliação de campo realizada nesse trabalho.

4. Discussões

4.1 Enxertias

Por meio da enxertia é possível resgatar árvores com risco de morte das três espécies propostas. Apesar desta técnica ser conhecida há muitos anos, o seu uso para a conservação de espécies arbóreas nativas é recente e pode ser importante no desenvolvimento de programas de melhoramento genético destas plantas (Baron et al., 2019; Mendes et al., 2020). O uso da enxertia combinado com a aplicação de paclobutrazol possibilita a antecipação do florescimento e a criação de pomares para cruzamentos controlados, que poderão fornecer sementes com alta variabilidade genética, destinadas à recuperação de áreas degradadas (Mendes et al., 2020). Esta

técnica pode ser utilizada para o desenvolvimento de bancos de germoplasma que contemplem a variabilidade genética destas espécies em toda área afetada pelo rompimento da barragem ou até de todo estado ou país.

O sucesso da enxertia depende, entre outros fatores, da época do ano em que é realizada (Xavier et al., 2013). O menor percentual de sobrevivência dos enxertos realizados no mês de novembro (primavera), pode ter sido provocado pela ocorrência de temperaturas muito elevadas nos primeiros dias (dados climáticos incluídos nos anexos) após a realização das enxertias. Dias muito quentes podem provocar o ressecamento rápido dos tecidos, causando a morte dos enxertos (Xavier et al., 2013). O mês de agosto é caracterizado por apresentar temperaturas mais amenas, coincidindo com a saída do período de dormência das plantas. Desse modo, o maior percentual de sobrevivência, também pode estar associado a um aumento do metabolismo destas plantas, intensificando a síntese e translocação de fotoassimilados e hormônios vegetais (Mendes et al., 2020; Nanda e Melnyk, 2018). O câmbio vascular, que é o responsável pela ligação entre o enxerto e o porta-enxerto, fica mais ativo nesta época do ano, acelerando a produção de células meristemáticas que, posteriormente, formarão células de tecido vascular (Franzon et al., 2008, Miao et al., 2019). Na região Sul do Brasil, a enxertia por garfagem em espécies frutíferas normalmente é realizada nos meses de julho e agosto, período em que há um maior percentual de sobrevivência (Fachinello et al., 2005; Franzon et al., 2008). Condições ambientais, como temperatura e umidade, influenciam muito a produção do calo na interface do enxerto (Dolgun et al., 2008).

A diferença nos índices de sobrevivência entre as espécies estudadas pode ser explicada pelas diferenças genéticas entre estas plantas. Ao se realizar o corte da enxertia, há uma deposição de calose de lesão nos poros da placa crivada, isolando, de forma bastante eficiente, os elementos crivados danificados do tecido intacto adjacente (Baron et al., 2019; Taiz e Zeiger, 2017; Silva et al., 2005). Quando se realiza a união entre as partes, há uma tendência de dissolução desse polímero de glicose, mediada por enzimas que promovem a sua hidrólise. Caso a vedação seja completa, a conexão se torna muito difícil, provocando a morte do enxerto. Algumas espécies têm este mecanismo de defesa muito eficiente dificultando o pegamento da enxertia (Taiz e Zeiger, 2017). Outra hipótese é a oxidação de compostos fenólicos, que ocorre com maior intensidade em algumas espécies, dificultando a formação do calo e a cicatrização dos tecidos (Franzon et al., 2008, Dolgun et al., 2008). Estes

compostos são sintetizados na interface do enxerto e podem ser utilizados como marcadores químicos para a detecção precoce de incompatibilidade (Miao et al., 2019). A sua presença nos estágios iniciais de crescimento após a enxertia pode bloquear a conexão vascular entre os tecidos do câmbio vascular do porta-enxerto e enxerto (Baron et al., 2019).

A incompatibilidade entre enxerto e porta-enxerto pode dificultar a formação do calo e conseqüentemente a conexão entre os vasos condutores (Nanda e Melnyk, 2018; Baron et al., 2019, Mendes et al., 2020). A falta de conexão impede o fluxo de água, nutrientes e fotoassimilados causando a morte dos enxertos (Nanda e Melnyk, 2018; Baron et al., 2019). Esta incompatibilidade pode ser entendida como falhas na união do enxerto com o porta-enxerto que podem ser provocadas inclusive por questões ambientais (Xavier, et al., 2013). A maior quantidade de brotos por planta observados no mês de agosto pode ser consequência de uma maior conexão, ou compatibilidade entre o enxerto e o porta-enxerto nesta época, promovendo, inclusive, um maior percentual de sobrevivência (Hartmann et al., 2011; Xavier, et al., 2013). Observou-se que muitas plantas apresentaram brotações que iniciaram seu desenvolvimento de forma satisfatória. Porém, o crescimento foi interrompido entre um e dois meses após a enxertia, indicando que pode ter havido incompatibilidade na enxertia.

O comprimento e diâmetro das brotações dos enxertos normalmente estão associados a questões genéticas e ambientais, as quais influenciam na capacidade de crescimento vegetativo do indivíduo (Mendes et al., 2020). Diferenças no comprimento das brotações foram observadas em *Araucaria angustifolia* (Constantino e Zanette, 2018), *Schinus terebinthifolius* (Fernandes et al. 2008; Mendes et al., 2020), *Swietenia macrophylla* e *Jacaranda mimosifolia* (Mendes et al., 2020), por exemplo.

A diferença em relação a quantidade de brotações entre as espécies também está relacionada às diferenças genéticas entre elas. *Handroanthus spp.* e *Cariniana spp.*, normalmente apresentam ramificação dicotômica, isto é, cada ramo desenvolve duas brotações, normalmente no seu ápice, dividindo-o em dois. Já *D. nigra* apresenta, normalmente, ramificação cimosa e irregular, com várias brotações em um mesmo ramo (Carvalho, 2014).

4.2 Plantio em campo

4.2.1 Plantio em campo com e sem paclobutrazol

O maior número de brotações nas plantas que receberam o paclobutrazol pode ser explicado pela maior taxa fotossintética e conseqüentemente, maior capacidade das plantas de produzirem novos brotos. Os reguladores de crescimento afetam o crescimento, o rendimento e a qualidade das culturas (Desta e Amare, 2021). Esta propriedade é mediada por sua capacidade de alterar o equilíbrio de importantes hormônios vegetais, como a giberelina (GA), ácido abscísico (ABA) e citocininas (Hajihashemi 2007; Desta et al., 2021).

O PBZ é absorvido pelas plantas e transportado pelo xilema até as partes em crescimento (Desta e Amare, 2021). Ele inibe a biossíntese de GA porque reduz a atividade de enzimas, presentes no retículo endoplasmático, responsáveis pela oxidação *ent*-caureno, que é um precursor da GA₁₂, a primeira giberelina formada em todas as plantas (Taiz e Zeiger, 2017; Tesfahun e Yildiz, 2018; Rady et al., 2012; Zhu et al., 2004). Outra resposta é o aumento da produção do ácido abscísico e do fitol, componente da clorofila, ambos benéficos para o crescimento e a saúde das árvores. Um dos principais papéis do ABA é promover o fechamento da abertura estomática e diminuir a perda de água das folhas através da transpiração, aumentando a eficiência hídrica das plantas (Desta e Amare, 2021). Plantas tratadas com PBZ sintetizam mais citocinina, que, por sua vez, aumenta a diferenciação do cloroplasto, a biossíntese e prevenção da degradação da clorofila (Fletcher et al., 2000). Estes fatores em conjunto, promovem o aumento da fotossíntese líquida nas plantas tratadas com PBZ (Desta e Amare, 2021).

Ainda que não tenha sido observada diferença significativa na redução da alongação dos tecidos, observou-se que nas plantas nas quais houve aplicação do PBZ, houve menor incremento em diâmetro e comprimento das brotações. Nossa hipótese é a de que o tempo transcorrido entre a aplicação deste regulador de crescimento e as avaliações tenha sido curto, e que em avaliações com intervalos de tempo maiores essa tendência possa ser significativa.

O tratamento com PBZ induz o florescimento precoce porque altera a relação fonte e dreno, sinalizando para a planta que ela pode mudar da fase vegetativa para a reprodutiva (Iglesias et al., 2007; Kuo et al., 2019). O maior acúmulo de fotoassimilados pode sinalizar para a planta que ela pode passar da fase vegetativa para a reprodutiva (Upreti et al., 2014; Muengkaew e Chaiprasart, 2016). A planta

então floresce e frutifica mais cedo, garantindo a sobrevivência da espécie (Mog et al., 2019). Além disso, GA, é um promotor vegetativo (VP) que regula, negativamente, o promotor florigênico (FL) (Nartvaranant et al. 2000). Quando sua síntese é inibida, aumenta a relação FL/VP, estimulando gemas reprodutivas (florescimento), e enfraquecendo gemas vegetativas (Adil et al., 2011).

A aplicação deste regulador de crescimento tem sido eficaz na indução do florescimento em manga (Negi e Sharma et al., 2009), maçã (Zhang et al. 2016) e algumas espécies florestais nativas, como ipê e jacarandá-mimoso (Mendes et al., 2020). Na planta, o PBZ reduz a síntese de GA que, por sua vez, está intimamente relacionada a inibição da floração (Fan et al., 2018).

A sobrevivência dos enxertos no campo não foi afetada pela aplicação do PBZ ou pelas espécies estudadas. Isto indica que a dose utilizada foi eficiente para induzir o florescimento e não provocou toxicidade para as plantas, e que outros fatores (climáticos, edáficos ou biológicos) estão relacionados à morte destas plantas.

Assim como ocorreu no viveiro, em campo, *D. nigra* apresentou um maior número de brotações que *H. serratifolius*, o que se deve a características intrínsecas destas espécies, determinadas por sua constituição genética (Mendes et al., 2020). Conforme já mencionado, *Handroanthus* spp. comumente apresenta ramificação dicotômica e *D. nigra* apresenta ramificação cimosa e irregular, com várias brotações em um mesmo ramo (Carvalho, 2014).

Cabe aqui ressaltar que quando ocorre o florescimento de uma espécie, esse é o momento que as plantas cumprem o seu principal papel na natureza. O pólen e as sementes atraem a entomofauna da região, que, por sua vez, participa do processo de dispersão destas espécies. Com a técnica de resgate de DNA e indução de florescimento precoce, as árvores podem cumprir, com antecipação de muitos anos, esse papel fundamental para alavancar a biodiversidade das áreas em que esse tipo de material é plantado.

No caso de danos ambientais como o do rompimento da barragem do feijão em Brumadinho, essa antecipação de processos biológicos de agregação de flora e fauna da região, são fundamentais para que o ecossistema volte o mais breve possível a uma condição de melhor equilíbrio ambiental, beneficiando todos os moradores da região afetada.

4.2.2 Plantio em pleno sol e sombra

A sobrevivência e o crescimento em comprimento e o número de brotações de *D. nigra* não diferiram entre os ambientes de pleno sol e sombra. Contudo, observa-se uma tendência das mudas plantadas no pleno sol de apresentarem melhores resultados em todos os parâmetros avaliados. O comportamento (médias) dos dados indicam que, no sol, em longo prazo, estes parâmetros podem ser ainda melhores. Isso se deve, ao papel da luz solar na produção de fotossíntese. O crescimento das plantas depende, entre outros fatores, da produção e acumulação de fotoassimilados pela fotossíntese. Em plantas com suprimento adequado de água e nutrientes, a produção de biomassa é governada pela radiação fotossinteticamente ativa (Caron et al., 2012). Apesar dos fatores ambientais não atuarem isoladamente sobre as plantas, a luz é fundamental como fonte direta de energia para o desenvolvimento de todos vegetais (Portela et al., 2001).

As mudas enxertadas de *H. serratifolius* apresentaram padrão semelhante de crescimento e número de brotações em relação aos diferentes ambientes em que foram plantadas. Isso ocorre porque cada espécie tem exigências próprias em relação à qualidade de luz necessária para o seu desenvolvimento (Portela et al., 2001). Algumas, como *Peltophorum dubium* (Portela et al., 2001) e *Platygyamus regnelli* (Scalon e Alvarenga 1993) parecem não ser sensíveis aos diferentes tratamentos de sombreamentos e tem crescimento semelhante nestes ambientes.

A intensidade de luz que incide sobre a planta exerce grande influência sobre o florescimento (Taiz e Zeiger, 2017). Os enxertos de *H. serratifolius* floresceram mais quando plantados em pleno sol, o que se deve a maior quantidade de luz que estas plantas receberam. Mudas produzidas a partir de enxertia, mesmo que apresentem maturidade fisiológica para produzir flores, quando plantadas em condições de sombreamento, precisam de tempo para se adaptar a essa condição. Dessa forma, a luz não é utilizada no seu máximo potencial, reduzindo o florescimento (Taiz e Zeiger, 2017).

H. serratifolius normalmente ocorre em regiões quentes do país e com maior intensidade de luz, como o Cerrado, Amazônia e parte da Caatinga, Mata Atlântica e Pantanal (Lohmann, 2015). Desse modo pressupõe-se que todo seu aparato fisiológico seja adaptado a estas condições ambientais. Isso favorece um maior florescimento e sobrevivência destas plantas quando plantadas em pleno sol.

Na literatura são descritos vários trabalhos relacionados ao crescimento de mudas em diferentes condições de sombreamento (Portela et al., 2001; Sabino et al., 2018; Bueno et al., 2021). Contudo, não foram encontrados estudos sobre crescimento e florescimento de mudas de espécies arbóreas nativas enxertadas sob estas mesmas condições no campo. A maior parte destes trabalhos se referem à produção de mudas em condições de viveiro.

Nossa hipótese para a ausência de flores em *D. nigra* é a reversão da maturidade do enxerto pelo enxerto (Andrade, 2010). Durante este processo, há transmissão de sinais entre as células do porta-enxerto para o enxerto, como fitormônios, por exemplo, que desencadeiam o processo de rejuvenescimento (Andrade, 2010).

5. Conclusões

É possível promover o resgate de DNA de *D. nigra*, *H. serratifolius* e *Cariniana estrellensis* por meio da enxertia. Ou seja, esta técnica foi eficiente para que várias mudas de cada espécie fossem produzidas, impedido que o DNA destes indivíduos se perca com sua morte.

Enxertias realizadas no mês de agosto tem maior chance de sobrevivência, maior número de brotações e maior crescimento, demonstrando que temperaturas mais amenas são mais adequadas para a realização desta prática nestas espécies.

As mudas produzidas puderam retornar para o local de origem onde estão adaptadas às condições edafoclimáticas, reduzindo o impacto ambiental de eventos como o rompimento de barragens, sobre a estrutura genética das populações em seu ambiente natural. No campo, *H. serratifolius* floresceu e frutificou, garantido sua descendência. A porcentagem de florescimento foi maior nas plantas que receberam aplicação de paclobutrazol e em pleno sol.

Observa-se uma tendência de maior crescimento, número de brotos e sobrevivência das mudas de *D. nigra* em plantadas no sol, contudo, não foram observadas diferenças estatísticas em todos os resultados. As mudas enxertadas de *H. serratifolius* apresentaram padrão semelhante de crescimento e número de brotações em relação aos diferentes ambientes em que foram plantadas. No entanto, as plantas de *H. serratifolius* floresceram significativamente mais quando plantados em pleno sol.

O melhor protocolo para o resgate de DNA das espécies nativas estudadas é realizar a enxertia por garfagem em fenda simples, logo após aplicar o regulador de crescimento paclobutrazol e planta-las no ambiente de pleno sol. Por meio deste protocolo, será possível desenvolver pomares de cruzamentos de polinização livre e controlada, que serão úteis em futuros programas de melhoramento e conservação genética de espécies florestais nativas. As sementes produzidas poderão, inclusive, contribuir para recuperação de áreas degradadas, acelerando o processo de restauração das áreas onde a técnica for utilizada.

6. Referências

- Adil OS, Rahim A, Elamin OM, Bangerth FK. Effects of paclobutrazol (PBZ) on floral induction and associated hormonal and metabolic changes of beinnially bearing mango (*Mangifera indica* L.) cultizars during off year. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*. 2011; 6: 55–67.
- Aires URV, Santos BSM, Coelho CD, Silva DD, Calijuri ML. Changes in land use and land cover as a result of the failure of a mining tailings dam in Mariana, MG, Brazil. *Land Use Policy*. 2018; 70(1): 63-70. doi: 10.1016/j.landusepol.2017.10.026
- Almeida II, Santos RF, Mayer MM, Silva JZ. Rootstocks and grafting of Brazil nuts by the patch budding. *Revista de ciências agrárias*. 2020;63(1):1-9.
- Baldoni AB. Como fazer enxertia por borbúlia em castanheirado-brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.). Sinop: Embrapa Agrossilvipastoril, 2018.
- Baron D, Amaro ACE, Pina A, Ferreira G. An overview of grafting re-establishment in woody fruit species. *Scientia Horticulturae*. 2019; 243 (2019): 84–91. doi: 10.1016/j.scienta.2018.08.012
- Bueno MM, Leles PSS, Pinto MF, Resende AS, Couto BRM, Carvalho DF. Water use in the growth of atlantic forest tree species seedlings under different shading levels. *Ciência e Agrotecnologia*. 2021; 45: e025220. doi: 10.1590/1413-7054202145025220
- Caron BO, Souza VQ, Trevisan R, Behling A, Schmidt D, Bamberg R, Eloy E. Eficiência de conversão da radiação fotossinteticamente ativa interceptada em fitomassa de mudas de eucalipto. *Revista Árvore*. 2012. 36(5): 833-842. doi: 10.1590/S0100-67622012000500005.

- Carvalho MS, Ribeiro KD, Moreira RM, Almeida AM. Concentration of metals in the Doce river in Mariana, Minas Gerais, Brazil. *Acta Brasiliensis*. 2017; 1(3): 37-41. doi: 10.22571/Actabra13201758
- Carvalho PER. *Espécies Arbóreas Brasileiras*. Vol. 5. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2014.
- Castro CAO, Santos GA, Takahashi EK, Nunes ACP, Souza GA, Resende MDV. Accelerating *Eucalyptus* breeding strategies through top grafting applied to young seedlings. *Industrial Crops and Products*. 2021. 171(11): 113906. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113906
- Constantino V, Zanette F. Enxertia de propágulos trunciformes nos ramos de *Araucaria angustifolia* e multiplicação de matrizes. *Ciência Florestal*. 2018; 28: 845– 846. doi: 10.5902/1980509832103.
- Desta B, Amare, G. Paclobutrazol as a plant growth regulator. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2021; 8(1). doi: 10.1186/s40538-020-00199-z
- Dolgun O, Tekintas FE, Ertan E. A histological investigation on graft formation of some nectarine cultivars grafted on pixy rootstock. *World Journal of Agricultural Sciences*. 2008; 4(5): 565-568.
- Fachinello JC, Hoffmann A, Nachtigal JC. *Propagação de plantas frutíferas*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221p.
- Fan S, Zhang D, Gao C, Wan S, Lei C, Wang J, Zuo X, Dong F, Li Y, Shah K, Han M. Mediation of flower induction by gibberellin and its inhibitor paclobutrazol: mRNA and miRNA Integration comprises complex regulatory Cross-Talk in apple. *Plant and Cell Physiology*. 2018; 59(11): 2288-2307, doi: 10.1093/pcp/pcy154
- Fernandes KHP, Mori ES, Silva MR, Pinto CS. Propagação vegetativa de aroeira-pimenteira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2008; 30(3): 853–856. doi: 10.1590/S0100-29452008000300052
- Fletcher R, Gilley A, Sankhla N, Davis T. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Horticultural Reviews*. 2000; 24:55-137. doi: 10.1002/9780470650776.ch3
- Franzon RC, Gonçalves RS, Antunes LEC, Raseira MCB, Trevisan R. Surinam cherry propagation through grafting. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2008; 30(2): 488-491. doi: 10.1590/S0100-29452008000200038

- Goldschmidt EE. Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. *Frontier Plant Science*. 2014; 5(727): 1-9. doi: 10.3389/fpls.2014.00727
- Hajihashemi S, Kiarostami K, Saboora A, Enteshari S. Exogenously applied paclobutrazol modulates growth in salt-stressed wheat plants. *Plant Growth Regulation*. 2007; 53: 117-28. doi: 10.1007/s10725-007-9209-8
- Hartmann HT, Kester DE, Davies Junior FT, Geneve RL. *Plant propagation: principles and practices*. 8 ed. Boston: Prentice-Hall, 2011.
- Hedden P, Graebe JE. Inhibition of gibberellins biosynthesis by paclobutrazol in cell-free homogenates of *Cucurbita maxima* endosperm and *Malus pumila* embryos. *Journal of Plant Growth Regulation*. 1985; 4:111-2. doi: 10.1007/BF02266949
- Hieu T, Phong TH, Khai HD, Mai NTN, Cuong DM, Luan, VQ, Tung HT, Nam NB, Nhut DT. Efficient production of vigorous passion fruit rootstock for in vitro grafting. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 2022; 148: 635-648. doi: 10.1007/s11240-021-02220-1
- Iglesias DJ, Cercos M, Olmenero-Flores JM, Naranjo MA, Rios G, Carrera E, Ruiz-Rivero O, Lliso I, Morillon R, Tadeo FR, Talon M. Physiology of citrus fruiting. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 2007; 19:333-62. doi :10.1590/S1677-04202007000400006
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. *Mapa de biomas do Brasil e mapa de vegetação do Brasil*. 3. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2004.
- Kuo J, Wang YW, Chen M, Chen M, Fuh G, Lin CH. The effect of paclobutrazol on soil bacterial composition across three consecutive flowering stages of mung bean. *Folia Microbiologica*. 2019; 64, 197-205. doi: 10.1007/s12223-018-0644-x
- Lohmann LG. *Bignoniaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015.
- Martínez-Ballesta MC, Alcaraz-López C, Muries B, Mota-Cadenas C, Carvajal M. Physiological aspects of rootstock–scion interactions. *Sci. Hortic.-Amst*. 2010; 127 (2), 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.08.002>.
- Melnyk CW, Meyerowitz EM. Plant grafting. *Current Biology*. 2015; 25(5): 183-188. doi:10.1016/j.cub.2015.01.029.
- Mendes G, Santos G, Resende M, Martins S, Souza G, Nunes A, Martins T. Flowering acceleration in native Brazilian tree species for genetic conservation and breeding. *Annals of Forest Research*. 2020; 63(1): 39-52. doi: 10.15287/afr.2019.1751

- Muengkaew R, Chaiprasart P. Effect of paclobutrazol soil drenching on flowering of 'Mahachanok' cultivar. *Acta Hortic.* 2016;1111(1):323-328. doi: 10.17660/Acta Hortic.2016.1111.46
- Nartvaranant P, Subhadrabandhu S, Tongumpai P. Practical aspects in producing off-season mango in Thailand. *Acta Horticulturae.* 2000; 509: 661-8.
- Miao L, Li S, Bai L, Anwar A, Li Yansu, He C, Yu X. Effect of grafting methods on physiological change of graft union formation in cucumber grafted onto bottle gourd rootstock. *Scientia Horticulturae.* 2019; 244 (1): 249–256. doi: 10.1016/j.scienta.2018.09.061
- Muhammed MAA, Mohamed AKSH, Qayyum MF, Haider G, Ali HAM. Physiological response of mango transplants to phytohormones under salinity stress, *Scientia Horticulturae.* 2022; 296: 110918. doi: 10.1016/j.scienta.2022.110918.
- Negi ND, Sharma N. Effect of paclobutrazol application and planting systems on growth and production of peach (*Prunus persica*). *Indian Journal of Agricultural Sciences.* 2009; 79: 1010–2.
- Nanda AK, Melnyk CW. The role of plant hormones during grafting. *Journal of Plant Research.* 2018; 131(1): 49-58. doi: 10.1007/s10265-017-0994-5.
- Oliveira IVM, Cavalcante IHL, Danilo Franco D, Martins ABG. Influência da época do ano no sucesso da enxertia nas variedades de abacateiro Hass e Fortuna. *Revista Brasileira de Fruticultura.* 2008; 30(4): 162-1166. doi:10.1590/S0100-29452008000400053
- Portela RCQ, Silva IL, Pinã-Rodrigues FCM. Growth of *Peltophorum dubium* (Spreng) Taub and *Clitoria fairchildiana* Howard seedlings under shading. *Ciencia Florestal.* 2001; 11(2): 163-170. doi: 10.5902/198050981664
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2021.
- Rady M, Gaballah S. Improving barley yield grown under water stress conditions. *Research Journal of Recent Sciences.* 2012;1:1–6.
- Sabino M, Ferneda BG, Martim CP, Bouvié L, Silva CC, Souza AP, Silva AC, Felipe RTA. Crescimento inicial de ipê-amarelo amazônico e de cerrado cultivados sob diferentes intensidades de sombreamento e comprimento espectral de onda. *Interciencia.* 2020; 45(4): 183-191.
- Scalon SPQ, Alvarenga AA. Efeito do sombreamento sobre a formação de mudas de Pau-pereira (*Platycomus regnelli* Benth). *Revista Árvore.* 1993; 7(3):265-270.

- Silva LM, Alquini Y, Cavallet VJ. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. *Acta Botanica Brasilica*. 2005; 19(1): 183-194. doi: 10.1590/S0102-33062005000100018
- Simões IM, Lopes JC, Schmildt ER, Ferreira A, Baptista JO, Araujo CP, Rosa TLM, Amaral GC, Alexandre RS. Grafting between species of the genus *Handroanthus* for the production of multi-colored flower canopies. *Scientia Forestalis*. 2021; 49(132): e3701. doi: 10.18671/scifor.v49n132.07
- Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 719p. 2017
- Tesfahun W, Yildiz F. A review on: Response of crops to paclobutrazol application. *Cogent Food & Agriculture*. 2018;4(1):1-9. doi: 10.1080/23311932.2018.1525169
- Upreti KK, Shivu Prasad SR, Reddy YTN, Rajeshwara AN. Paclobutrazol induced changes in carbohydrates and some associated enzymes during floral initiation in mango (*Mangifera indica* L.) cv. Totapuri. *Ind J Plant Physiol*. 2014;19: 317-323. doi:10.1007/s40502-014-0113-8
- Xavier A, Wendling I, Silva RL. *Silvicultura clonal - princípios e técnicas*. Viçosa: Editora UFV, 2013.
- Zhang S., Zhang D., Fan S., Du L., Shen Y., Xing L., et al. (2016) Effect of exogenous GA3 and its inhibitor paclobutrazol on floral formation, endogenous hormones, and flowering-associated genes in 'Fuji' apple (*Malus domestica* Borkh.). *Plant Physiol. Biochem*. 107: 178–186.
- Zhu L, Van De Peppel A, Li X. Changes of leaf water potential and endogenous cytokinins in young apple trees treated with or without paclobutrazol under drought conditions. *Sci Hort*. 2004; 99: 133–41.

CAPÍTULO 2

ENXERTIA DE *Euplassa semicostata* EM DIFERENTES ESPÉCIES DE PORTA-ENXERTOS E SUAS INCOMPATIBILIDADES ANATÔMICAS

Resumo

Euplassa semicostata Plana é uma espécie arbórea rara, endêmica da região central de Minas Gerais e de difícil propagação. A atividade mineradora é uma grande ameaça à sua sobrevivência, portanto, programas que busquem a sua conservação genética são fundamentais. O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência da enxertia por garfagem de *E. semicostata* em porta-enxertos de diferentes espécies e, complementarmente, observar as possíveis diferenças anatômicas entre elas. Segmentos caulinares foram retirados da copa de cinco árvores matrizes adultas e enxertados, por garfagem em fenda simples, em mudas de *Inga vera* Willd, *Sapindus saponaria* L., *Tapirira guianensis* Aubl., *Samanea inopinata* (Harms) Barneby & J.W. Grimes e *Pterocarpus violaceus* Vogel. A escolha destas plantas foi baseada na disponibilidade de mudas em viveiros da região e na semelhança morfológica (altura, morfologia de folhas e diâmetro). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcelas subdivididas no tempo, com avaliações a cada 15 dias após a enxertia. Amostras do caule de *E. semicostata* e dos diferentes porta-enxertos foram preparadas para observação em microscopia de luz e as imagens documentadas para análise. Em todas as espécies utilizadas como porta-enxertos, o maior percentual de sobrevivência foi alcançado até 45 dias após a realização das enxertias. Os enxertos realizados em *Sapindus saponaria* apresentaram o maior pegamento inicial, porém, aos 60 dias iniciou-se o processo de morte gradual destas plantas. Aos 90 dias não havia enxertos vivos. O câmbio vascular de *E. semicostata* é estreito, com uma pequena camada de células não diferenciadas. Os tecidos condutores são subdivididos por uma espessa camada de parênquima radial. O floema é envolto por esclereídes que avançam pelo parênquima radial, interrompendo o câmbio vascular. Esta espécie apresenta um padrão de distribuição dos tecidos bastante diferente das espécies utilizadas como porta-enxertos. Esta organização dos tecidos justifica a dificuldade em se propagar esta

espécie por enxertia, uma vez que a incompatibilidade anatômica entre as partes inviabiliza a aplicação desta técnica tornando a espécie ainda mais vulnerável.

Palavras-chave: resgate de plantas, propagação vegetativa, análise anatômica

Abstract

Euplassa semicostata Plana is a rare tree species, endemic to the central region of Minas Gerais and difficult to propagate. Mining activity is a major threat to its survival, therefore, programs that seek its genetic conservation are essential. The objective of this work was to verify the efficiency of grafting by grafting *E. semicostata* on rootstocks of different species and, in addition, to observe the possible anatomical differences between them. Stem segments were removed from the canopy of five adult mother trees and grafted, by simple slit forking, on seedlings of *Inga vera* Willd, *Sapindus saponaria* L., *Tapirira guianensis* Aubl., *Samanea inopinata* (Harms) Barneby & J.W.Grimes and *Pterocarpus violaceus* Vogel. The choice of these plants was based on the availability of seedlings in nurseries in the region and on the morphological similarity (height, leaf morphology, and diameter). The experiment was carried out in a completely randomized design, in a split-plot scheme, with evaluations every 15 days after grafting. *E. semicostata* stem samples and different rootstocks were prepared for observation under light microscopy and the images were documented for analysis. In all species used as rootstocks, the highest percentage of survival was achieved up to 45 days after grafting. The grafts performed on *Sapindus saponaria* showed the highest initial set, however, at 60 days the process of gradual death of these plants began. At 90 days there were no live grafts. The vascular cambium of *E. semicostata* is narrow, with a small layer of undifferentiated cells. Conductive tissues are subdivided by a thick layer of radial parenchyma. The phloem is surrounded by sclereids that advance through the radial parenchyma, interrupting the vascular cambium. This species presents a pattern of tissue distribution quite different from the species used as rootstocks. This tissue organization justifies the difficulty in propagating this species by grafting. The anatomical incompatibility between the parts makes the application of this technique unfeasible, making the species even more vulnerable.

Keywords: DNA rescue, vegetative propagation, anatomical analysis

1. Introdução

A enxertia consiste na união de partes de diferentes plantas de modo que uma sirva de suporte e de comunicação com o sistema radicular para a outra (Xavier, 2013). Embora as duas partes formem uma única planta, cada uma mantém sua individualidade genotípica (Hartmann et al., 2011; Xavier, 2013). A planta enxertada é composta pelo porta-enxerto e pelo enxerto (Rocha et al., 2018; Baron et al., 2019). O primeiro compõe a parte inferior da planta, cuja função é absorver água e nutrientes e fixar a planta ao solo (Baron et al., 2019). O segundo compõe a parte superior e produtiva da planta que se deseja multiplicar (planta selecionada) desempenhando funções de condução de seiva, fotossíntese, florescimento, frutificação (Xavier, 2013).

Por meio desta técnica é possível resgatar plantas para diversas finalidades, como conservação genética, antecipação do florescimento, realização de cruzamentos controlados, entre outros (Mendes et al., 2020; Mendes et al., 2021; Williams et al., 2021; Castro et al., 2021). A enxertia tem sido muito utilizada em espécies florestais exóticas, no entanto, ainda são poucos estudos relacionados a espécies nativas (Stuepp et al., 2018). A conexão entre as partes de diferentes plantas se dá pela formação de um tecido caloso, proveniente do câmbio vascular (Habibi et al., 2022). As células do calo são parenquimatosas, e diferenciam-se em um novo tecido cambial que, por sua vez, continua a diferenciação, formando nova conexão viva (Nogueira Filho et al., 2010).

Esta técnica tem maiores chances de sucesso se praticada entre espécies fisiológica e morfológicamente semelhantes (Habibi et al., 2022). Normalmente existe maior compatibilidade entre indivíduos da mesma espécie, gênero ou família, contudo, isso não é determinante para que haja êxito na aplicação desta técnica (Ribeiro et al., 2005).

Eupassa semicostata Plana é uma espécie arbórea muito rara, da família Proteaceae e que ocorre, mais frequentemente, na região central do Estado de Minas Gerais, Brasil. Existem poucos indivíduos catalogados desta espécie e a maioria está localizada em fragmentos florestais dentro de áreas destinadas à mineração (CNCFlora 2012). Há uma grande dificuldade em se propagar *E. semicostata*. Os indivíduos dessa espécie demoram para atingir a maturidade reprodutiva, produzir flores, frutos e, logo, sementes.

Entre as diferentes formas de propagação de plantas, destaca-se a enxertia, por ser uma técnica de baixo custo, prática e que não exige estruturas ou equipamentos sofisticados (Ribeiro et al., 2005). A enxertia não requer que a árvore matriz seja decepada, uma vez que os propágulos podem ser retirados da copa (Xavier et al., 2013). Outra grande vantagem desta técnica está na possibilidade de as mudas produzirem flores e frutos em um curto período de tempo contribuindo para a preservação dessa espécie (Simões et al., 2021).

Considerando as limitações da propagação sexuada destes indivíduos, a propagação clonal evitaria a perda destes DNAs. No entanto, existe uma grande carência de conhecimento científico relacionado a esta planta. Estes fatores, em conjunto, podem condenar a espécie à extinção, uma vez que estas plantas poderão ser suprimidas para exploração de minério antes que possam se reproduzir.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar a eficiência da enxertia por garfagem de *E. semicostata* em porta-enxertos de diferentes espécies arbóreas escolhidas conforme a disponibilidade de mudas e semelhança morfológica (*Inga vera*, *Sapindus saponaria*, *Tapirira guianensis*, *Samanea inopinata* e *Pterocarpus violaceus*), complementarmente observar as possíveis diferenças anatômicas entre elas.

2. Material e métodos

2.1 Enxertias

As árvores matrizes de *Euplassa semicostata* foram selecionadas na cidade de Nova Lima, Minas Gerais, em um ecótono de Mata Atlântica/Cerrado onde as formações vegetais variam principalmente entre Floresta Estacional Semidecidual, Cerrado e Campo Rupestre (CNCFlora 2012). O principal critério utilizado na escolha dos indivíduos foi o risco de supressão. Todas as árvores selecionadas foram monitoradas por anos e nunca floresceram.

Quinhentos segmentos caulinares, contendo pelo menos três gemas laterais e medindo entre 15 e 20 cm foram retirados de cinco árvores adultas (cem segmentos por árvore). Os enxertos foram umedecidos e envolvidos em papel toalha e posteriormente em papel alumínio. Este material foi acondicionado em caixa térmica

contendo gelo para manter a sua turgescência e evitar a perda de qualidade do material durante o transporte até o viveiro (Figura 1).



Figura 1: Propágulos de *Euplassa semicostata* Plana sendo coletados nas árvores matrizes (A), umedecidos, e envolvidos em papel toalha (B) e papel alumínio (C) e, posteriormente, acondicionados em caixa térmica para manutenção da turgescência durante o transporte até o local da enxertia (D).

Cinco espécies florestais foram utilizadas como porta-enxertos: *Inga vera* Willd. (ingá-do-brejo), *Sapindus saponaria* L. (saboneteira), *Tapirira guianensis* Aubl. (pau-pombo), *Samanea inopinata* (Harms) Barneby & J.W.Grimes (sete-cascas) e *Pterocarpus violaceus* Vogel (aldrago). A escolha destas plantas foi baseada na disponibilidade de mudas em viveiros da região e na semelhança morfológica (altura, morfologia de folhas e diâmetro).

Todos os porta-enxertos foram plantados em vasos de 10 litros contendo substrato adubado com osmocote na formulação de 15-09-12 (N-P-K) e superfosfato simples (150 g e 300 g respectivamente para cada 25 kg de substrato).

A técnica de enxertia empregada foi a de garfagem em fenda cheia em que o porta-enxerto é decepado a uma certa altura do coleto e cortado em forma de fenda.

Nele foi encaixado o segmento caulinar do enxerto cortado em forma de cunha, para que haja uma melhor união entre as partes. Todo o enxerto foi envolvido com parafilm, a fim de evitar a perda de umidade, e posteriormente, com uma fita veda-rosca, que foi utilizada somente no local da união (conexão dos tecidos) (Figura 2).

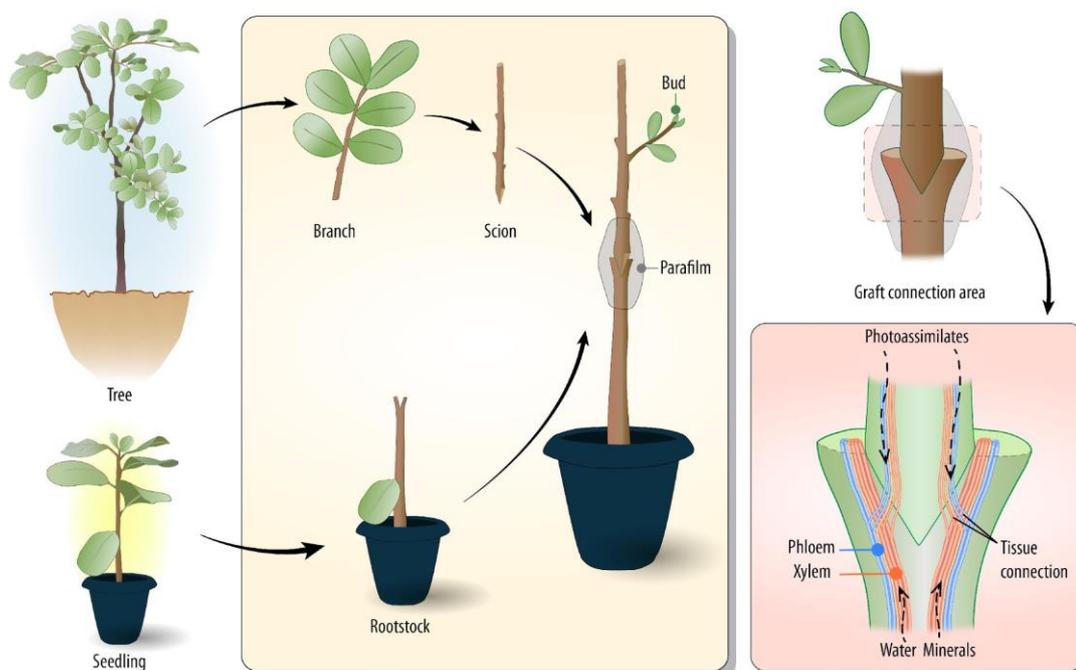


Figura 2: Procedimento de enxertia por garfagem em fenda cheia utilizada para *Euplassa semicostata* em diferentes espécies como porta-enxertos. Segmentos caulinares foram retirados de árvores matrizes no campo, cortados em cunha, enxertados em mudas, previamente cortadas na porção média do caule do porta-enxerto, deixando folhas, posteriormente envolvidos com parafilm para evitar a perda de umidade e fita veda rosca.

O experimento foi instalado no pomar *in door* do viveiro de pesquisas no Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa (UFV). O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcelas subdivididas no tempo, com avaliações a cada 15 dias (15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após a enxertia). Foram utilizadas 10 repetições com 10 plantas em cada repetição.

O índice de sobrevivência dos enxertos foi avaliado pelo percentual de plantas com brotações (contagem do número de enxertos com brotações, divididos pelo número total de plantas enxertadas em cada tratamento multiplicado por 100).

2.2 Análise anatômicas

Amostras do caule de aproximadamente três centímetros de comprimento de *E. semicostata* e das diferentes espécies utilizadas como porta-enxertos foram coletadas e fixadas em FAA50 (formaldeído, ácido acético, etanol 50% - 1: 1: 18 - v: v), por 48h sob vácuo e armazenados em etanol 70% (Johansen, 1940).

Em seguida, o material vegetal foi desidratado em série etanólica (70, 85, 95%), e colocadas em resina pura + álcool 95 % (1:1), por 7 dias sob vácuo constante. Após este procedimento as amostras foram transferidas para resina pura por 45 dias com vácuo constante. Por fim, as amostras foram incluídas em metacrilato (Historesina-Leica), de acordo com as recomendações do fabricante.

As amostras foram seccionadas transversalmente em um micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica microsystems Inc., Deerfield, EUA) com 5 µm de espessura. As seções foram coradas com azul de toluidina em tampão acetato, pH 4,7 (O'Brien et al., 1964). Em seguida lâminas de vidro foram montadas com resina sintética (Permount®). As imagens foram obtidas em microscópio de luz (modelo AX-70 TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão), acoplado a uma câmera digital (Zeiss AxioCam modelo HRc, Göttinger, Alemanha) e um microcomputador com o programa de captura de imagens AxioVision®.

Após a obtenção das imagens, a anatomia de *E. semicostata* foi comparada com as espécies utilizadas como porta-enxertos.

3. Resultados

3.1 Enxertias

A média de sobrevivência de enxertos (média de todas as espécies) de *E. semicostata* foi de 4% aos 15 dias para 10,2% aos 45 dias, respectivamente. Sessenta dias após a realização das enxertias houve uma redução gradual do percentual de brotações, até que, aos 90 dias não foram observados enxertos vivos (Figura 3).

Nos primeiros 45 dias, as enxertias realizadas em *S. saponaria* apresentaram a maior sobrevivência, enquanto os enxertos utilizando as demais espécies alcançaram menos de 10% de sobrevivência (Figura 3).

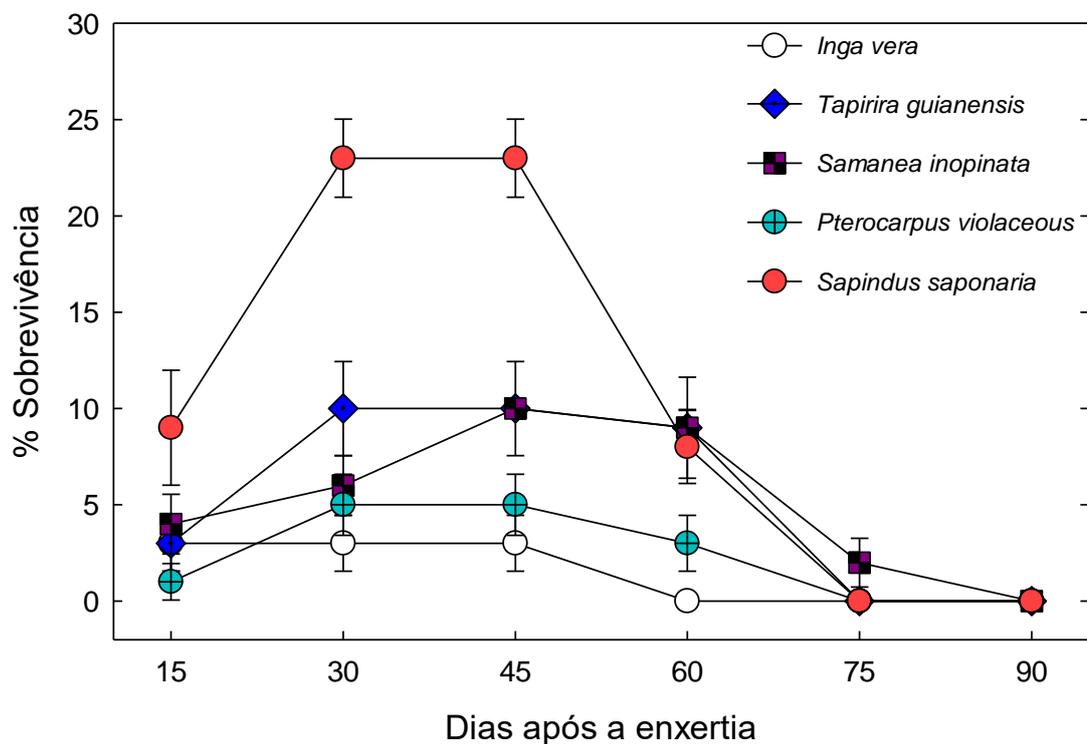


Figura 3: Percentual de sobrevivência (%) de enxertias de *Euplassa semicostata* Plana utilizando as espécies *Inga vera*, *Tapirira guianensis*, *Samanea inopinata*, *Pterocarpus violaceus* e *Sapindus saponaria* como porta-enxertos.

3.2 Caracterização anatômica

Os feixes vasculares das folhas de *E. semicostata* são dispersos e com baixa organização da sua distribuição, ou seja, há a fragmentação em vários polos de feixes vasculares e baixa continuidade (Figura 4A e 4B).

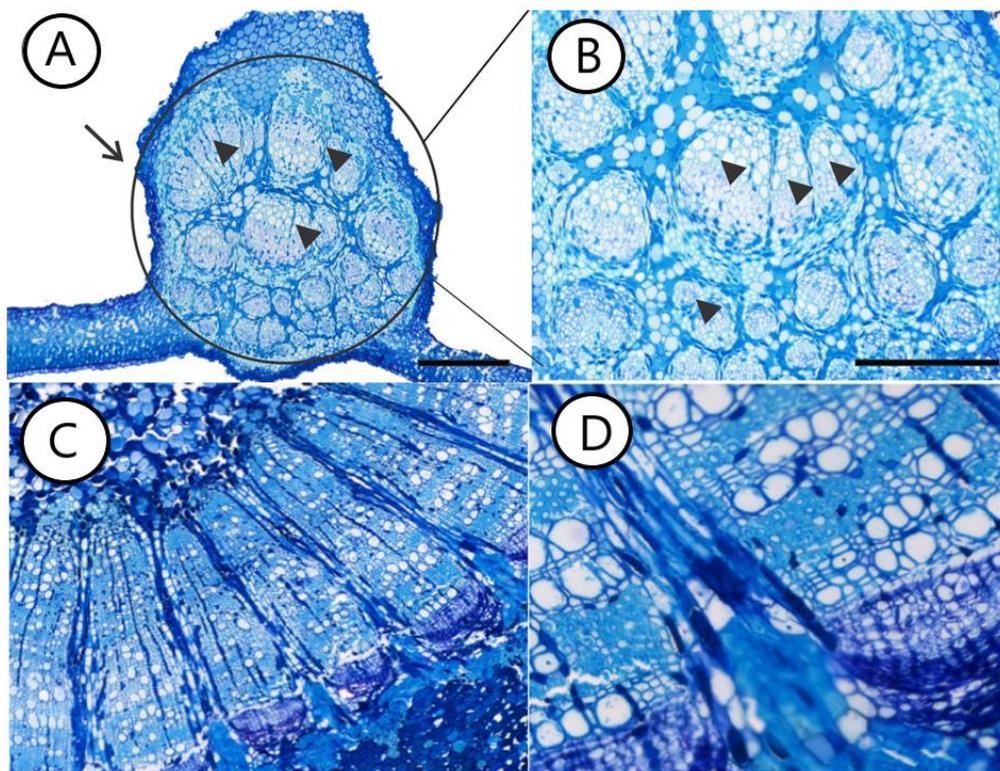


Figura 4: Anatomia de folha e caule de *Euplassa semicostata* Plana. A) Nervura central (evidenciando os vasos condutores), pontas de seta indicam a fragmentação dos feixes vasculares por parênquima radial). B) Detalhe dos feixes vasculares, pontas de seta indicam a região dos feixes vasculares. C) Caule. D) Detalhe da descontinuidade do tecido condutor. Barras A e C= 500 μm ; B e D = 1000 μm . O círculo evidencia a nervura central da folha, com seus feixes vasculares desuniformes e segregados por parênquimas).

O câmbio vascular de *E. semicostata* é estreito, apresentando uma pequena camada de células não diferenciadas. Os tecidos condutores (xilema e floema) são divididos, no sentido transversal, por uma espessa camada de parênquima radial. O floema é envolto por camadas de células lignificadas, com parede celular espessa e presença de esclereídes. Estas células avançam pelo parênquima radial, interrompendo o câmbio vascular. Todas estas características, conferem ao corte transversal do caule de *E. semicostata*, um aspecto semelhante à uma “laranja” ou “pétalas de flores” (Figura 4C e 4D).

Diferentemente da *E. semicostata*, as espécies utilizadas como porta-enxertos apresentam um padrão de distribuição dos tecidos semelhantes entre si e característicos de espécies arbóreas (Figura 5). Estas plantas apresentam desenvolvimento de tecidos do floema e xilema ao longo do caule organizados de modo padronizado. Suas células são bem distribuídas, além de pouca ou nenhuma presença de parênquima radial separando os tecidos vasculares. Contudo, cabe

ressaltar que estas plantas possuem região externa ao felogênio compostas por células regulares, com espessuras de tecidos diferentes, de acordo com a idade de cada amostra.

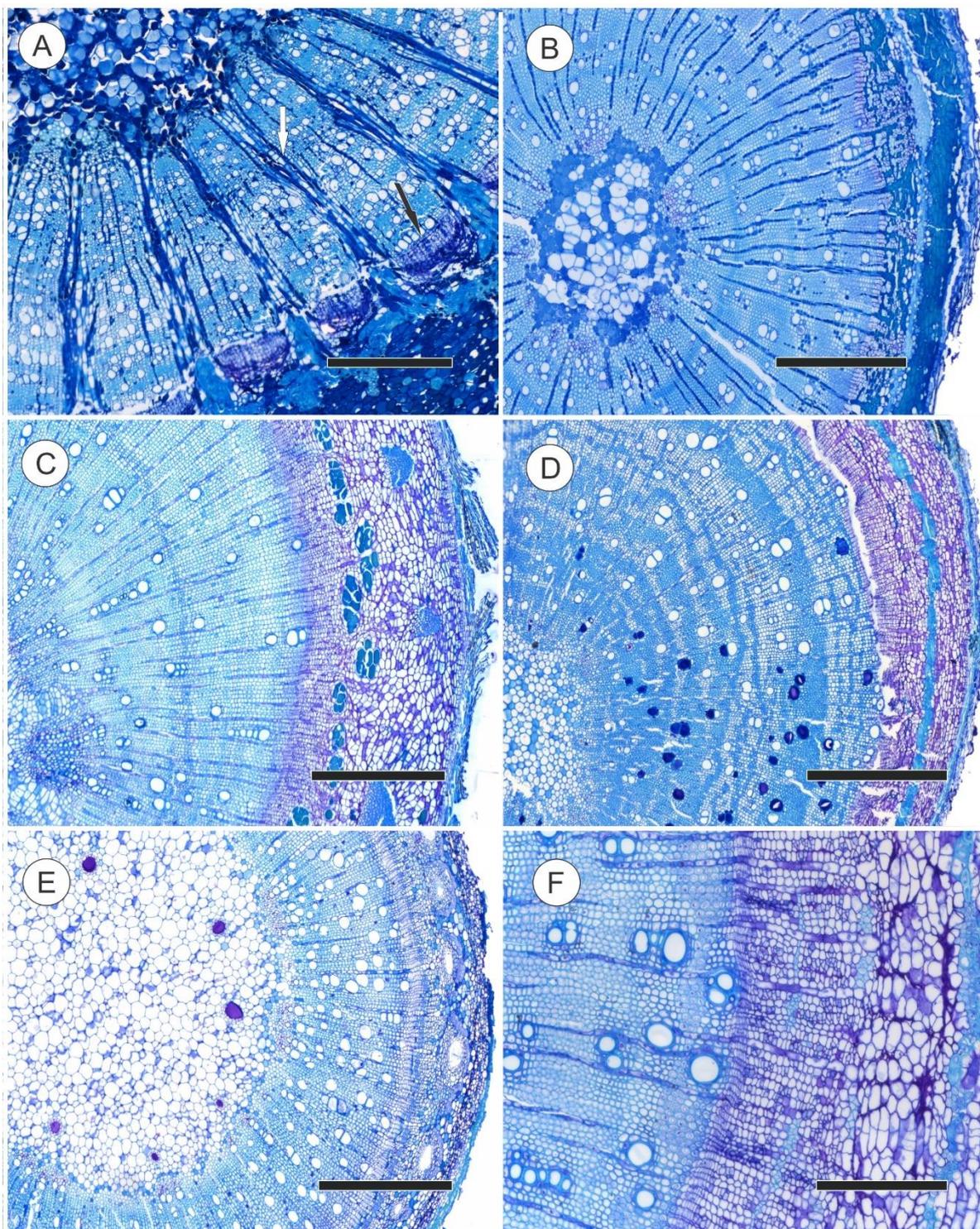


Figura 5: Comparação entre cortes transversais do caule de *Euplassa semicostata* e das espécies utilizadas como porta-enxertos. (A) *Euplassa semicostata*, (B) *Samanea inopinata* (C) *Tapirira guianensis*; (D) *Inga vera*; (E) *Pterocarpus violaceus* e (F) *Sapindus saponaria*. A seta branca indica o parênquima axial e a seta preta o câmbio vascular. Barras A, C - F 600 μm ; B 200 μm .

4. Discussões

Vale ressaltar aqui, que este é o primeiro trabalho que trata da anatomia de *E. semicostata*. Sendo o primeiro passo para o entendimento e elucidação de sua dificuldade de propagação. O aumento do número de plantas com brotações entre 0 e 45 dias após a enxertia ocorreu porque os segmentos caulinares, mesmo sem folhas, apresentam reserva de alguns carboidratos, como amido (Lima et al., 2006). Estes compostos são mobilizados e utilizados na formação de novos tecidos que darão origem às brotações (Malavassi, 1994). Caso não receba água e nutrientes provenientes do porta-enxerto, o enxerto não será capaz de produzir fotoassimilados, consumirá toda a sua reserva e não sobreviverá (Taiz e Zeiger, 2017).

O maior índice de sobrevivência dos enxertos realizados em *S. saponaria*, nos primeiros 45 dias, pode ter sido causado por uma maior quantidade de reserva nos propágulos enxertados nesta espécie (Lima et al., 2006). Na enxertia por garfagem em fenda, é importante que os diâmetros do enxerto e porta-enxerto sejam semelhantes, para que haja uma maior coincidência entre os feixes vasculares das duas partes (Habibi et al., 2022). Porta-enxertos com maiores diâmetros deverão receber, portanto, enxertos igualmente grossos. Estacas mais lenhosas, apresentam maior quantidade de reserva que aquelas mais finas e tenras, proporcionando, maior quantidade de brotos que sobrevivem por mais tempo (Coelho e Azevedo, 2016). Os diâmetros e lignificação dos porta-enxertos variam, principalmente em função da espécie e da idade das plantas. As mudas de *S. saponaria* apresentaram diâmetros superiores às demais, e, por isso, foi necessário selecionar propágulos mais grossos para enxertia nesta espécie. Segmentos caulinares mais lenhosos apresentam maior resistência à desidratação, uma vez que possuem maior estabilidade dos tecidos, maior espessura radial e, conseqüentemente, maior conteúdo de matéria fresca (Coelho e Azevedo, 2016).

A morte dos enxertos aos 90 dias se deve à baixa conexão entre enxerto e porta-enxerto causada, principalmente, pela incompatibilidade anatômica entre *E. semicostata* e as plantas utilizadas como porta-enxertos (Habibi et al., 2022). O padrão de distribuição de *Samanea inopinata*, *Tapirira guianensis*, *Inga vera*, *Pterocarpus violaceus* e *Sapindus saponaria* é comum à maioria das espécies arbóreas, contudo é bastante diferente da *E. semicostata* que apresenta parênquima radial fragmentando toda a circunferência do caule. Esta característica dificulta a

conexão entre os tecidos, o que resulta em baixo, ou nenhum pegamento. Isto ocorre, principalmente, quando a enxertia é realizada em espécies diferentes (Melnik and Meyerowitz, 2015; Dogra et al., 2018; Opoku et al., 2019).

Para o sucesso da enxertia é importante que haja o contato entre os tecidos cambiais do porta-enxerto e enxerto. Após a união destas partes, ocorre grande divisão celular, produzindo uma massa de células, chamada de calo (Baron et al., 2017, Baron et al., 2019). Acredita-se que esse tecido, semelhante a células-tronco, se diferencie de forma análoga à cicatrização de feridas em animais, que requer a divisão e diferenciação das células-tronco (Melnik e Meyerowitz, 2015; Pérez-Luna et al., 2020). A diferenciação do calo na junção do enxerto dá origem aos dois principais tipos de tecidos vasculares da planta: o floema e o xilema (Balbi et al., 2019). Em enxertos incompatíveis pode ocorrer a divisão celular e a formação do calo, no entanto, a diferenciação em xilema e floema não ocorre (Dogra et al., 2018; Zhou et al., 2020).

A compatibilidade entre enxerto e porta-enxerto é maior quando há proximidade anatômica entre as plantas (Opoku et al., 2019). No entanto existem alguns exemplos de enxertias interespecíficas bem-sucedidas. Diferentes espécies do gênero *Handroanthus* foram enxertadas em mudas bifurcadas de *Handroanthus impetiginosus* com percentual de pegamento superior a 90% (Simões et al., 2021). Propágulos de *Kaya grandifoliola* foram enxertados em *Kaya ivorensis* com percentual de pegamento de 76,67 % (Opoku et al., 2019).

A incompatibilidade entre as espécies utilizadas como enxerto e porta-enxerto pode não ser somente anatômica, mas química também. Algumas espécies podem não reconhecer determinados metabólitos produzidos pela outra espécie causando uma identificação química negativa entre elas, dificultando a conexão (Taiz e Zeiger, 2017). A estreita faixa de células do câmbio vascular da *E. semicostata*, sugere uma baixa atividade metabólica influenciado pela exposição da planta a um estresse hídrico, nutricional, térmico ou a um conjunto destes fatores. A baixa atividade cambial, associada à sua fragmentação (provocada pelo avanço das células esclereídes), reduz a chance de pegamento da enxertia.

Outra hipótese é a oxidação de compostos fenólicos, que normalmente ocorre em algumas espécies, dificultando a formação do calo e a cicatrização dos tecidos (Franzon et al., 2008). Estas reações de oxirredução podem provocar uma

desidratação dos tecidos do enxerto que por sua vez, ocasionam embolia e posteriormente a cavitação dos vasos (Taiz e Zeiger, 2017).

5. Conclusões

Não é possível realizar o resgate de árvores de *E. semicostata* por meio da enxertia por garfagem em fenda simples a partir de porta-enxertos de outras espécies (*Samanea inopinata*, *Tapirira guianensis*, *Inga vera*, *Pterocarpus violaceus* e *Sapindus saponaria*).

A incompatibilidade anatômica entre a *E. semicostata* e as espécies utilizadas como porta-enxertos, associada à sua baixa atividade metabólica, podem explicar o insucesso da enxertia.

Dessa forma, é fundamental que outras técnicas sejam desenvolvidas para possibilitar a floração do material, como por exemplo a indução de floração diretamente no campo, entre outras.

6. Referências

- Balbi RV, Pio R, Farias DH, Melo ET, Pereira MP, Pereira FJ. The cell regeneration and connection of grafting between pear and quince trees are defined by the cortex and phloem. *Scientia Horticulturae*. 2019; 257: 108662. doi: 10.1016/j.scienta.2019.108662.
- Baron D, Amaro ACE, Macedo AC, Boaro CSF, Ferreira G. Physiological changes modulated by rootstocks in atemoya (*Annona x atemoya* Mabb.): gas exchange, growth and ion concentration. *Revista Brasileira de Botânica*. 2017; 41(1): 219-225. doi: 10.1007/s40415-017-0421-0
- Baron D, Amaro ACE, Pina A, Ferreira G. An overview of grafting re-establishment in woody fruit species. *Scientia Horticulturae*. 2019; 243: 84-91. doi: 10.1016/j.scienta.2018.08.012.
- Castro CAO, Santos GA, Takahashi EK, Nunes ACP, Souza GA, Resende MDV. Accelerating Eucalyptus breeding strategies through top grafting applied to young seedlings. *Industrial Crops and Products*. 2021. 171(11): 113906. 10.1016/j.indcrop.2021.113906

- CNCFlora. *Euplassa semicostata* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. 2012. [cited 2021 august 09]. Available from: <http://www.cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Euplassa%20semicostata>
- Coelho MFB, Azevedo RAB. Cutting type for the *Turnera subulata* propagation. *Horticultura Brasileira*. 2016; 34(3): 435-438.
- Dogra K, Kour K, Kumar R, Bakshi P, Kumar V. Graft-incompatibility in horticultural crops. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2018; 7(2): 1805–1820. doi: 10.20546/ijcmas.2018.702.218
- Habibi F, Liu T, Folta K, Sarkhosh A. Physiological, biochemical, and molecular aspects of grafting in fruit trees. *Horticulture Research*. 2022; 19(9): uhac032. doi: 10.1093/hr/uhac032.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies Junior FT, Geneve RL. *Plant propagation: principles and practices*. 8. ed. Boston: Prentice-Hall, 2011
- Lima RLS, Siqueira DL, Wewber OB, Cazetta JO. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2006; 28(1): 83-86.
- Malavasi UC. Macropropagação vegetativa em coníferas: perspectivas biológicas e operacionais. *Floresta e Ambiente*. 1994; 1(único):131-135,
- Melnyk CW, Meyerowitz EM. Plant grafting. *Current Biology*. 2015; 25(5): 183-188. doi:10.1016/j.cub.2015.01.029.
- Mendes G, Santos G, Resende M, Martins S, Souza G, Nunes A, Martins T. Flowering acceleration in native Brazilian tree species for genetic conservation and breeding. *Annals of Forest Research*. 2020; 63(1): 39-52. doi: 10.15287/afr.2019.1751.
- Mendes GGC, Santos GA, Xavier A, Martins SV, Souza GA, Martins TGV, Reis Neto RF. Grafting efficiency in Brazilian native tree species. *Scientia Forestalis*. 2021; 49(132): e3687. doi: 10.18671/scifor.v49n132.04
- Nogueira Filho GC, Roncatto, G, Ruggiero C, Oliveira JC, Malheiros EB, Damião Filho, CF. Aspectos histológicos da união da enxertia hipocotiledonar do maracujazeiro-amarelo. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2010; 32(2): 515-521. doi: 10.1590/S0100-29452010005000068

- Opoku EM, Opuni-Frimpong E, Dompok D. Developing sustainable regeneration techniques for four African mahogany species: grafting methods for success and growth. *New Forests*. 2019; 50:539-554. doi:10.1007/s11056-018-9677-x
- Pérez-Luna A, Wehenkel C, Prieto-Ruiz JA, López-Upton J, Solís-González S, Chávez-Simental JA, Hernández-Díaz JC. Grafting in Conifers: a review. *Pakistan Journal of Botany*. 2020; 52(4): 1369-1378. doi:10.30848/PJB2020-4(10).
- Ribeiro et al. Enxertia em fruteiras. Recomendações técnicas. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/859550/1/rt92enxertiade fruteiras.pdf>
- Rocha KB, Rocha JHT, Gonçalves AN. Grafting methods for production of rubber tree seedlings in suspended nursery. *Scientia Forestalis*. 2018; 46(120): 646-656. doi: 10.18671/scifor.v46n120.13
- Simões IM, Lopes JC, Schimdt ER, Ferreira A, Baptista JO, Araujo CPA, Rosa TLM, Amaral GC, Alexandre RS. Grafting between species of the genus *Handroanthus* for the production of multi-colored flower canopies. *Scientia Forestalis*. 2021; 49(132): e3701. doi: 10.18671/scifor.v49n132.0
- Stuepp CA, Wendling I, Xavier A, Zuffellato-Ribas KC. Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2018. 53(9): 985-1002. 10.1590/S0100-204X2018000900002.
- Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 719p. 2017.
- Williams B, Ahsan UM, Frank MH. Getting to the root of grafting-induced traits. *Current Opinion in Plant Biology*. 2021. 29(2): 101988. 10.1016/j.pbi.2020.101988
- Xavier A, Wendling I, Silva RL. *Silvicultura clonal - princípios e técnicas*. Viçosa: Editora UFV, 2013.
- Zhou Q, Gao B, Li WF, Mao J, Yang SJ, Li W, Ma ZH, Zhao X, Chen BH. Effects of exogenous growth regulators and bud picking on grafting of grapevine hard branches. *Scientia Horticulturae*. 2020, 264(1): 109186. doi: 10.1016/j.scienta.2020.109186

CAPITULO 3

INDUÇÃO DE FLORESCIMENTO PRECOCE E CARACTERIZAÇÃO DE DOENÇAS EM CONDIÇÕES DE CAMPO DE *Euplassa semicostata* PLANA

Resumo

Euplassa semicostata Plana é uma espécie arbórea ameaçada, da família Proteaceae, que apresenta reprodução lenta e é endêmica do Estado de Minas Gerais. Grande parte de sua população está localizada em áreas de mineração com alto risco de supressão. Indivíduos desta espécie encontrados em um remanescente florestal da mineradora Vale S.A. foram monitorados por anos, contudo nunca floresceram. Estes fatores, em conjunto, podem levar a espécie à extinção. O objetivo deste trabalho foi induzir a floração e frutificação de árvores de *E. semicostata* no campo para produção de sementes e mudas que serão utilizadas em programas de recuperação de áreas degradadas. Sete indivíduos de *E. semicostata* foram encontrados e mapeados em um remanescente florestal em Nova Lima, Minas Gerais, Brasil. O paclobutrazol (PBZ), foi diluído na dose de 20mL em 5 litros de água e aplicado diretamente no solo, em um raio de dois metros ao redor do tronco de cinco árvores. Duas plantas não receberam a aplicação deste regulador de crescimento (testemunhas). A floração e a frutificação de *E. semicostata* foram monitoradas com visitas periódicas a cada 15 dias. Todos os cinco indivíduos que receberam a aplicação do paclobutrazol floresceram seis meses após o tratamento. Três plantas frutificaram dois meses após o florescimento. Estas mesmas árvores, posteriormente, geraram sementes e destas foram produzidas mudas que serão utilizadas em plantios visando recuperar populações naturais desta espécie em seu ambiente natural. As duas plantas utilizadas como testemunha não floresceram, evidenciando a eficiência do PBZ na indução do florescimento. Foram encontrados os seguintes patógenos nas folhas de *E. semicostata*: *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregária*. A dificuldade desta planta em florescer naturalmente pode estar associada a uma série de fatores, incluído a presença de fungos patogênicos nas folhas, que reduzem a área fotossinteticamente ativa que pode afetar a produção de fotoassimilados.

Palavras-chave: floração, frutificação, regulador de crescimento, equilíbrio hormonal, estágio reprodutivo

Abstract

Euplassa semicostata Plana is an endangered tree species of the Proteaceae family, that has a slow reproduction and is endemic to the State of Minas Gerais. Much of its population is located in mining areas at a high risk of suppression. Individuals of this species found in a forest remnant of the mining company Vale S.A. were monitored for years, yet they never flowered. These factors, together, can lead the species to extinction. The objective of this work was to induce the flowering and fruiting of *E. semicostata* trees in the field for the production of seeds and seedlings that will be used in programs for the recovery of degraded areas. Seven individuals of *E. semicostata* were found and mapped in a forest remnant in Nova Lima, Minas Gerais, Brazil. Paclobutrazol (PBZ) was diluted at a dose of 20mL in 5 liters of water and applied directly to the soil, in a radius of two meters around the trunk of five trees. Two plants did not receive the application of this growth regulator (witnesses). Flowering and fruiting of *E. semicostata* were monitored with periodic visits every 15 days. All five subjects who received paclobutrazol application flowered six months after treatment. Three plants fruited two months after flowering. These same trees, later, generated seeds, and from these seeds were produced seedlings that will be used in plantations aiming to recover natural populations of this species in its natural environment. The two plants used as control did not flower, showing the efficiency of PBZ in inducing flowering. The following pathogens were found on the leaves of *E. semicostata*: *Diaporthe* sp. and *Mycosphaerella gregaria*. The difficulty of this plant in flowering naturally may be associated with several factors, including the presence of pathogenic fungi on the leaves, which reduce the photosynthetically active area that can affect the production of photoassimilates.

Key words: flowering, fruiting, growth regulator, hormonal balance, reproductive stage

1. Introdução

Euplassa semicostata Plana é uma espécie arbórea muito rara e pouco conhecida da família Proteaceae. Esta planta é endêmica do estado de Minas Gerais, Brasil, com um único registro no estado da Bahia, Brasil (CNCFlora 2012; Prance e Amorim 2015). Ocorre de forma difusa, em grandes altitudes e em pequenas áreas, em Campos Rupestres e Cerrados de Minas Gerais e na Caatinga baiana (CNCFlora 2012).

As árvores *E. semicostata* são geralmente pequenas, com galhos tomentosos e ferruginosos quando jovens e glabros acinzentados quando mais velhos. As folhas desta planta são compostas por três ou quatro pares de folíolos opostos de coloração verde-clara a marrom. A inflorescência de *E. semicostata* é axilar ou terminal, racemosa simples e raramente ramificada e geralmente floresce em janeiro (Plana e Prance, 2004).

As plantas desta espécie estão sujeitas a grandes ameaças, sendo a mineração e o fogo as mais importantes (Neves e Conceição, 2010). Sua população é extremamente fragmentada com raros registros de coletas em herbários. A reprodução de *E. semicostata* é lenta. Muitos indivíduos, monitorados por empresas interessadas na inclusão desta espécie em programas de recuperação de áreas degradadas, nunca floresceram, ou seja, não foi observado a produção de frutos e sementes.

Sua dificuldade em florescer pode estar relacionada a uma série de fatores internos e externos à planta, inclusive a presença de algumas doenças. Alguns fungos patogênicos, em situações de alta incidência e severidade, podem reduzir a área fotossinteticamente ativa da folha, diminuindo a produção de fotoassimilados (Carnegie e Ades, 2002; Alfenas et al., 2009) e, conseqüentemente, prejudicando sua floração (Taize Zeiger, 2017).

Segundo no Decreto Estadual nº 47.749, de 2019 e no Art. 29 da Resolução Conjunta SEMAD/IEF nº 3.102, de 26 de outubro de 2021, a compensação para o corte de árvores de espécie ameaçada de extinção será determinada na seguinte razão: vinte mudas por exemplar autorizado para espécies na categoria Em Perigo – EM. Ou seja, para cada árvore de *E. semicostata* suprimida é necessário realizar o plantio de 20 mudas como compensação pelo dano causado. Entretanto, por

apresentar propagação lenta e difícil, o cumprimento destas normas se torna muito difícil.

A aplicação de reguladores de crescimento pode induzir a floração e frutificação de diferentes espécies (Gardner et al., 2016). O paclobutrazol, comumente utilizado em diferentes espécies de eucalipto (Santos et al., 2018) e frutíferas (Srilatha et al., 2016), antecipa a fase adulta e induz o florescimento das plantas (Soumya et al., 2017). As espécies nativas brasileiras *Jacaranda mimosifolia* e *Schinus terebinthifolius* floresceram após a aplicação do paclobutrazol (Mendes et al., 2020). Ele atua inibindo a síntese de giberelina, aumentando a concentração de ácido abscísico e citocininas, aumentando a produção de fotoassimilados, sinalizando para a planta que ela pode mudar para a fase reprodutiva (Taiz e Zeiger, 2017). Dessa forma, pode florescer e conseqüentemente produzir frutos e sementes, dando chances de a espécie continuar existindo.

O objetivo deste trabalho foi induzir a floração e frutificação de árvores de *E. semicostata* no campo para a produção de sementes e mudas que serão utilizadas em programas de recuperação de áreas degradadas e caracterizar doenças que podem dificultar o florescimento da espécie.

2. Materiais e Métodos

2.1 Caracterização da área de estudo

Árvores de *E. semicostata* foram encontradas em um remanescente florestal em Nova Lima, pertencente à mineradora Vale SA, localizada no centro do Estado de Minas Gerais, Brasil (20°7'10"S e 43°57'03"W). Formações vegetais variando principalmente entre Floresta Estacional Semidecidual, Cerrado e Campo Rupestre caracterizam esta região, que apresenta temperatura média anual e precipitação de 19,9 °C e 1.258 mm, respectivamente (Jacobi et al., 2008). O município de Nova Lima está localizado a 759 m acima do nível do mar com clima quente e temperado, sendo os meses de julho e dezembro os meses mais secos e chuvosos com precipitação média de 10 mm e 270 mm, respectivamente (INMET 2021).

2.2 Monitoramento da floração

Sete indivíduos de *E. semicostata* foram monitorados durante quatro anos, por meio de visitas periódicas, com o objetivo de registrar a época de floração e frutificação desta planta, bem como coletar sementes para produção de mudas.

2.3 Indução de florescimento

Em julho de 2020, foi aplicado 20 mL de paclobutrazol por árvore para induzir o florescimento de *E. semicostata*. Esse regulador de crescimento foi diluído em cinco litros de água e aplicado diretamente no solo em um raio de até dois metros do tronco de cada árvore. A fonte comercial de paclobutrazol foi o produto Cultar® 250 SC, com 25% de ingrediente ativo. Das sete árvores 5 receberam o tratamento e duas foram utilizadas como testemunha. Após a aplicação do PBZ, o monitoramento do florescimento foi realizado a cada 15 dias.

Para o cálculo da dose aplicada foi estimado o diâmetro médio das copas das árvores e o valor encontrado multiplicado por 6 mL, conforme recomendação do fabricante do produto.

2.4 Caracterização de doenças

Amostras de folhas de *Euplassa semicostata* de todas as árvores matrizes, foram enviadas ao Laboratório de Patologia Florestal/Bioagro da Universidade Federal de Viçosa, para diagnose (Figura 1).



Figura 1: Folha de *Euplassa semicostata* coletadas em Nova Lima/MG, com manchas sugerindo a presença de doenças.

No laboratório foram realizadas análises macro e microscópicas detalhadas, isolamento direto e indireto e análises morfológicas e moleculares para identificação dos microrganismos encontrados (Alfenas et al., 2016). Para a identificação molecular foi realizado o sequenciamento da região ITS (Internal Transcribed Spacer) do DNA ribossomal (rDNA), utilizando os primers ITS1 e ITS4.

3. Resultados

Todas as árvores de *E. semicostata* permaneceram na fase vegetativa durante os quatro anos de monitoramento. Cinco meses após a aplicação do paclobutrazol, todos os indivíduos de *E. semicostata*, que receberam o tratamento, floresceram e, posteriormente frutificaram (Figuras 2 e 3). A frutificação ocorreu em fevereiro de 2021.

As plantas utilizadas como testemunhas não floresceram durante o período de monitoramento.



Figura 2: Ramos floridos de árvores de *Euplassa semicostata* seis meses após a aplicação de 20 mL de paclobutrazol no solo ao redor do tronco de cada árvore.



Figura 3: Frutos e semente de *Euplassa semicostata*, oito meses após a aplicação de 20 mL de paclobutrazol, no solo, ao redor do tronco de cada matriz. A) Fruto na árvore. B e C) Frutos coletados. D) Semente.

As mudas foram produzidas com as sementes de *E. semicostata* coletadas e futuramente serão plantadas em áreas destinadas à restauração (Figura 4).

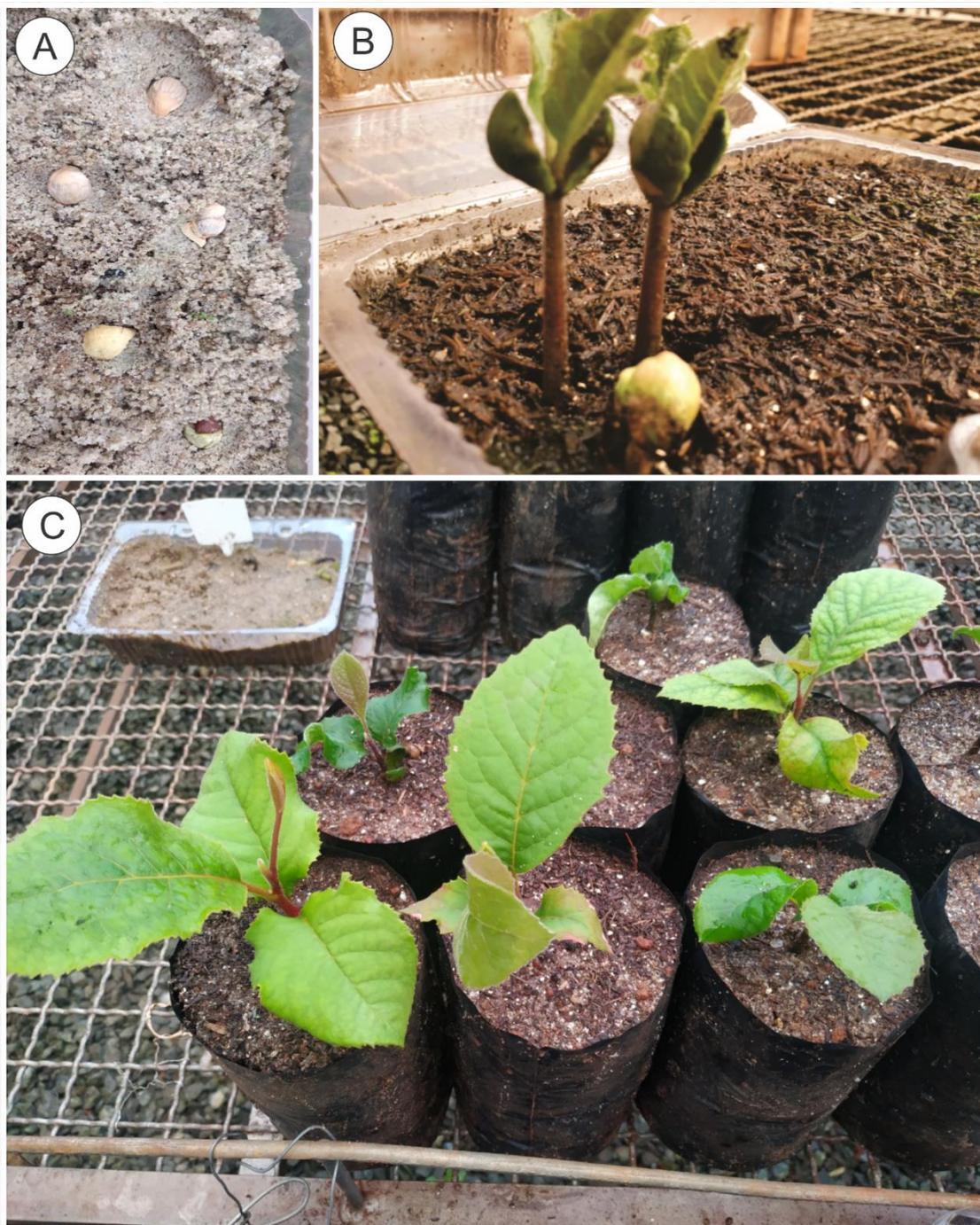


Figura 4: Mudras de *Euplassa semicostata* produzidas com sementes desenvolvidas após a aplicação de 20 mL de paclobutrazol, no solo, ao redor de cada tronco desta planta. A) Sementes sendo colocadas na sementeira. B) Plântulas na sementeira. C) Mudras transferidas para sacolas plásticas.

Foram encontrados os seguintes patógenos nas folhas de *E. semicostata*: *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregaria*. Na amostra de folha (Figura 5) foram

observadas manchas semicirculares de coloração preta (mancha menor) (Figura 5C) e manchas de coloração marrom-clara (mancha maior) (Figura 5B). A partir de cortes histológicos e observação em microscópio de luz verificou-se a presença de ascos e ascósporos (Figura 6).

Após a obtenção de culturas fúngicas puras (Figuras 5D e E), procedeu-se o sequenciamento da região ITS e a partir da análise de similaridade de sequências de nucleotídeos do GenBank usando o BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) do NCBI (National Center for Biotechnology Information), observou-se 97,66% de similaridade com *Diaporthe* sp. (Accession n°: MG976432.1) para o isolado obtido a partir da mancha menor (Figura 5A e 5C) e 95,02% de similaridade com *Mycosphaerella gregaria* (Accession n°: JN695513.1) para o isolado obtido a partir da mancha maior (Figuras 5A e 5B).

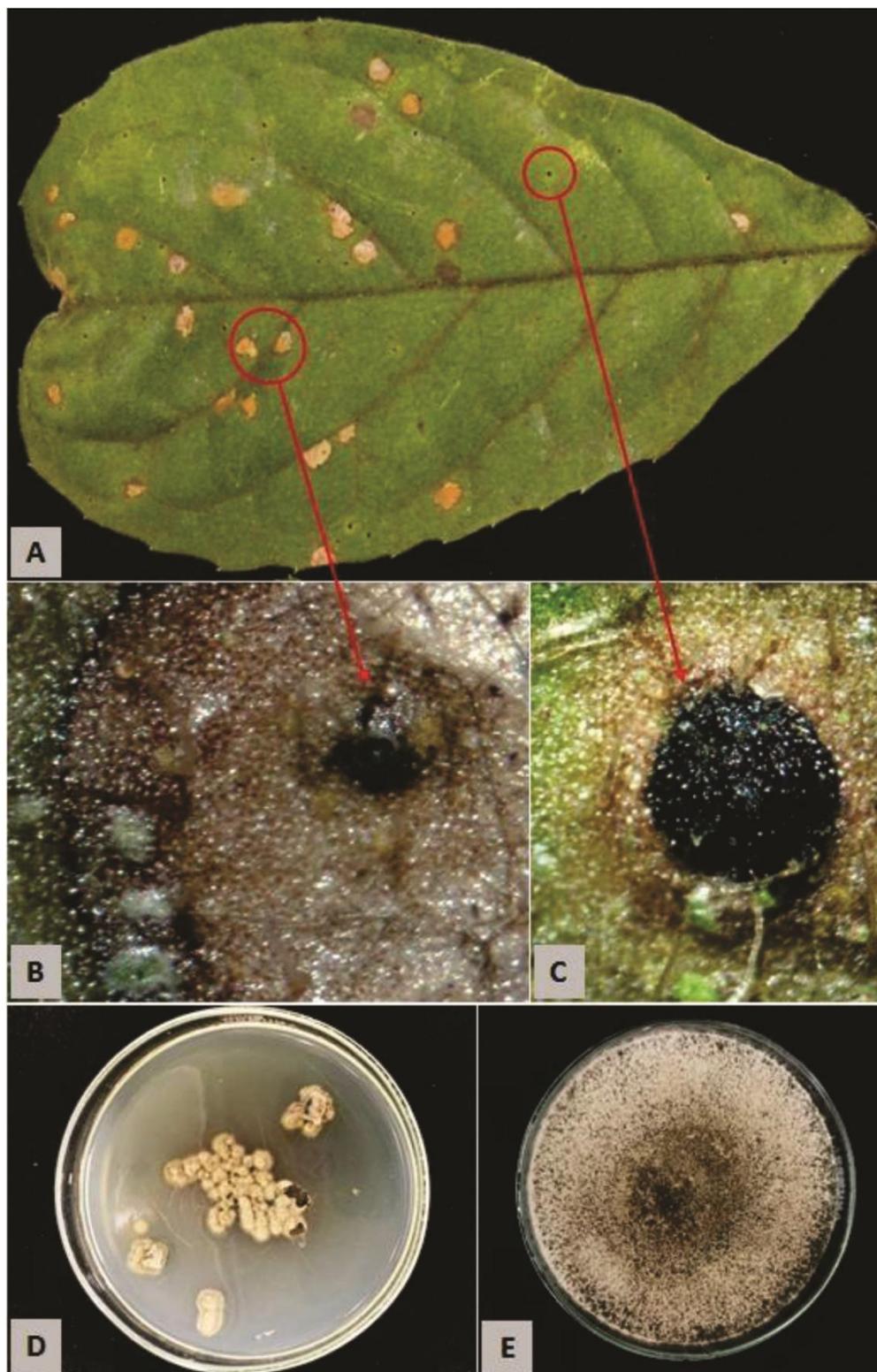


Figura 5: (A) Folha de *Euplassa semicostata* recebida para diagnose com presença de manchas no limbo foliar; (B) Ascoma de *Mycosphaerella gregaria*; (C) Ascoma de *Diaporthe* sp.; (D) Cultura de *Mycosphaerella gregaria* e (E) Cultura de *Diaporthe* sp.

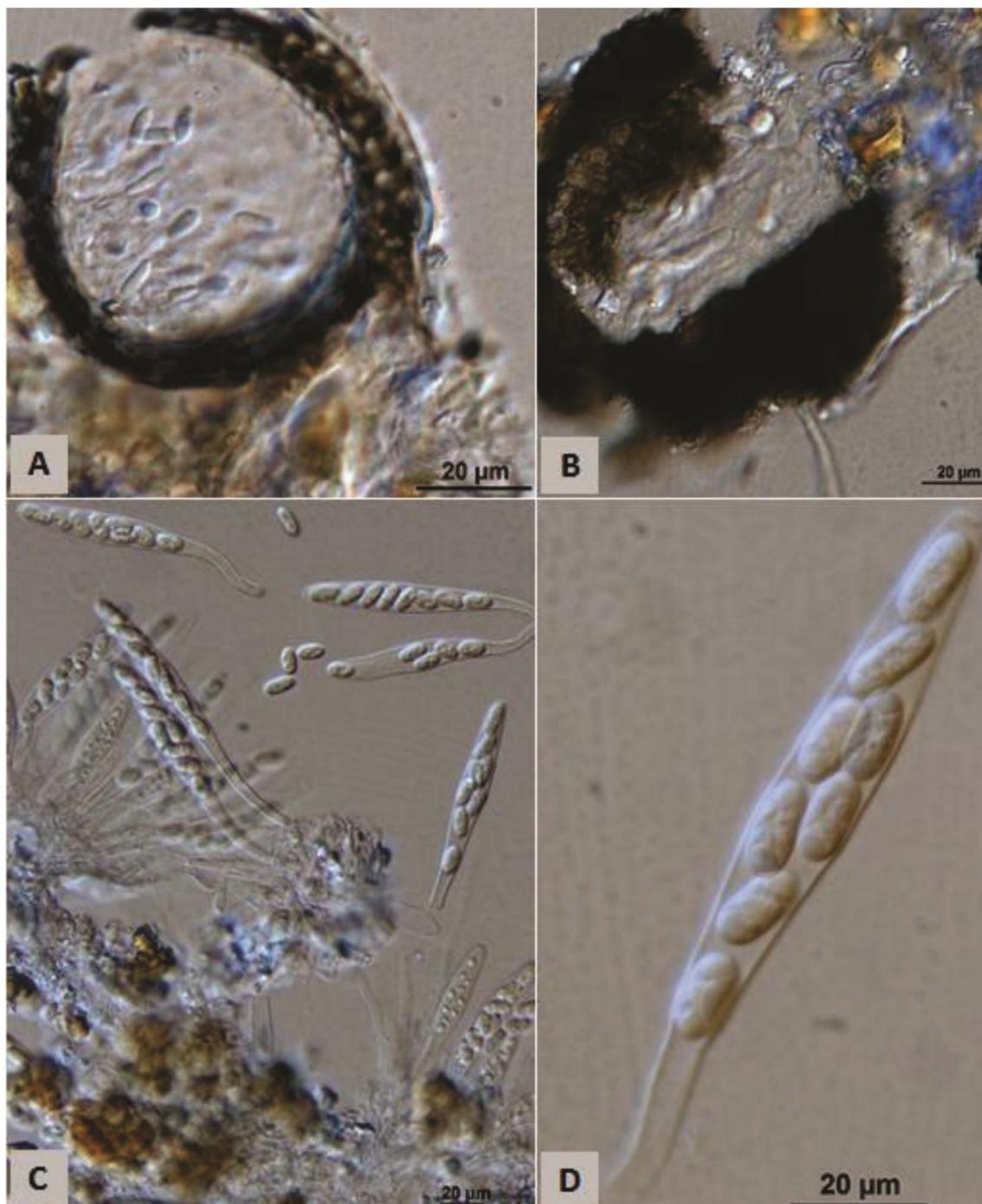


Figura 6: Estruturas fúngicas encontradas em folha de *Euplassa semicostata*, visualizadas sob microscópio de luz: A - B - Ascos e ascósporos de *Mycosphaerella gregaria*; C-D - Ascos e ascósporos de *Diaporthe* sp.

4. Discussões

A dificuldade de *E. semicostata* florescer antes da aplicação do paclobutrazol pode estar relacionada a fatores externos (Silva et al., 2021) como fotoperíodo, temperatura e vernalização (Souza e Funch 2017), além de fatores internos como

nutrição, fitohormônios, genética e, principalmente idade da planta (Menezes 1994). Contudo, também pode estar relacionado à presença de *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregária* que, em situações de alta incidência e severidade nas folhas, podem reduzir a superfície fotossintética, diminuindo a produção de fotoassimilados (Alfenas et al., 2009; Carnegie e Ades, 2002) e, conseqüentemente, prejudicando sua floração (Taiz e Zeiger, 2017).

Não há relatos de *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregaria* causando doenças em *E. semicostata*, contudo esses fungos já foram relatados como patógenos em outros hospedeiros. Por exemplo, espécies de *Diaporthe* podem causar cancrios, morte descendente, podridão de raízes, podridão de frutos, manchas foliares e murcha em uma ampla variedade de hospedeiros de plantas (Udayanga et al., 2011). Analogamente, espécies de *Mycosphaerella* sp. são encontradas associadas a manchas foliares em diversas espécies de plantas. Estas doenças podem provocar enormes perdas de produtividade devido à intensa desfolha (Carnegie e Ades, 2002; Alfenas et al., 2009).

O PBZ é um triazol com efeito fungistático, com capacidade de inibir o crescimento micelial de uma ampla gama de fungos (DeStefano et al., 2007). Este composto tem valores de EC50 (concentração efetiva na qual 50% do crescimento micelial relativo é inibido) parecidos com vários fungicidas (Ok et al., 2011; Allan-Perkins et al., 2017). Portanto, pode ser possível que a sua absorção pela planta tenha reduzido a severidade de *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregaria* aumentando a produção de fotoassimilados e, conseqüentemente, favorecendo o florescimento.

A floração e frutificação de árvores de *E. semicostata* após a aplicação de paclobutrazol se deve ao papel deste regulador de crescimento no balanço hormonal desta planta (Jackson 1993). O PBZ é transportado acroptamente via xilema, embora já tenha sido observado no floema (Kishore et al., 2015). Tem sido utilizado com sucesso para regulação do florescimento em plantas perenes (Nartvaranant et al., 2000). O PBZ inibe a biossíntese de giberelina (Taiz e Zeiger, 2017) e aumenta a síntese do hormônio ácido abscísico (ABA) e fitol, estrutura relacionada a síntese de clorofilas. O ABA também é sintetizado na via dos terpenóides (Desta e Amare, 2021). Desta forma, quando a síntese de GAs é bloqueada, mais precursores na via dos terpenóides são acumulados e desviados para promover a síntese de ABA (Yan et al., 2011) (Figura 4). As giberelinas regulam positivamente o promotor vegetativo (VP) e

negativamente o promotor florigênico (FL) (Nartvaranant et al., 2000), aumentando a relação FL/VP, estimulando o florescimento (Adil et al., 2011) (Figura 7).

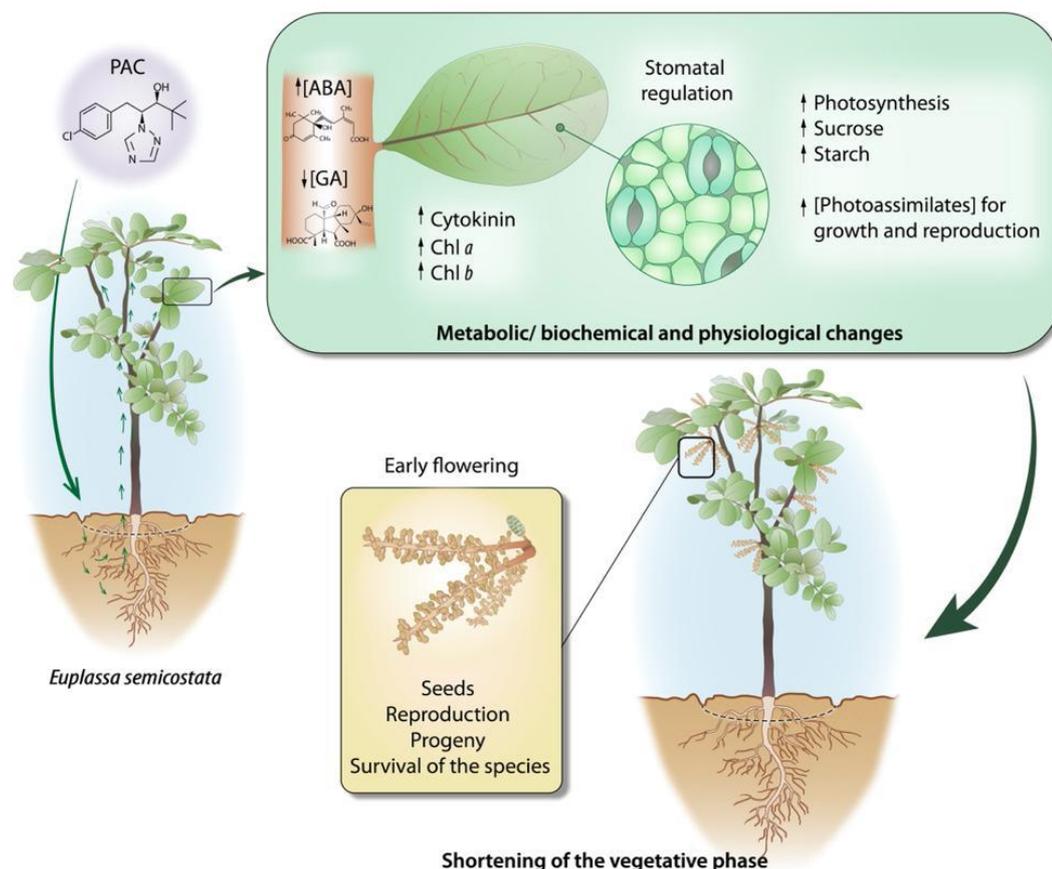


Figura 7: Papel do paclobutrazol na indução do florescimento precoce de plantas de *Euplassa semicostata*. O paclobutrazol (PBZ) aplicado no solo é absorvido pelas raízes e transportado para as áreas de crescimento da planta. O PBZ reduz a síntese de giberelinas (GA) e aumenta o ácido abscísico (ABA), citocininas e clorofilas a e b (Chl a e Chl b). O ABA também atua no controle da abertura e fechamento dos estômatos, tornando a fotossíntese mais eficiente, aumentando assim o armazenamento de açúcar e antecipando a fase adulta da planta.

Plantas tratadas com PBZ também proporcionam uma maior concentração relativa de citocininas, que por sua vez, previnem a degradação de cloroplastos e clorofilas (Yooyongwech et al., 2017; Fan et al., 2020). Ou seja, as clorofilas ficam em atividade por mais tempo, sem precisarem ser repostas, de forma que, tanto pode haver uma maior taxa fotossintética pela sua conservação, como pela sua concentração por área (Taiz e Zeiger, 2017).

Este regulador de crescimento também contribui para um melhor controle da abertura e fechamento estomático da planta tornando-a mais eficiente na absorção de CO_2 e reduzindo as perdas de H_2O (Souza et al., 2016). Além disso, a maior

concentração de clorofila, associada a um maior controle da abertura e fechamento estomático, aumenta a fotossíntese e, conseqüentemente, a produção de fotoassimilados (Taiz e Zeiger, 2017), sinalizando para a planta que ela pode passar da fase vegetativa para a reprodutiva (Upreti et al., 2014; Muengkaew e Chaiprasart, 2016). A planta então floresce e frutifica mais cedo, garantindo a sobrevivência da espécie (Mog et al., 2019)

Muitas espécies florestais apresentam ciclo reprodutivo muito longo, o que pode ser um risco para a sobrevivência destas plantas. Considerando que as áreas de vegetação nativa vêm sofrendo um grande impacto pela ação humana, árvores que apresentam ciclo reprodutivo curto tem maiores chances de deixar descendentes. A aplicação de paclobutrazol em espécies florestais vulneráveis pode ser uma alternativa viável para evitar a erosão genética, ajudando a reestabelecer a planta já na fase reprodutiva, ou seja, pode reduzir o risco, inclusive, de predação antes que a planta possa produzir sementes, repovoando o local (Mendes et al., 2020).

A frutificação de *E. semicostata* possibilita a produção de mudas destinadas a plantios para recuperação de populações naturais desta espécie. A aplicação de paclobutrazol como estratégia para produção de flores e frutos tem sido utilizada principalmente em plantios comerciais, como *Anacardium occidentale* (Mog et al., 2019), *Eucalyptus* spp. (Santos et al., 2018; Castro et al., 2021) e *Mangifera indica* (Oliveira et al., 2020). No entanto, esta técnica mostrou-se muito útil para fins de conservação, podendo ser expandida para outras plantas com dificuldade de floração, como *E. semicostata*.

5. Conclusões

As árvores de *E. semicostata* não floresceram naturalmente durante os quatro anos de monitoramento. Uma única aplicação de paclobutrazol, na dose de 20 mL por planta, induziu o florescimento precoce e, posteriormente, a produção de frutos e sementes desta espécie em campo, possibilitando a produção de mudas para plantios para recuperar as populações naturais dessa espécie em seu ambiente natural e evitar sua extinção.

A tecnologia desenvolvida nesse trabalho, de indução de florescimento precoce de espécies nativas em condições de campo, pode ter ampla aplicação em trabalhos

de conservação genética e restauração florestal de espécies florestais com florescimento tardio ou em que o florescimento não ocorre de forma natural.

Em programas de produção de mudas de espécies em risco de extinção, essa tecnologia também pode ser aplicada como forma de maximizar a produção de sementes e mudas dessas espécies em menor tempo, acelerando a conservação dessas espécies.

6. Referências

- Adil OS, Rahim A, Elamin OM, Bangerth FK. Effects of paclobutrazol (PBZ) on floral induction and associated hormonal and metabolic changes of biennially bearing mango (*Mangifera indica* L.) cultivars during off year. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*. 2011; 6: 55–67.
- Allan-Perkins E, Campbell-Nelson K, Popko Jr JT, Sang H, Jung G. Investigating selection of demethylation inhibitor fungicide-insensitive *Sclerotinia homoeocarpa* isolates by Boscalid, Flurprimidol, and Paclobutrazol. *Crop Science*. 2017; 57(S1): 301-309. doi: 10.2135/cropsci2016.06.0467.
- Castro CAO, Santos GA, Takahashi EK, Nunes ACP, Souza GA, Resende MDV. Accelerating Eucalyptus breeding strategies through top grafting applied to young seedlings. *Industrial Crops and Products*. 2021; 171(1): 13906. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113906.
- CNCFlora. *Euplassa semicostata* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. 2012. [cited 2022 March 14]. Available from: [http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Euplassa semicostata](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Euplassa_semicostata)
- Desta B, Amare G. Paclobutrazol as a plant growth regulator. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2021; 8(1):1-15. doi:/10.1186/s40538-020-00199-z
- DeStefano DA, Grybauskas AP, Sherald JL, Momen B, Huang Q, Sullivan JH. Effect of the growth regulator paclobutrazol on growth of the bacterial pathogen *Xylella fastidiosa*. *Arboriculture & Urban Forestry*. 2007; 33(4):246–252.
- Fan ZX, Li SC, Sun, HL. Paclobutrazol Modulates Physiological and Hormonal Changes in *Amorpha fruticosa* under Drought Stress. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2020; 67(1): 122-130. doi:10.1134/S1021443720010069

- Gardner RAW, Bertling I, Savage MJ, Naidoo S. Investigating optimal site conditions for flower bud production in *Eucalyptus smithii* orchards in South Africa. Australian Forestry. 2016; 79: 137-146. doi: 10.1080/00049158.2016.1159164
- Instituto Nacional de Meteorologia - INMET. 2021. Normais climatológicas do Brasil. [cited 2021 august 09]. Available from: <https://portal.inmet.gov.br/normais>
- Jackson M.B. Are plants hormones involved in root to shoot communication? In Callow, A.J. (ed.), Advanced in botanical research. Academic Press: New York, pp. 103-187. 1983
- Kishore K, Singh HS, Kurian RM. Paclobutrazol use in perennial fruit crops and its residual effects: A review. Indian Journal of Agricultural Sciences. 2015; 85(7): 863-72.
- Mendes G, Santos G, Resende M, Martins S, Souza G, Nunes A, Martins T. Flowering acceleration in native Brazilian tree species for genetic conservation and breeding. Annals of Forest Research. 2020; 66: 39-52. doi:10.15287/afr.2019.1751
- Menezes NS. Factors that affect the sex expression in the plant of cucumber. Ciência Rural. 1994; 24: 209-215. doi:10.1590/S0103-84781994000100042
- Mog B, Janani P, Nayak MG, Adiga JD, Meena R. Manipulation of vegetative growth and improvement of yield potential of cashew (*Anacardium occidentale* L.) by paclobutrazol. Scientia Horticulturae. 2019; 257: 108748. doi: 10.1016/j.scienta.2019.108748
- Muengkaew R, Chaiprasart, P. Effect of paclobutrazol soil drenching on flowering of 'Mahachanok' cultivar. Acta Horticulturae. 2016; 1111: 323-328. doi: 10.17660/Acta Hortic.2016.1111.46
- Nartvaranant P, Subhadrabandhu S, Tongumpai P. Practical aspects in producing off-season mango in Thailand. Acta Horticulturae. 2000; 509: 661-8.
- Neves SPS, Conceição AA. Recently burnt 'campo rupestre' in the Chapada Diamantina, Bahia, Brazil: resprouters and seeders, with endemic rock species. Acta Botanica Brasilica. 2010; 24: 697-707. doi: 10.1590/S0102-33062010000300013
- Ok CH, Popko J, Campbell-Nelson K, Jung G. In vitro assessment of *Sclerotinia homoeocarpa* resistance to fungicides and plant growth regulators. Plant Disease. 2011; 95: 51– 56. doi:10.1094/PDIS-02-10-0098

- Oliveira MB, Figueiredo MGF, Pereira MCT, Mouco MAC, Ribeiro LM, Mercadante-Simões MO. Structural and cytological aspects of mango floral induction using paclobutrazol. *Scientia Horticulturae*. 2020; 262: 109057. doi: 10.1016/j.scienta.2019.109057.
- Plana V, Prance GT. A Synopsis of the South American genus *Euplassa* (Proteaceae). *Kew Bull*. 2004; 59: 27-45.
- Prance GT, Amorim AMA. Proteaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [cited 2021 august 09]. Available from: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB13789>>.
- Santos SMS, Matsumoto SN, Silva RA, Oliveira LS, Viana AES. Modulation of the initial growth of *Eucalyptus* clones using paclobutrazol: when smaller is better. *Australian Journal of Crop Science*. 2018; 12: 610–616. doi: 10.3316/informit.644805361396732
- Silva TRG, Costa MLA, Farias LRA, Santos MA, Rocha JJJ, Silva JV. Abiotic factors in plant growth and flowering. *Research, Society and Development*. 2021; 10: e19710 413817. doi: 10.33448/rsd-v10i4.13817.
- Soumya PR, Kumar P, Pal M. Paclobutrazol: a novel plant growth regulator and multi-stress ameliorant. *Indian Journal of Plant Physiology*. 2017; 22: 267-278. doi: 10.1007/s40502-017-0316-x
- Souza MA, Mesquita AC, Simoes WL, Ferreira KM, Araújo EFJ. Physiological and biochemical characterization of mango tree with paclobutrazol application via irrigation. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 2016; 46: 442-449. doi:10.1590/1983-40632 016v4642829
- Souza IM, Funch LS. Synchronization of leafing and reproductive phenological events in *Hymenaea* L. species (Leguminosae, Caesalpinioideae): the role of photoperiod as the trigger. *Brazilian Journal of Botany*. 2017; 40: 125-136. doi:10.1007/s40415-016-0314-7
- Srilatha V, Reddy YTN, Upreti KK, Venugopalan R, Jayaram HL. Responses of pruning and paclobutrazol in mango (*Mangifera indica* L.): changes in tree vigour, flowering and phenols. *Journal of Applied Horticulture*. 2016; 11(2): 871-878. doi:10.37855/jah. 2016.v18i02.26
- Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 719p. 2017

- Upreti KK, Shivu Prasad SR Reddy YTN, Rajeshwara AN. Paclobutrazol induced changes in carbohydrates and some associated enzymes during floral initiation in mango (*Mangifera indica* L.) cv. Totapuri. *Indian Journal of Plant Physiology*. 2017; 19: 317-323. doi:10.1007/s40502-014-0113-8
- Yan W, Zhang XX, Yuan A. Effects of two plant growth regulators on the growth and recovery of alfalfa seedlings exposed to aluminum stress. *Journal of Shanghai Jiaotong University*. 2011; 29:75-82
- Yooyongwech S, Samphumphuang T, Tisarum R, Theerawitaya C, Cha-um S. Water-deficit tolerance in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] by foliar application of paclobutrazol: role of soluble sugar and free proline, *Frontiers Plant Science*. 2017; 8: 1400.

SEÇÃO 4
CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica de enxertia de garfagem em fenda simples possibilita o resgate de DNA de *D. nigra*, *H. serratifolius* e *C. estrellensis*, com maior sobrevivência e crescimento no mês de agosto (inverno), quando as temperaturas são mais amenas e o metabolismo das plantas é retomado. Dias muito quentes, podem provocar um maior ressecamento dos tecidos, causando a morte dos enxertos.

As mudas produzidas por enxertia retornaram para o local de origem onde estão adaptadas às condições edafoclimáticas, reduzindo o impacto ambiental de eventos como o rompimento de barragens, sobre a estrutura genética das populações em seu ambiente natural. No campo, *H. serratifolius* floresceu e frutificou, garantido sua descendência. A porcentagem de florescimento foi maior nas plantas que receberam aplicação de paclobutrazol. Nas duas espécies, as parcelas com paclobutrazol apresentam maior número de brotos.

Apesar de não ter sido constatada diferença no comprimento e número de brotações em *D. nigra* plantada no sol e na sombra, observa-se uma tendência das mudas plantadas no sol de apresentarem melhores resultados em todos os parâmetros avaliados.

As mudas enxertadas de *H. serratifolius* apresentaram padrão semelhante de crescimento e número de brotações em relação aos diferentes ambientes em que foram plantadas. No entanto, os enxertos de *H. serratifolius* floresceram mais quando plantados em pleno sol, indicando que a exposição desta planta à maiores quantidades de luz favorecem seu florescimento.

A incompatibilidade anatômica entre a *Euplassa semicostata* e as espécies utilizadas como porta-enxertos (*Samanea inopinata*, *Tapirira guianensis*, *Inga vera*, *Pterocarpus violaceous* e *Sapindus saponária*) impossibilita a conexão entre as partes, provocando a morte dos enxertos. Outros fatores que contribuíram para o insucesso desta enxertia são a baixa atividade do tecido cambial e a presença de esclereídes que avançam pelo parênquima radial, fragmentando o câmbio vascular.

A dificuldade de *E. semicostata* florescer antes da aplicação do paclobutrazol pode estar relacionada a presença de *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregaria* que, em situações de alta incidência e severidade nas folhas, podem reduzir a superfície fotossintética. A aplicação de 20 mL de paclobutrazol em árvores de *E. semicostata* no campo promove seu florescimento e possibilita sua propagação.

O longo ciclo reprodutivo da *E. semicostata* pode ser um risco para a sua sobrevivência, uma vez que grande parte da sua população está localizada em área de mineração sujeita a supressão.

A aplicação de paclobutrazol em espécies florestais vulneráveis pode ser uma alternativa viável para evitar a erosão genética, ajudando a reestabelecer a planta já na fase reprodutiva, ou seja, pode reduzir o risco, inclusive, de predação antes que a planta possa produzir sementes, repovoando o local.

A enxertia é uma técnica útil para o resgate vegetativo de matrizes, principalmente de espécies nativas, pois os propágulos podem ser retirados da copa evitando o abate da árvore.

O melhor protocolo para o resgate de DNA das espécies nativas estudadas é realizar a enxertia por garfagem em fenda simples e, logo após, aplicar o regulador de crescimento paclobutrazol e planta-las no ambiente de pleno sol.

A aplicação destes protocolos nestas espécies maximizará os processos de produção de sementes, mudas e a restauração florestal de espécies em risco de extinção, principalmente na indústria de mineração em nível mundial, tendo também amplo uso na área ambiental da indústria de celulose e papel, siderurgia, metalurgia, entre outros.

SEÇÃO 5

ANEXOS

CAPÍTULO 1

**RESGATE DE DNA DE ÁRVORES NATIVAS AFETADAS PELO ROMPIMENTO
DA BARRAGEM EM BRUMADINHO/MG E SEU DESENVOLVIMENTO EM
CAMPO COM APLICAÇÃO DE PACLOBUTRAZOL**

Anexo 1 - Quadros de análise de variância

Tabela 1: Quadro de análise de variância da sobrevivência, 90 dias após a enxertia de três espécies (*Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis*) realizadas em duas diferentes épocas do ano: inverno (agosto) e primavera (novembro).

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>FC
Época do ano	1	3893	3.893,5	23,433	0,0000112
Espécie	2	40898	20.449,0	123,075	0
Época do ano *	2	1287	643,0	3,873	0,1268032
Espécie					
Resíduo	54	8972	166,2		
Total	59	55051			
CV = 24.04 %					

Fonte: Caiafa (2022).

Tabela 2: Quadro de análise de variância do comprimento de brotações com tamanho superior à 10 cm por planta, 90 dias após a enxertia de três espécies (*Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis*) realizadas em duas diferentes épocas do ano: inverno (agosto) e primavera (novembro).

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>FC
Época do ano	1	188,43	188,43	37,518	0,00000011
Espécie	2	797,78	398,89	79,421	-
Época do ano *	2	79,41	39,71	7,906	0,00097420
Espécie					
Resíduo	54	271,21	5,02		
Total	59	336,84			
CV = 54,66 %					

Fonte: Caiafa (2022).

Tabela 3: Quadro de análise de variância do diâmetro de brotações com tamanho superior à 10 cm por planta, 90 dias após a enxertia de três espécies (*Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis*) realizadas em duas diferentes épocas do ano: inverno (agosto) e primavera (novembro).

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>FC
Época do ano	1	6,55	6,55	33,853	0,00000040
Espécie	2	20,61	10,31	3,239	-
Época do ano *	2	1,62	0,81	4,181	0,02061310
Espécie					
Resíduo	54	10,26	0,19		
Total	59	39,04			
CV = NA %					

Fonte: Caiafa (2022).

Tabela 4: Quadro de análise de variância do número de brotações com tamanho superior à 10 cm por planta, 90 dias após a enxertia de três espécies (*Dalbergia nigra*, *Handroanthus serratifolius* e *Cariniana estrellensis*) realizadas em duas diferentes épocas do ano: inverno (agosto) e primavera (novembro).

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>FC
Época do ano	1	0,014286	0,0142860	24	0,000010
Espécie	2	0,062026	0,0310129	52	0
Época do ano *	2	0,001794	0,0008972	1	0,2327800
Espécie					
Resíduo	54	0,032347	0,000599		
Total	59	0,110453			
CV = 54,54 %					

Fonte: Caiafa (2022).

Tabela 5: Quadro de análise de variância do número de brotações, 90 dias após o plantio em campo de mudas enxertadas das espécies *Dalbergia nigra* e *Handroanthus serratifolius*.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>FC
Bloco	4	5,876	1,4593	1,7883	0,14492
Espécie	1	24.141	241.414	295.839	0.000001
PBZ	1	9,971	9,9709	12,219	0,00097
Espécie * PBZ	1	1,19	1,1898	1,458	0,23261
Resíduo	53	43,25	0,816		
Total	60	84,389			
CV = 40,62 %					

Fonte: Caiafa (2022).

Tabela 6: Quadro de análise de variância do comprimento de brotações, 90 dias após o plantio em campo de mudas enxertadas das espécies *Dalbergia nigra* e *Handroanthus serratifolius*.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>FC
Bloco	4	438,95	109,74	7,8698	0,00005
Espécie	1	9,69	9,686	0,695	0,40834
PBZ	1	2,49	2,487	0,1784	0,67448
Espécie * PBZ	1	7,17	7,167	0,514	0,47656
Resíduo	53	739,05	13,944		
Total	60	1197,4			
CV = 49,67 %					

Fonte: Caiafa (2022).

Tabela 7: Quadro de análise de variância do diâmetro de brotações, 90 dias após o plantio em campo de mudas enxertadas das espécies *Dalbergia nigra* e *Handroanthus serratifolius*.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>FC
Bloco	4	4,634	1,1586	1,8441	0,1341
Espécie	1	0,199	0,199	0,317	0,57603
PBZ	1	0,239	0,2392	0,3807	0,53987
Espécie * PBZ	1	0,962	0,9624	1,5319	0,22129
Resíduo	53	33,298	0,6283		
Total	60	39,333			
CV = 64,33 %					

Fonte: Caiafa (2022).

Tabela 8: Quadro de análise de variância do florescimento em campo de mudas enxertadas de *Handroanthus serratifolius* com e sem aplicação de Paclobutrazol (tratamento).

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>FC
Tratamento	1	4,782	4,7817	2,4303	0,12827
Bloco	4	6,209	1,552	0,789	0,54047
Resíduo	34	66,898	1,9676		
Total	60	77,889			
CV = 69,85 %					

Fonte: Caiafa (2022).

Anexo 2 – Fotos das operações de plantio, do florescimento e frutificação.

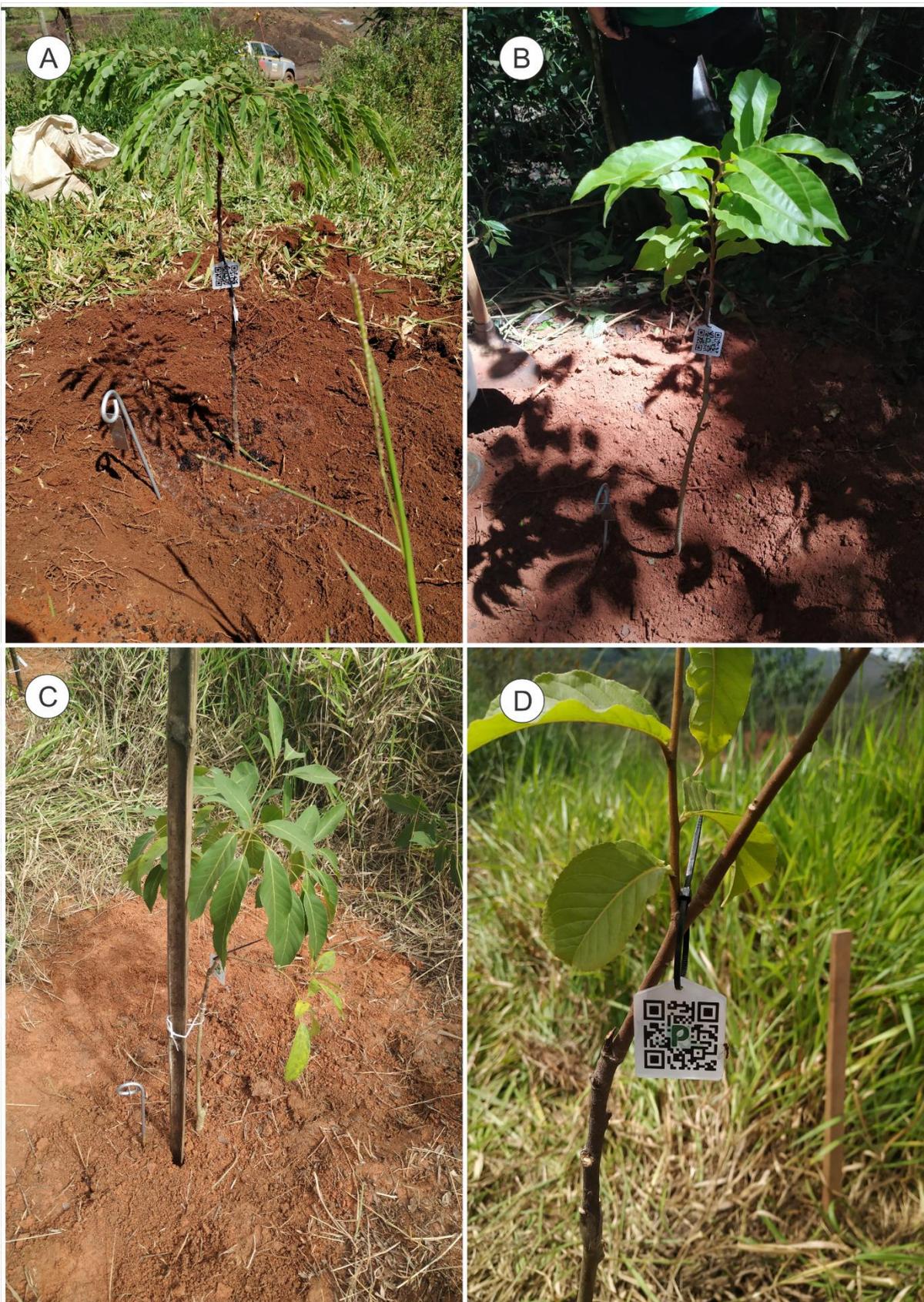


Figura 1: Mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra*) (A), Jequitibá-rosa (*Cariniana estrellensis*) (B) e ipê-amarelo (*Handroanthus serratifolius*) (C) plantadas em Brumadinho/MG, 90 dias após a enxertia. Todas foram identificadas com um QR code contendo informações sobre a árvore matriz (D).

Anexo 3 – Dados climatológicos da estação de Viçosa/MG no ano de 2020, em que as enxertias foram realizadas.

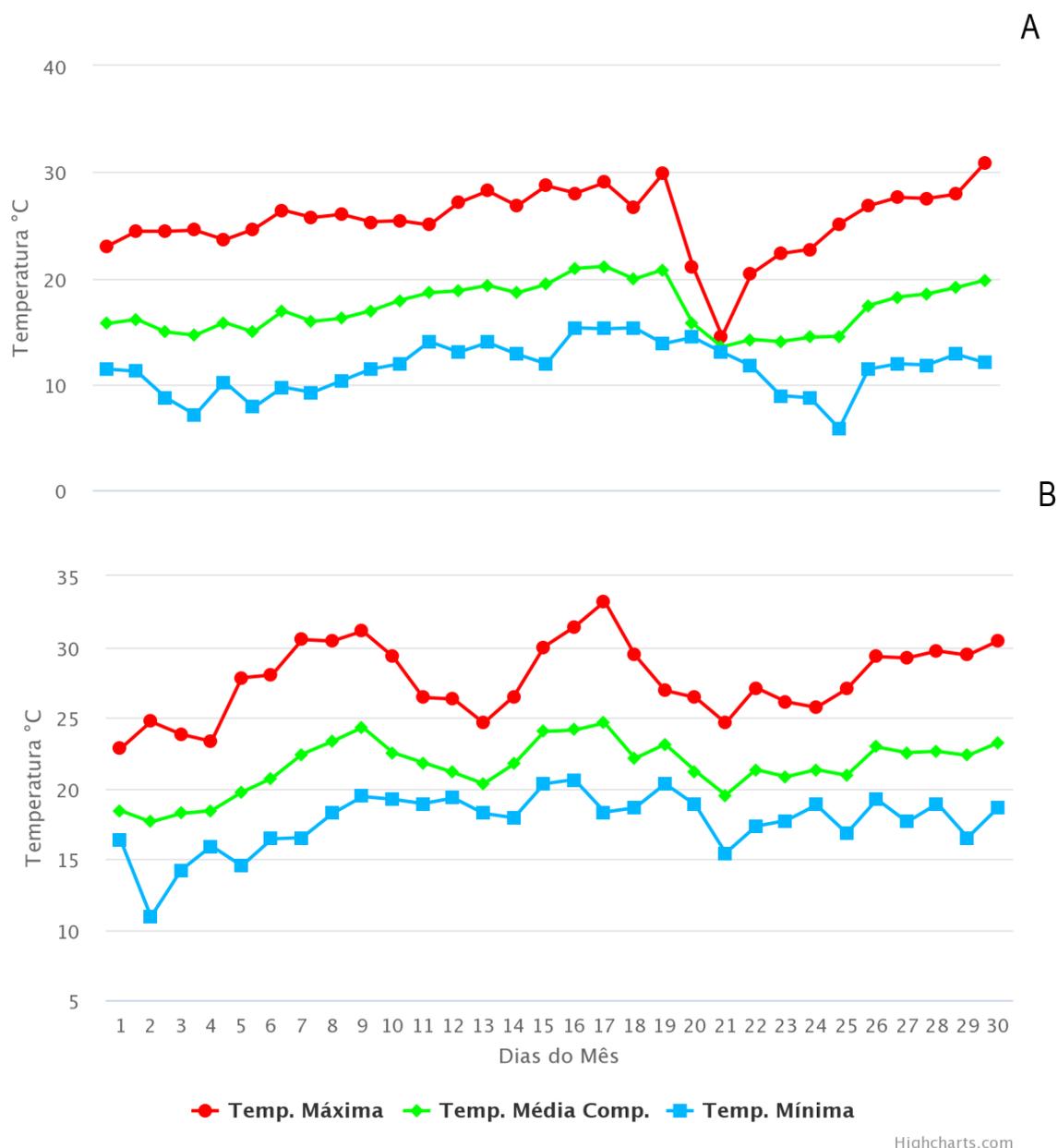


Figura 1: Temperaturas diárias máxima, mínima e média da estação meteorológica de Viçosa/MG (A510) nos meses de agosto (A) e novembro (B) de 2020. Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia.

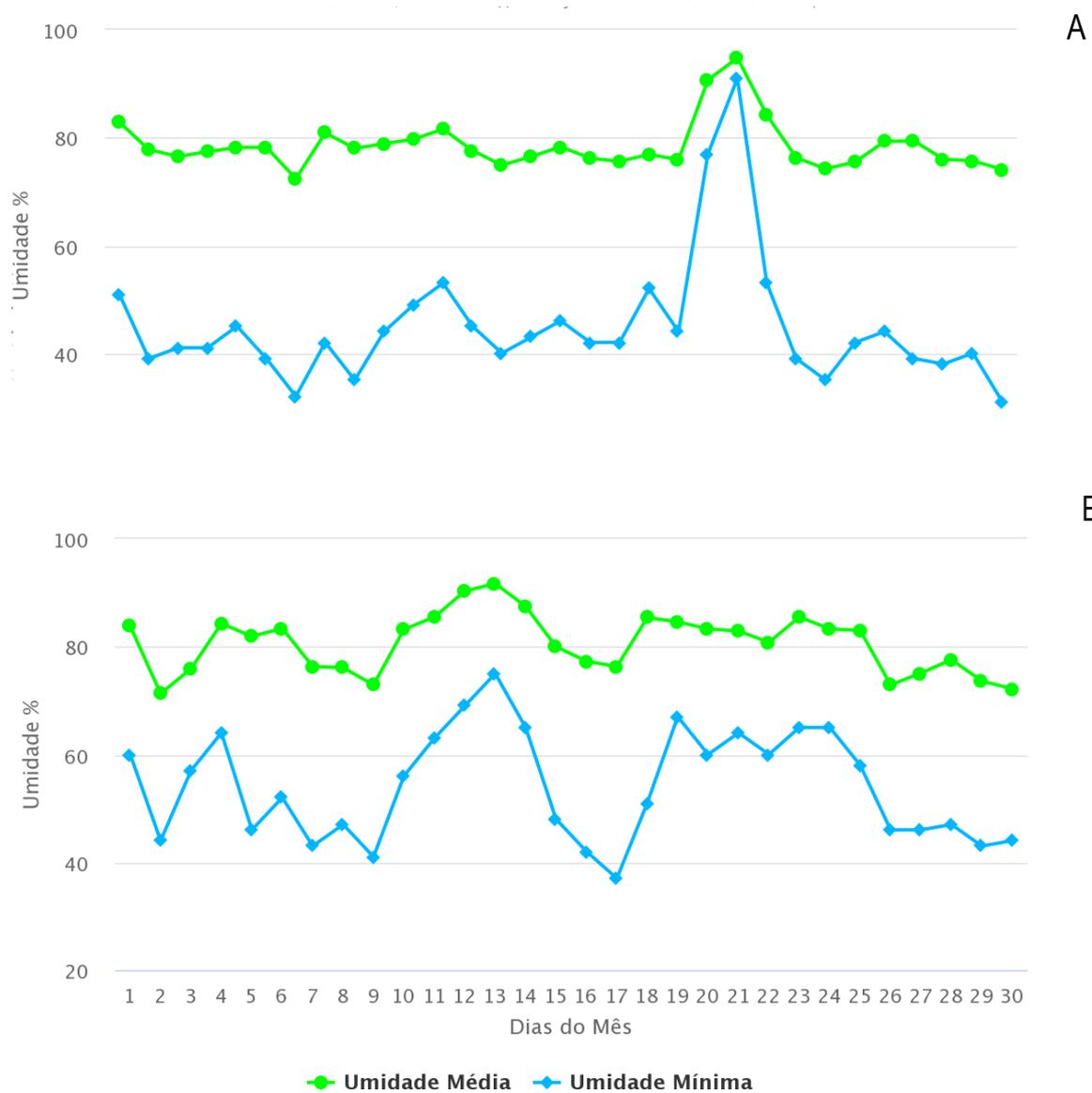


Figura 2: Umidades diárias média e mínima da estação meteorológica de Viçosa/MG (A510) nos meses de agosto (A) e novembro de 2020 (B). Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia.

CAPÍTULO 3

INDUÇÃO DE FLORESCIMENTO E FRUTIFICAÇÃO EM CAMPO DE *Euplassa semicostata* PLANA

Figura 1: Enxertias de *Euplassa semicostata* realizadas em porta-enxertos da mesma espécie, que só puderam ser produzidos em função da aplicação de paclobutrazol nas plantas matrizes.