

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL - PPGEF

JAITON JAIME DAS NEVES SILVA

RESGATE VEGETATIVO, ESTABELECIMENTO *in vitro* E ESTAQUIA
DE *Drimys brasiliensis* Miers

LAGES, SC

2021

JAITON JAIME DAS NEVES SILVA

RESGATE VEGETATIVO, ESTABELECIMENTO *in vitro* E ESTAQUIA DE
Drimys brasiliensis Miers

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Engenharia Florestal pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Marcio Carlos Navroski

Coorientadora: Prof. Dra. Luciana Magda de Oliveira

LAGES, SC

2021

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

DAS NEVES SILVA, JAITON JAIME

Resgate vegetativo, estabelecimento in vitro e estaquia de
Drimys brasiliensis Miers / JAITON JAIME DAS NEVES
SILVA. -- 2021.
51 p.

Orientador: Márcio Carlos Navroski
Coorientadora: Luciana Magda de Oliveira
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal,
Lages, 2021.

1. Revigoração vegetal. 2. Anelamento. 3. Propagação
vegetativa. 4. Cataia. 5. Casca d'anta. I. Navroski, Márcio
Carlos. II. de Oliveira, Luciana Magda. III. Universidade do
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Florestal. IV. Título.

JAITON JAIME DAS NEVES SILVA

RESGATE VEGETATIVO, ESTABELECIMENTO *in vitro* E ESTAQUIA DE
Drimys brasiliensis Miers

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Engenharia Florestal pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina.

Banca examinadora

Orientador:

Dr. Márcio Carlos Navroski
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membros:

Dr. Enéas Ricardo Konzen
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dra. Kelen Haygert Lencina
Universidade Federal de Santa Catarina

Lages, 15 de outubro de 2021.

DECICATÓRIA

A todas as pessoas que estiveram ao meu lado nessa missão, transmitindo fé, amor e confiança, tornando esta caminhada menos difícil.

RESUMO

Drimys brasiliensis, conhecida popularmente como cataia, é uma espécie arbórea nativa da Mata Atlântica que apresenta importância fitoquímica, fitoterapêutica, aromática e econômica, sendo utilizada na fabricação de licores, condimentos, além de amplo uso na medicina popular, dentre outros. É considerada uma espécie de difícil multiplicação via sementes, apresentando dormência por imaturidade embrionária. Assim, objetivou-se com este estudo analisar o resgate vegetativo, estabelecimento *in vitro* e a propagação via estaquia de *Drimys brasiliensis*. Para isso, realizou-se a aplicação das técnicas de anelamento a 30 e 90 cm do solo, semianelamento a 30 cm do solo e galhos podados acondicionados vertical e horizontalmente. Em seguida, foi avaliada a capacidade de emissão de brotações. Com as brotações obtidas no resgate vegetativo, foram confeccionadas as explantes utilizadas na micropropagação em resposta a diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio 1,0 % (v/v) (0, 10, 15 e 20 minutos). Foram avaliadas as percentagens de contaminação total, bacteriana, fúngica e oxidação fenólica. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições de dez explantes. Na estaquia foram testados três tratamentos: brotações obtidas das técnicas de resgate vegetativo, da parte aérea de indivíduo adulto e de galhos destacados e acondicionados em mini-tunel. Foram avaliadas percentagem de sobrevivência das estacas, percentagem de estacas com calos e percentagem de enraizamento. De modo geral, os métodos de resgate vegetativo testados apresentaram potencial na indução de brotações, destacando-se a indução por meio de galhos acondicionados verticalmente. Na micropropagação, a imersão em hipoclorito de sódio se mostrou eficiente no controle da contaminação por fungos; entretanto, não foram observadas diferenças significativas em relação ao controle de contaminação bacteriana. Quanto a estaquia, foram observados melhores resultados para estacas herbáceas, tanto para sobrevivência quanto para formação de calos. Não houve enraizamento de estacas para o período avaliado. Apesar das adversidades encontradas na propagação de espécies florestais nativas, a exemplo de *Drimys brasiliensis*, as vantagens, do emprego desta técnica, estimulam o desenvolvimento de protocolos mais eficientes.

Palavras-chave: Silvicultura clonal; Propagação assexuada; Enraizamento adventício.

ABSTRACT

Drimys brasiliensis, popularly known as cataia, is a tree species native to the Atlantic Forest that has phytochemical, phytotherapeutic, aromatic and economic importance, being used in the manufacture of liqueurs, condiments, in addition to wide use in folk medicine, among others. It is considered a difficult species to multiply via seeds, presenting dormancy due to embryonic immaturity. Thus, the aim of this study was to analyze the vegetative rescue, in vitro establishment and propagation via cuttings of *Drimys brasiliensis*. For this, it was carried out the application of the techniques of girdling at 30 and 90 cm from the ground, semi-curling at 30 cm from the ground and pruned branches conditioned vertically and horizontally. Then, the capacity for emission of shoots was evaluated. With the shoots obtained in the vegetative rescue, the explants used in micropropagation were made in response to different times of immersion in 1.0% sodium hypochlorite (v/v) (0, 10, 15 and 20 minutes). The percentages of total contamination, bacterial, fungal and phenolic oxidation were evaluated. The design used was completely randomized, with three replications of ten explants. Three treatments were tested in the cuttings: shoots obtained from vegetative rescue techniques, from the aerial part of an adult individual and from detached branches and placed in a mini-tunnel. Percentage of cuttings survival, percentage of cuttings with calluses and percentage of rooting were evaluated. In general, the vegetative rescue methods tested showed potential for inducing shoots, with emphasis on induction using vertically conditioned branches. In micropropagation, immersion in sodium hypochlorite proved to be efficient in controlling fungal contamination; however, no significant differences were observed in relation to bacterial contamination control. As for cuttings, better results were observed for herbaceous cuttings, both for survival and for callus formation. There was no rooting of cuttings for the period evaluated. Despite the adversities found in the propagation of native forest species, such as *Drimys brasiliensis*, the advantages of using this technique encourage the development of more efficient protocols.

Key words: Clonal forestry; Asexual propagation; Adventitious rooting.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Diferentes métodos de resgate vegetativo aplicados à espécie *Drimys brasiliensis*: anelamento a 30 cm do solo (a), anelamento a 90 cm do solo (b), semianelamento a 30 cm do solo (c), galhos podados acondicionados verticalmente (d) e galhos podados acondicionados horizontalmente (e).....20
- Figura 2 - Dispersão do número de brotos em função do DAP (cm) em árvores em que foram aplicados os tratamentos de resgate vegetativo de *Drimys brasiliensis*.....25
- Figura 3 - Porcentagem de contaminação total na micropropagação de explantes de *Drimys brasiliensis* submetidas a diferentes tempos de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,0 % (v/v).....26
- Figura 4 - Porcentagem de contaminação por fungos na micropropagação de explantes de *Drimys brasiliensis* submetidas a diferentes tempos de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,0 % (v/v).....27
- Figura 5 - Porcentagem de contaminação por bactérias na micropropagação de explantes de *Drimys brasiliensis* submetidas a diferentes tempos de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,0 % (v/v).....32
- Figura 6 - Porcentagem de oxidação fenólica na micropropagação de explantes de *Drimys brasiliensis* submetidas a diferentes tempos de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,0 % (v/v).....31

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Métodos de resgate vegetativos (tratamentos) e seus respectivos números de repetições testados para a espécie *Drimys brasiliensis* em dois municípios do estado de Santa Catarina.....20
- Tabela 2 - Porcentagem de árvores brotadas em resposta a diferentes métodos de resgate vegetativo aplicados à espécie *Drimys brasiliensis* em duas áreas distintas.....25
- Tabela 3 - Número médio de brotações por indivíduo em resposta a diferentes métodos de resgate vegetativo aplicados à espécie *Drimys brasiliensis* em duas áreas distintas.....26
- Tabela 4 - Porcentagem de mortalidade em resposta a diferentes métodos de resgate vegetativo aplicados à espécie *Drimys brasiliensis* em duas áreas distintas.....27
- Tabela 5 - Porcentagem de sobrevivência, calogênese e enraizamento de estacas de *Drimys brasiliensis* em função de diferentes métodos de resgate.....32

SUMÁRIO

| | | |
|-------------|------------------------------------|-----------|
| 1. | INTRODUÇÃO GERAL | 11 |
| 1.1. | HIPÓTESES | 13 |
| 1.2. | OBJETIVO GERAL | 13 |
| 1.3. | Objetivos específicos | 13 |
| 2. | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 13 |
| 2.2. | Espécie | 13 |
| 2.3. | Resgate vegetativo..... | 15 |
| 2.4. | Propagação vegetativa..... | 17 |
| 2.5. | Micropropagação..... | 18 |
| 3. | MATERIAIS E MÉTODOS | 20 |
| 3.1. | Resgate vegetativo..... | 20 |
| 3.2. | Micropropagação | 22 |
| 3.3. | Estaquia | 24 |
| 4. | RESULTADOS | 25 |
| 4.1. | Resgate vegetativo..... | 25 |
| 4.2. | Estabelecimento in vitro | 28 |
| 4.3. | Estaquia..... | 32 |
| 5. | DISCUSSÃO | 32 |
| 5.1. | Resgate vegetativo..... | 32 |
| 5.2. | Estabelecimento in vitro | 35 |
| 5.3. | Estaquia | 39 |
| 6. | CONCLUSÕES | 43 |
| | REFERÊNCIAS | 44 |

1. INTRODUÇÃO GERAL

Drimys brasiliensis Miers., conhecida popularmente como cataia ou casca d'anta, é uma espécie nativa da Floresta Ombrófila Mista da Mata Atlântica pertencente à família Winteraceae (BACKES e NARDINO, 1998; ABREU et al., 2005). A espécie tem ocorrência em vários Estados do Brasil, principalmente em regiões montanhosas do Sul e Sudeste (MARCHIORI, 1997). A casca d'anta tem várias possíveis utilizações como o uso de sua madeira, no paisagismo e, principalmente, no âmbito medicinal (SIMÕES et al., 1986).

As sementes de *D. brasiliensis* apresentam dormência, em virtude da imaturidade embrionária, que por sua vez, é devido aos seus embriões serem rudimentares necessitando de um período adicional para completar o seu desenvolvimento até que estejam aptas para germinação, o que dificulta a análise dessas sementes e, conseqüentemente, a produção de mudas da espécie (ABREU et al., 2005). Contudo, devido à crescente demanda pelo cultivo de espécies florestais que apresentem algum potencial econômico, ou ainda visando a recuperação de sistemas degradados, diversos estudos têm sido desenvolvidos especialmente relacionados à seleção de genótipos mais adaptados às diversas condições ambientais, maior produtividade e superioridade genética e fisiológica (WENDLING e BRONDANI, 2015) e à propagação vegetativa.

Com o objetivo de maximizar as características de interesse é necessário selecionar materiais genéticos superiores. No entanto, tendo em vista a alta variabilidade dos povoamentos e a conseqüente presença de características genéticas indesejáveis (SOUZA et al., 2009), tornam-se indispensáveis estudos para seleção e propagação vegetativa da espécie. As matrizes selecionadas e, posteriormente, propagadas assexuadamente dão origem aos clones, nesse processo inicialmente ocorre o resgate do material superior. Para tanto, a primeira etapa após a seleção da matriz é a promoção de seu rejuvenescimento ou revigoramento, mediante a indução de brotações juvenis, sendo esse um material fisiologicamente mais apto ao enraizamento e com maior vigor de crescimento (WENDLING et al., 2015). A indução de brotações basais se apresenta como a forma mais eficiente de rejuvenescimento e revigoramento de árvores adultas mediante o corte raso da planta-matriz. Entretanto, a desvantagem do uso deste método de resgate vegetativo, é a perda de copa ou mesmo a perda total do genótipo selecionado (BITENCOURT et al.,

2009; WENDLING et al., 2013), o que justifica a busca por alternativas que possibilitem o rejuvenescimento e revigoramento da planta-matriz, sem que a mesma seja perdida, principalmente em pesquisas envolvendo espécies nativas.

O uso de espécies nativas, visando um retorno econômico ou com o objetivo de recuperação de sistemas degradados, tem sido uma atividade rentável e de grande importância. Entretanto, a falta de conhecimento sobre as técnicas na produção de mudas de plantas nativas e, em algumas situações, a dificuldade de propagação pela via sexuada, em virtude da inviabilidade de suas sementes ou da necessidade de produzir um material com características mais homogêneas, indicam a propagação vegetativa como uma possível alternativa para a multiplicação dessas espécies (DIAS et al., 2012).

Com o uso da propagação vegetativa para produção de mudas, uma técnica amplamente estudada é a micropropagação, que na cultura de tecidos é muito difundida e com maiores aplicações práticas comprovadas (LUZ et al., 2014). Essa técnica tem como principais vantagens a possibilidades de obter várias plantas a partir de um explante inicial, independente da estação do ano; reduz o tempo e a área necessária para a propagação; melhora as condições sanitárias; reproduz indivíduos genotipicamente idênticos a planta-matriz e; propaga vegetativamente espécies que apresentam dificuldade de propagação por outros métodos (ERIG e SCHUCH, 2005). Dentre as fases da micropropagação, o estabelecimento é considerado uma das fases mais importantes do processo, exigindo maiores cuidados principalmente com relação a contaminação do explantes. Outra técnica bastante utilizada é a estaquia (WENDLING e BRONDANI, 2015), que pode propiciar não somente a obtenção de indivíduos idênticos à planta matriz, mas também tem o potencial de aumentar a juvenilidade, a uniformidade e vigor na produção, maximizando o potencial de estabelecimento quando levadas à campo, podendo ainda ser uma ferramenta importante para a propagação de espécies de difícil enraizamento (TOSTA et al., 2012; BADILLA et al., 2016).

Apesar da propagação vegetativa ser uma técnica eficaz, são necessárias pesquisas que aumentem a sua eficiência, principalmente em espécies como a *D. brasiliensis*, a qual apesar de apresentar um grande potencial não é amplamente estudada.

1.1. HIPÓTESES

Com o desenvolvimento do estudo espera-se confirmar ou refutar algumas hipóteses quanto às análises feitas com a espécie *D. brasiliensis*:

- As eficiências das técnicas de resgate vegetativo testadas apresentam diferenças significativas, sendo o anelamento a técnica de maior eficiência no que tange a emissão de brotações.
- No estabelecimento *in vitro*, com o aumento no tempo de imersão em solução desinfestante, ocorre a diminuição da contaminação dos explantes enquanto a oxidação fenólica aumenta.
- Estacas com características herbáceas apresentam melhores resultados relacionados à sobrevivência, formação de calos e enraizamento via estaquia.

1.2. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral da pesquisa foi avaliar a espécie *D. brasiliensis* quanto ao seu resgate vegetativo, estabelecimento *in vitro* e a propagação vegetativa via estaquia.

1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as diferentes técnicas de resgate vegetativo aplicadas mediante a porcentagem de número de árvores brotadas, do número de brotos por indivíduo e a porcentagem de mortalidade;
- Analisar os diferentes tempos de imersão dos explantes em solução de hipoclorito de sódio por meio das percentagens de contaminação total, contaminação fúngica e bacteriana e da oxidação fenólica;
- Avaliar as estacas obtidas a partir de diferentes métodos de resgate vegetativo através das percentagens de sobrevivência, formação de calos e enraizamento.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Espécie (*D. brasiliensis*)

O gênero *Drimys* é o de maior área de ocorrência geográfica da família Winteraceae, abrangendo desde as Filipinas e Bornéu, até a Tasmânia (ABREU et al., 2005). A espécie *D. brasiliensis* é a única do gênero na América do Sul e na flora do Sul do Brasil, ocorrendo desde a Bahia até o Rio Grande do Sul, na Floresta Ombrófila Mista (BACKES e NARDINO, 1998), Floresta Estacional Semidecidual (FIGLIOLIA e PIÑA-RODRIGUES, 1995) e Floresta Ombrófila Densa. É uma espécie heliófila, perenifólia e seletiva hidrófila, ocorrendo em florestas ripárias e pinhais do planalto sul-brasileiro (MARCHIORI, 1997).

D. brasiliensis é um arbusto, arvoreta ou árvore com cerca de 20 m de altura, folhas pecioladas, lâminas obovadas, oblongas ou elípticas, tendo aproximadamente 14,3 cm de comprimento e 5,8 cm de largura, ápice obtuso, arredondado ou emarginado, com margem plana ou revoluta, pecíolos alados ou não, geralmente de 5 a 25 mm de comprimento (ABREU et al., 2005). Suas inflorescências são terminais, raro axilares, longo pedunculadas, geralmente, de 3 a 6 flores, pedúnculos alados ou não, com aproximadamente 18 a 60 mm de comprimento (TRINTA e SANTOS, 1997). A espécie tem flores brancas, pediceladas, com 2 sépalas, pétalas elípticas ou oblongas, e gineceu com 5 a 8 carpelos (CARVALHO, 2008). Floresce de julho a abril com frutificação a partir de outubro no estado de Santa Catarina (TRINTA e SANTOS, 1997) e possui autocompatibilidade, sendo polinizada por insetos e dispersa por pássaros (GOTTSBERGER et al., 1980). Os frutos são múltiplos, livres, constituídos por frutíolos do tipo baga, indeiscentes, camáceos, polispérmicos, as sementes são reniformes e possuem dormência por imaturidade embrionária (ABREU et al., 2005).

A madeira de *D. brasiliensis* tem cor amarelada com largas veias róseas, geralmente castanho-claras, firme e de fácil manuseio, no entanto, possui baixa resistência e em virtude disso tem seu uso recomendado para obras internas, carpintaria, caixotaria, lenha e carvão (TRINTA e SANTOS, 1997; BACKES e IRGANG, 2002; CARVALHO, 2008). Além disso, sua madeira se diferencia dentre as angiospermas da flora brasileira, sendo a única com ausência de elementos vasculares (ABREU et al., 2005). Sua estrutura anatômica é composta integralmente por traqueídeos longitudinais, parênquima axial, raios e grandes pontuações (ABREU et al., 2005). Estes, por serem muito característicos, conferem maior facilidade para a identificação dendrológica da espécie, quando examinados os tecidos internos da casca ou madeira (MARCHIORI, 1997).

De modo geral, *D. brasiliensis* é comumente utilizada como estimulante, antiespasmódica, aromática, antidiarréica, antifebril, contra hemorragia uterina e em certas afecções do trato digestivo, além de apresentar compostos voláteis em sua casca (200 mg/ kg) com propriedades antiedematogênicas e antiinflamatórias (MEROTTO et al., 2017). Ainda segundo estes autores, a espécie é rica em diversos compostos químicos: sesquiterpenos, terpenóides e lignanas na casca, terpenóides e flavonóides nas folhas, com ação antitumoral e substâncias cardioativas. Além disso, na utilização farmacêutica é comercializada sob as formas de tintura e elixir, podendo ainda ser utilizada como condimento para carnes, visto que quando seca, moída e transformada em pó, torna-se um condimento semelhante à pimenta do reino (MARCHIORI, 1997; TRINTA e SANTOS, 1997).

Outras diversas possibilidades de utilização da espécie foram apontadas nos estudos de Malheiros et al. (2005) que detectaram atividade antifúngica dos sesquiterpenos encontrados nas cascas, Cechinel Filho et al. (1998) isolaram e identificaram vários compostos ativos também nas cascas e Ribeiro et al. (2008) verificaram que os óleos essenciais encontrados nas folhas e cascas de *D. brasiliensis* eram letais para carrapatos de gados e cachorros.

2.2. Resgate vegetativo

As espécies florestais apresentam um gradiente de maturação que ocorre no sentido da base para o ápice da árvore, em decorrência do envelhecimento ontogenético da planta (HARTMANN et al., 2011; XAVIER et al., 2013). Nesse sentido, a aplicação das técnicas de resgate na região basal das plantas está relacionada ao fato de que os meristemas desta região são formados em épocas mais próximas à germinação quando comparados aos meristemas formados em regiões terminais (HARTMANN et al., 2011). Assim, as brotações adventícias emitidas pelas plantas nestas regiões detêm características morfológicas e fisiológicas de plantas juvenis, o que é imprescindível para recuperar a capacidade de enraizamento adventício no processo de propagação (ALFENAS et al., 2009).

Para iniciar o processo de propagação vegetativa, é necessário que se realize o resgate do material superior da espécie em estudo. Nesse sentido, após a seleção da matriz de interesse, deve ser promovido o rejuvenescimento ou revigoramento por meio de técnicas, como a indução de brotações juvenis, a fim de obter um material

com maior potencial fisiológico, resultando numa maior possibilidade de enraizamento e com maior vigor de crescimento (WENDLING et al., 2014). O resgate e propagação vegetativa de espécies florestais nativas têm mostrado resultados promissores quanto à indução de brotações epicórmicas como em *Ilex paraguariensis* St. Hil. (NASCIMENTO et al., 2018), *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. (DIAS et al., 2015), *Araucaria angustifolia* Bertol. (WENDLING et al., 2009), *Eremanthus erythropappus* (DC.) Macleish. (MELO et al., 2012) e também em espécies exóticas presentes no Brasil, como *Sequoia sempervirens* D. Don (PEREIRA et al., 2017b), *Tectona grandis* L. f. (BADILLA et al., 2016), *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. (ALMEIDA et al., 2007) e *Toona ciliata* var. *australis* M. Roem. (PEREIRA et al., 2015).

Uma técnica que tem trazido resultados satisfatórios relacionados ao rejuvenescimento e revigoramento de árvores adultas é a indução de brotações basais, com a aplicação do corte raso da matriz selecionada (BITENCOURT et al., 2009). Entretanto, esse método de resgate vegetativo apresenta a desvantagem de perda de copa ou até mesmo a perda total da matriz (WENDLING et al., 2013). Além do corte raso, há outros métodos aplicados para a indução de brotações de árvores adultas, como a enxertia, o anelamento e semianelamento do caule, o uso do fogo na base da árvore e o uso de galhos podados (WENDLING et al., 2013; XAVIER et al., 2013). Estas técnicas possibilitam a obtenção de brotações basais, em que a planta não é submetida ao corte raso e as brotações que ocorrem na parte inferior ao ponto de anelamento são utilizadas na propagação clonal.

Alguns fatores influenciam a eficiência do método aplicado, como a espécie, o genótipo, a época do ano, as condições ambientais e fisiológicas da planta, além da intensidade e da praticidade das técnicas quando realizados o anelamento ou semianelamento (RICKLI-HORST, 2017).

A indução de brotações por anelamento está relacionada a alteração nos níveis hormonais das árvores ocasionadas pela técnica (SANTIN et al., 2008). O dano causado pelos tratamentos provoca a quebra da dominância apical da árvore, propiciando uma alta relação citocinina/auxina, a qual pode ocasionar a emissão das brotações basais (HARTMANN et al., 2011). O anelamento promove uma menor concentração momentânea de auxina em sua parte inferior em função da interrupção do transporte da parte aérea para as raízes (SANTIN et al., 2008) haja vista que, a biossíntese da auxina acontece, principalmente, nos ápices da parte aérea e as raízes, os quais são os principais centros produtores de citocinina nas plantas (TAIZ

e ZEIGER, 2017). Dessa maneira, o decréscimo do balanço auxina/citocinina é responsável pela indução de brotações (RICKLI-HORST, 2017).

Quanto à utilização do método de galhos podados, a indução de brotações compõe também uma possibilidade de obtenção de brotações destinadas ao resgate vegetativo de árvores selecionadas, entretanto, devem ser aplicado de forma criteriosa, pois usam tecidos que, em razão da sua posição na árvore, podem estar fisiologicamente maduros, afetando o enraizamento adventício da brotação emitida e, conseqüentemente, influenciar no desempenho silvicultural do clone no plantio futuro (RICKLI-HORST, 2017). No Brasil, estudos envolvendo espécies arbóreas nativas, ainda são escassos, o que os torna indispensáveis para aumentar ainda mais o uso dessas espécies (STUEPP et al., 2018).

2.3. Propagação vegetativa

A propagação de plantas pode ocorrer de duas formas: sexuadamente, via sementes, ou assexuadamente, na qual é feita naturalmente por meio de bulbos, tubérculos e rizomas ou através de intervenção humana, na enxertia, mergulhia, alporquia, estaquia e micropropagação (BASTOS et al., 2020).

Apesar da propagação sexuada conferir maior adaptabilidade a determinados genótipos de uma nova geração, a qualidade e uniformidade das mudas produzidas são minimizadas (XAVIER et al., 2013). Plantas de origem seminal podem produzir sementes com diversidade genética, bem como apresentam dificuldades relacionadas a superação de dormência, além do longo período de germinação (DUTRA et al., 2009). Dessa forma, os métodos de propagação assexuada têm sido uma alternativa viável para a propagação de diversas espécies, tendo em vista que esses métodos possibilitam que as características genéticas das plantas propagadas sejam conservadas, sendo a estaquia uma técnica de fácil execução, além de ser ter grande utilidade e importância no âmbito florestal (HARTMANN et al., 2011).

A propagação vegetativa assexuada possibilita a regeneração dos tecidos vegetais a partir de estruturas vegetativas produzindo uma nova planta, conseqüentemente, não depende da produção de sementes (ALMEIDA et al., 2007). Ou seja, refere-se à multiplicação de um vegetal através de tecidos que possuem a capacidade de retomar suas atividades meristemáticas, sem que ocorra

recombinação gênica, uma vez que se utilizam segmentos vegetativos como caules, folhas ou raízes (HARTMANN et al., 2011).

A micropropagação é aplicada visando principalmente a obtenção de clones de interesse comercial, especialmente aqueles que apresentam dificuldades de propagação clonal por outras técnicas em função do grau de maturação dos propágulos utilizados (XAVIER et al., 2009; TITON et al., 2002). Já a estaquia, que consiste no método mais difundido na propagação vegetativa, é uma técnica de grande importância na área florestal (VILLA et al., 2017), sendo uma alternativa para a propagação de espécies nativas, com possibilidade de ser utilizada para fins comerciais, bem como no resgate e conservação de recursos genéticos florestais, pois possibilita a diminuição do tempo de obtenção das mesmas, promove a uniformidade de enraizamento, além de reduzir o período juvenil e, conseqüentemente, provoca a antecipação do florescimento (HARTMANN et al., 2011; XAVIER et al., 2013).

Entretanto, diversas espécies apresentam baixa capacidade de enraizamento (HARTMANN et al., 2011), processo que é influenciado por fatores como a ocorrência de injúrias; o balanço hormonal; o genótipo da planta doadora; o nível endógeno de inibidores; as condições nutricionais e hídricas da planta matriz, e fatores extrínsecos da estaca, como época do ano, tipo de estaca, temperatura, umidade e luminosidade (DUTRA et al., 2009; XAVIER et al., 2013).

Desse modo, a fim de empregar a espécie *D. brasiliensis* em plantios e ampliar suas possibilidades de uso, é necessário buscar informações de modo a estabelecer um protocolo adequado que garanta o sucesso na sua propagação, por conseguinte, reduzindo o tempo de produção de mudas, além de promover o desenvolvimento da espécie em condições de campo de forma a garantir o seu estabelecimento em sistemas de cultivo, principalmente em nível comercial.

2.4. Micropropagação

A micropropagação vegetal consiste, de modo geral, no cultivo de propágulos vegetativos, sob condições controladas, os quais são induzidos a produzir novas gemas que serão multiplicadas em tais condições, a cada novo ciclo de cultivo com a utilização de regulares de crescimento e meio nutritivo adequado (HARTMANN et al., 2011). Essa técnica é uma alternativa que possibilita a obtenção de um número elevado de mudas com maior controle fitossanitário, qualidade e homogeneidade

(GUPTA et al., 2020) com resultados superiores com relação ao seu estabelecimento em campo quando comparados a plantas adultas obtidas por mudas convencionais (SALOMÃO et al., 2016).

Na micropropagação qualquer parte vegetativa da planta pode ser utilizada como fonte de propágulos, porém, dependendo das características do material, algumas partes são mais favoráveis que as outras (FERRARI et al., 2004). A micropropagação de espécies florestais pode ser realizada por meio da proliferação de gemas axilares, organogênese e embriogênese somática (XAVIER et al., 2013). A variabilidade genética entre espécies e dentro da mesma espécie requer ajustes da metodologia para cada material genético, tornando processo dispendioso (WENDLING et al., 2006). O processo de micropropagação via proliferação de gemas axilares provenientes de propágulos vegetativos obtidos tanto de plântulas como de material adulto, corresponde à técnica mais utilizada na propagação *in vitro* de várias espécies lenhosas (OLIVEIRA et al., 2013).

O método de micropropagação é realizado seguindo um determinado procedimento padrão, em que os explantes provenientes de material vegetal coletado no campo, em casa de vegetação, ou ainda germinados *in vitro* são submetidos a uma limpeza e desinfestação prévia ao estabelecimento *in vitro* (DUTRA et al., 2009). Posteriormente, os explantes são multiplicados, alongados, enraizados *in vitro* ou *ex vitro*, e por último, aclimatizados em ambiente *ex vitro* (OLIVEIRA et al., 2013).

Dentre os entraves existentes na micropropagação, a recalcitrância de várias espécies e a contaminação por microrganismos, tanto de origem exógena quanto endógena, caracterizam os principais problemas relacionados ao estabelecimento das culturas *in vitro* (XAVIER et al., 2013). Além disso, existe uma variação nas respostas dadas pelas plantas submetidas à técnica de micropropagação, estando relacionadas à espécie, variedade e/ou cultivar, período de ano em que a coleta foi realizada, tipo de explante e condições de cultivo (WENDLING et al., 2006).

Tendo em vista as potencialidades da *D. brasiliensis*, justificam-se estudos que auxiliem o desenvolvimento silvicultural da espécie, aumentando a possibilidade de implantação de plantios comerciais, além da conservação do germoplasma.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Resgate vegetativo

O material vegetativo foi coletado nos municípios de Urupema e São Joaquim - Santa Catarina, em florestas nativas de propriedades privadas. O município de Urupema localiza-se nas coordenadas geográficas 27°57'14.6"S, 49°52'27.6"W e São Joaquim na latitude de 28°17'19", e na longitude de 19°55'54" a oeste do meridiano de Greenwich (SANTA CATARINA, 2021). Segundo a Köppen e Geiger o clima de ambos os municípios é classificado como Cfb (ALVARES et al., 2013). Os municípios apresentam pluviosidade significativa mesmo em meses mais secos (CLIMATE-DATA, 2020). A temperatura média anual em Urupema é 14.1 °C e 14.0 °C em São Joaquim.

No experimento de resgate vegetativo foram selecionadas 56 árvores, sendo 29 em Urupema e 27 em São Joaquim, nas quais foram aplicados diferentes métodos de resgate vegetativo (Tabela 1).

Tabela 1 - Métodos de resgate vegetativos (tratamentos) e seus respectivos números de repetições testados para a espécie *D. brasiliensis* em dois municípios do estado de Santa Catarina.

| Município | Tratamento | Nº de repetições (indivíduos) |
|------------------|---------------------------|-------------------------------|
| Urupema (SC) | Anelamento (100%) | 15 |
| | Semianelamento (50%) | 14 |
| São Joaquim (SC) | Anelamento (30 cm) | 9 |
| | Anelamento (90 cm) | 9 |
| | Galhos podados/horizontal | 9 |
| | Galhos podados/vertical | 9 |

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

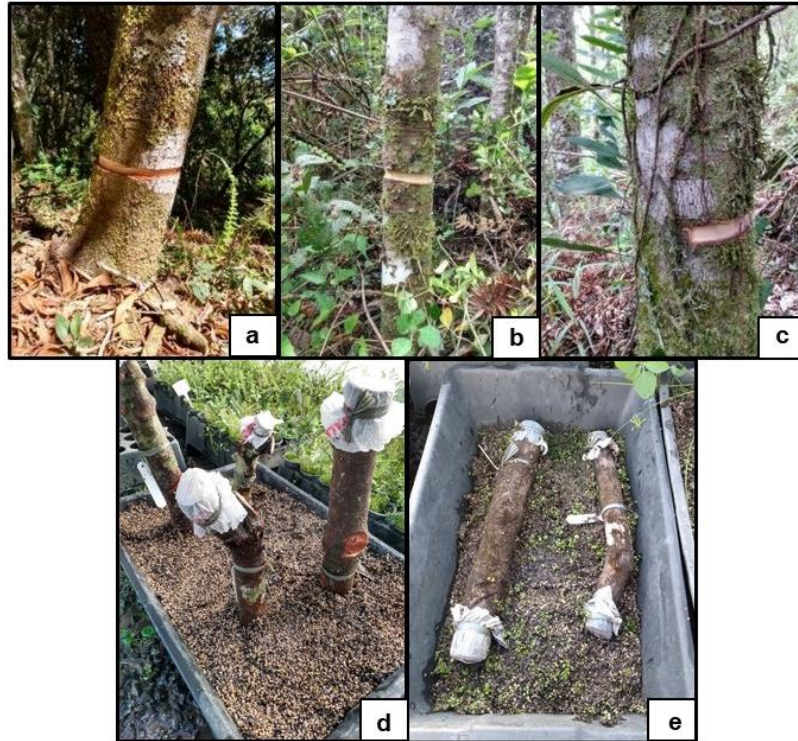
Nos dois locais de coleta o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado. Em Urupema foram aplicados dois tratamentos, contendo quinze repetições (cada indivíduo constituiu de uma repetição) para o anelamento e quatorze repetições para o semianelamento, ambos aplicados a 30 cm do solo. A diferença se deu pela impossibilidade de mais indivíduos no mesmo local e com as mesmas condições. Em São Joaquim foram aplicados quatro tratamentos com nove repetições para todos os tratamentos. Para o tratamento de coleta de galhos vivos podados, estes foram obtidos de nove matrizes diferentes, sendo retirados dois galhos de cada matriz, um

acondiçionado verticalmente e outro horizontalmente. Para ambos foi considerado um comprimento médio de 50 cm de material retirado da árvore matriz. A não padronização dos tratamentos nas duas áreas deu-se em virtude do número limitado de matrizes disponíveis, objetivando-se realizar diferentes estudos de métodos de resgate.

As árvores selecionadas apresentaram boas condições estruturais físicas, nutricionais e fitossanitárias, além de obedecerem a um distanciamento mínimo de 50m entre si, evitando-se indivíduos com coeficientes de parentesco mais elevado. As técnicas de resgate vegetativo foram aplicadas em dezembro de 2019. Para os procedimentos de anelamento e semianelamento foram seccionadas duas linhas transversais ao tronco, em que foi cortada somente a espessura da casca de cada árvore e, posteriormente, removeu-se o anel de 2 cm de largura entre as linhas seccionadas em 100% da circunferência da árvore no anelamento e em 50% da circunferência no semianelamento. Os galhos tiveram suas extremidades envolvidas em plástico a fim de evitar a perda excessiva de umidade (Figura 1). Posteriormente, foram transportados para o Viveiro Florestal localizado no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UDESC) em Lages – Santa Catarina, sendo armazenados em mini-tunel (estufim), com quatro irrigações diárias de cinco minutos cada.

Para a indução de brotações em campo foram realizadas duas avaliações. A primeira aos 180 dias e a segunda aos 390 dias, após a aplicação das técnicas de resgate. As brotações foram coletadas com um comprimento mínimo de 3 cm, armazenadas em saco plástico com papel umedecido e transportadas em isopor com gelo. Foram quantificados o número de árvores brotadas, o número de brotações por indivíduos a fim de avaliar a influência das técnicas de resgate sobre o número de brotações, além da mortalidade, que também foi avaliada, com o objetivo de analisar se a aplicação das técnicas de resgate vegetativo, seguindo esta metodologia, pode levar a perda considerável de indivíduos. Foi ainda realizado o cálculo de correlação a fim de avaliar a possível relação entre a percentagem de mortalidade e o diâmetro das árvores estudadas. Para os galhos podados, cada galho foi considerado como um indivíduo, sendo igual avaliado quando ao brotamento, número de brotações e mortalidade. Foram considerados galhos vivos aqueles retirados de plantas vivas com presença de folhas, indicando ser fisiologicamente ativos.

Figura 1. Diferentes métodos de resgate vegetativo aplicados à espécie *D. brasiliensis*: anelamento a 30 cm do solo (a), anelamento a 90 cm do solo (b), semianelamento a 30 cm do solo (c), galhos podados acondicionados verticalmente (d) e galhos podados acondicionados horizontalmente (e).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2021.

Após atestada a normalidade dos dados mediante o teste de Kolmogorov-Smirnov, foi realizada a ANOVA ($p < 0.05$), seguida do teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014).

3.2. Estabelecimento *in vitro*

Os explantes utilizados na micropropagação de *D. brasiliensis* foram obtidos a partir de brotações induzidas pelas técnicas de anelamento e semianelamento realizadas no município de Urupema, visto que as matrizes localizadas em São Joaquim, em que também foram aplicados métodos de resgate, não apresentaram um número de brotações suficiente para inclusão nesse teste.

As brotações foram coletadas, reduzindo a área foliar à 50% a fim de diminuir a perda de umidade, e logo após foram levadas ao Laboratório de Propagação e Melhoramento de Espécies Florestais – LAPROMEFL, localizado no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UDESC) em Lages – Santa Catarina. Posteriormente, os explantes foram lavados em água corrente, por cerca de 30 minutos, a fim de lixiviar substâncias fenólicas e a reduzir contaminantes superficiais. Após esta higienização inicial, visando a desinfestação, os explantes foram submersas em detergente neutro (1 ml L^{-1}), por 1 minuto, e, a seguir, enxaguadas com água estéril. Os explantes apresentaram de 2,0 – 2,5 cm de comprimento contendo, pelo menos, um par de gemas axilares. Em seguida, os explantes foram imersos em solução de etanol a 70%, por 30 segundos, enxaguados com água estéril e, posteriormente, imersos em solução de hipoclorito de sódio a 1,0 % (v/v) durante três diferentes tempos de imersão: 0, 10, 15 e 20 minutos. Após a aplicação do hipoclorito de sódio, os explantes foram lavadas três vezes com água estéril e, imediatamente introduzidas nos frascos.

Os explantes foram introduzidos em frascos de vidro com capacidade para 150 ml, nos quais foram adicionados igualmente 30 ml de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com 50% da concentração de sais, 30 g L^{-1} de sacarose e 6 g L^{-1} de ágar. O pH do meio de cultura foi ajustado para $5,8 \pm 0,1$, antes da adição do ágar, e em seguida autoclavados à temperatura de $121 \text{ }^\circ\text{C}$ ($1,5 \text{ kgf cm}^{-2}$) por 20 minutos. Foram adicionados, ainda, 250 mg L^{-1} de polivinilpirrolidona (PVP), com a finalidade de reduzir a oxidação fenólica.

A fase de estabelecimento foi realizada em sala de crescimento, com temperatura $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas de luz, a uma intensidade luminosa de $30 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Cinco dias após a introdução dos explantes, iniciaram-se as avaliações diárias do experimento, durante os 10 dias subsequentes, obtendo-se informações sobre a percentagem de contaminação total (contaminantes junto aos explantes, independentemente do microrganismo causador); percentagem de contaminação bacteriana (presença de colônias bacterianas junto aos explantes); percentagem de contaminação fúngica (contaminações compostas por micélios fúngicos junto aos explantes); e a percentagem de oxidação fenólica (escurecimento dos explantes).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições, sendo cada repetição representada por dez frascos contendo uma explante cada. Os dados de cada avaliação (5 a 10 dias) foram

submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov e, posteriormente, foi realizada a ANOVA ($p < 0.05$), seguida do teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014).

3.3. Estaquia

A coleta de parte do material vegetativo utilizado no estudo foi realizada na população localizada no município de São Joaquim – SC em floresta natural. Os três tratamentos testados foram compostos por brotações obtidas através da aplicação das técnicas de resgate (anelamento e semianelamento), brotações retiradas de partes áreas de um indivíduo adulto e brotações de galhos podados acondicionados em mini-tunel. Para o tratamento com estacas coletadas de indivíduo adulto, este possuía 17,3 de DAP e 5,70 de altura. Para este tratamento selecionou-se apenas uma árvore matriz, para a retirada das brotações, a fim de anular a variação genotípica e de modo a considerar somente as variações causadas pelos diferentes tratamentos.

Após a coleta, as brotações obtidas de campo foram acondicionadas em sacos plásticos com papel umedecido e colocadas em isopor com gelo, onde foram transportadas para o Viveiro Florestal do Centro de Ciências Agroveterinárias, localizado no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UDESC) em Lages – SC, para a confecção das estacas e, posteriormente, a instalação do experimento.

As estacas foram submetidas a uma dose padrão de AIB sendo essa de 6000 mg L⁻¹. As estacas foram imergidas em solução de AIB (solução hidroalcolólica de 50%) por 15 segundos antes de serem colocadas nos tubetes de 280 cm³ com substrato contendo em sua composição, segundo o fabricante, vermiculita expandida e casca de pinus, e apresenta características como capacidade de retenção de água - CRA 55%, condutividade elétrica de 0,326 $\mu\text{s}/\text{cm}$, densidade seca de 264,0 (kg m⁻³) pH de 6,0 e umidade máxima de 52%. As bandejas com as estacas foram acondicionadas em mini-tunel, por 140 dias, com temperatura no intervalo de 20 e 30°C, umidade relativa do ar (UR) superior a 80%, e irrigadas com auxílio de nebulizadores.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, contendo três repetições de nove estacas cada. As variáveis que foram estudadas quanto à utilização de estacas obtidas por meio de diferentes métodos de resgate de *D. brasiliensis* foram: percentagem de sobrevivência, de formação de calos e

enraizamento das estacas. Foram consideradas estacas sobreviventes aquelas que apresentarem lenho vivo, com folhas velhas ou brotações novas. Para quantificação de calos, foram observados na base da estaca a presença de estruturas arredondadas e esbranquiçadas indicando a existência de calos.

Após atestada a normalidade dos dados mediante o teste de Kolmogorov-Smirnov, foi realizada a ANOVA ($p < 0.05$), seguida do teste de Tukey a 5% de significância com o auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014).

4. RESULTADOS

4.1. Resgate vegetativo

Quanto às técnicas de resgate utilizadas do município de Urupema, houve diferenças significativas na porcentagem de árvores brotadas após 180 dias entre o anelamento e semianelamento, ambos aplicados a 30 cm do solo, em que o semianelamento obteve menor sucesso com apenas 9,1% de árvores brotadas, mostrando-se pouco eficiente na indução de brotações. Após 390 dias, não houve diferenças significativas entre esses métodos de resgate, apesar do anelamento ter apresentado um número maior de árvores brotadas (Tabela 2).

Tabela 2 - Porcentagem de árvores brotadas em resposta a diferentes métodos de resgate vegetativo aplicados à espécie *D. brasiliensis* em duas áreas distintas.

| Experimento | Tratamento | % árvores brotadas | |
|------------------------------|---------------------------|--------------------|----------|
| | | 180 dias | 390 dias |
| % de anelamento (Urupema) | Anelamento (100%) | 55,6 a* | 61,1 a |
| | Semianelamento (50%) | 9,1 b | 27,3 a |
| | Média | 32,4 | 44,2 |
| | CV% | 25,5 | 26,5 |
| | p -valor | 0,0111 | 0,0818 |
| Método/resgate (São Joaquim) | Anelamento (30 cm) | 33,3 b | 38,1 a |
| | Anelamento (90 cm) | 25,0 b | 50,0 a |
| | Galhos podados/horizontal | 62,5 ab | 25,0 a |
| | Galhos podados/vertical | 100,0 a | 75,0 a |
| | Média | 55,2 | 44,1 |
| | CV% | 23,6 | 24,9 |
| | p -valor | 0,0052 | 0,0297 |

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de médias Tukey ($P < 0.05$).

Já na área de São Joaquim, as técnicas de anelamentos não diferenciaram significativamente entre si quando comparadas quanto as alturas de aplicação, alcançando um máximo de 33,3% de árvores brotadas após 180 dias. Entretanto, o resgate por galhos podados, especialmente os acondicionados verticalmente, mostrou ser o método mais eficiente na indução de brotações epicórmicas de árvores de *D. brasiliensis*, visto que todos os galhos podados que se encontravam na casa de vegetação no mini-tunel sob irrigação por nebulização emitiram brotações após 180 dias de acondicionamento.

O semianelamento a 30 cm do solo, além de não ter se mostrado viável para a indução de brotações ao analisar a porcentagem de árvores brotadas, também apresentou média baixa de brotações por indivíduos (0,3 por árvore). Já o anelamento apresentou desempenho superior, alcançando o número de 3,3 brotações por indivíduos (Tabela 3).

Tabela 3 - Número médio de brotações por indivíduo em resposta a diferentes métodos de resgate vegetativo aplicados à espécie *D. brasiliensis* em duas áreas distintas.

| Experimento | Tratamento | Nº de brotações por indivíduo | |
|------------------------------|---------------------------|-------------------------------|----------|
| | | 180 dias | 390 dias |
| % de anelamento (Urupema) | Anelamento (100%) | 3,3 a* | 1,5 a |
| | Semianelamento (50%) | 0,3 b | 0,3 b |
| | Média | 1,8 | 0,9 |
| | CV% | 61,6 | 41,7 |
| | <i>p</i> -valor | 0,0108 | 0,0177 |
| Método/resgate (São Joaquim) | Anelamento (30 cm) | 1,0 b | 0,7 b |
| | Anelamento (90 cm) | 1,5 b | 2,0 ab |
| | Galhos podados/horizontal | 4,8 b | 0,7 b |
| | Galhos podados/vertical | 13,6 a | 3,9 a |
| | Média | 43,5 | 11,0 |
| | CV% | 45,6 | 41,4 |
| | <i>p</i> -valor | 0,0000 | 0,0129 |

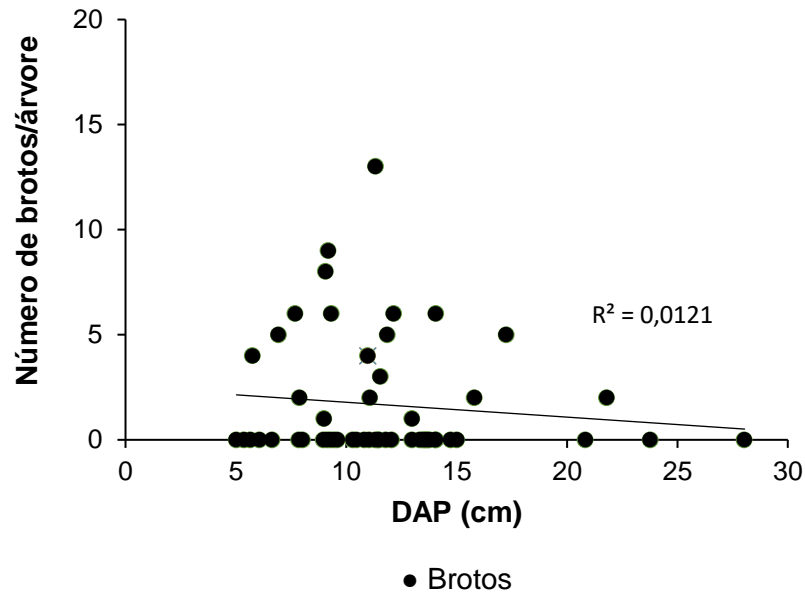
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de médias Tukey ($P < 0.05$).

A técnica de galhos podados além de ter apresentado maior porcentagem de árvores brotadas, também apresentou maior número de brotações por indivíduos (13,6 por árvore). Foi observada uma redução no número de brotações da primeira avaliação, realizada aos 180 dias, para a segunda, realizada após 390 dias de acondicionamento.

Não foi observada correlação significativa entre o número de brotações por árvore e o diâmetro a altura do peito, independentemente do método de resgate aplicado (p -valor > 0.05) (Figura 2).

Figura 2 - Dispersão do número de brotos em função do DAP (cm) em árvores em que foram aplicados os tratamentos de resgate vegetativo de *D. brasiliensis*.



Nos indivíduos analisados no município de Urupema, foi possível observar a morte de árvores em que foram aplicadas as técnicas de anelamento e semianelamento a 30 cm do solo (Tabela 4).

Tabela 4 - Porcentagem de mortalidade em resposta a diferentes métodos de resgate vegetativo aplicados à espécie *D. brasiliensis* em duas áreas distintas.

| Experimento | Tratamento | Mortalidade (%) | |
|------------------------------|---------------------------|-----------------|----------|
| | | 180 dias | 390 dias |
| % de anelamento (Urupema) | Anelamento (100%) | 16,7 a* | 22,2 a |
| | Semianelamento (50%) | 9,1 a | 9,1 a |
| | Média | 12,9 | 16,7 |
| | CV% | 23,6 | 25,1 |
| | p -valor | 0,5821 | 0,3817 |
| Método/resgate (São Joaquim) | Anelamento (30 cm) | 23,8 b | 33,3 b |
| | Anelamento (90 cm) | 0,0 a | 0,0 a |
| | Galhos podados/horizontal | 0,0 a | 0,0 a |
| | Galhos podados/vertical | 0,0 a | 0,0 a |
| | Média | 6,0 | 8,3 |
| | p -valor | 0,1499 | 0,0424 |

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de médias Tukey ($P < 0.05$).

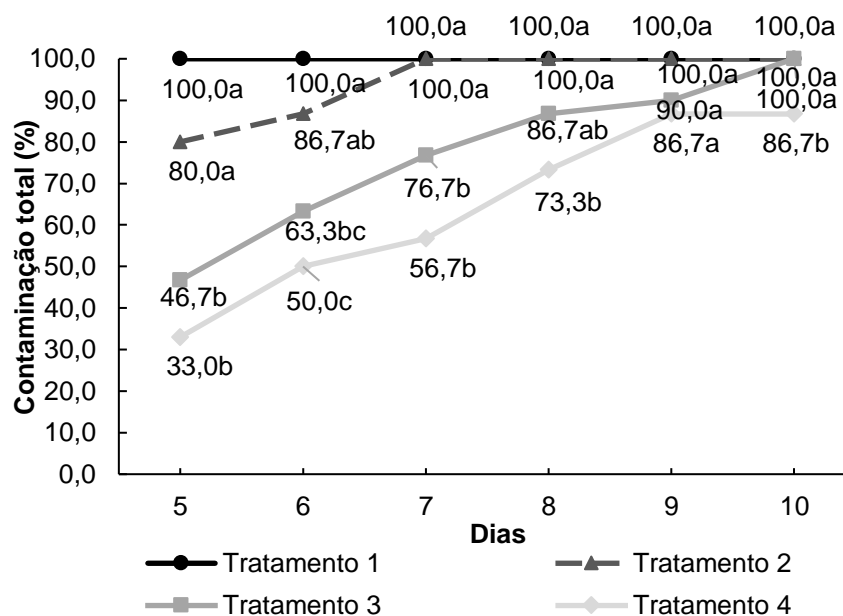
Quanto as técnicas aplicadas nas árvores na área de São Joaquim, o tratamento a 30 cm do solo foi o único método que apresentou alguma mortalidade, ao contrário do anelamento a 90 cm do solo e os indivíduos que tiveram os galhos podados, os quais não houve registro de morte de árvores.

Foi ainda realizado o cálculo de correlação a fim de avaliar se há relação entre as variáveis diâmetro à altura do peito (DAP) e mortalidade, entretanto, não houve correlação significativa entre as variáveis ($r = -0,17$ a um nível de significância de 0,05). Desse modo, a mortalidade pode estar atribuída a outros fatores, haja vista que os métodos de resgate foram aplicados de forma padronizada com relação à altura do solo, espessura e profundidade do anelamento.

4.2. Estabelecimento *in vitro*

Em relação à contaminação total, todos os tratamentos apresentaram contaminação após iniciadas as avaliações diárias do quinto ao décimo dia, após a introdução dos explantes (Figura 3).

Figura 3 - Porcentagem de contaminação total na micropropagação de explantes de *D. brasiliensis* submetidas a diferentes tempos de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,0 % (v/v).



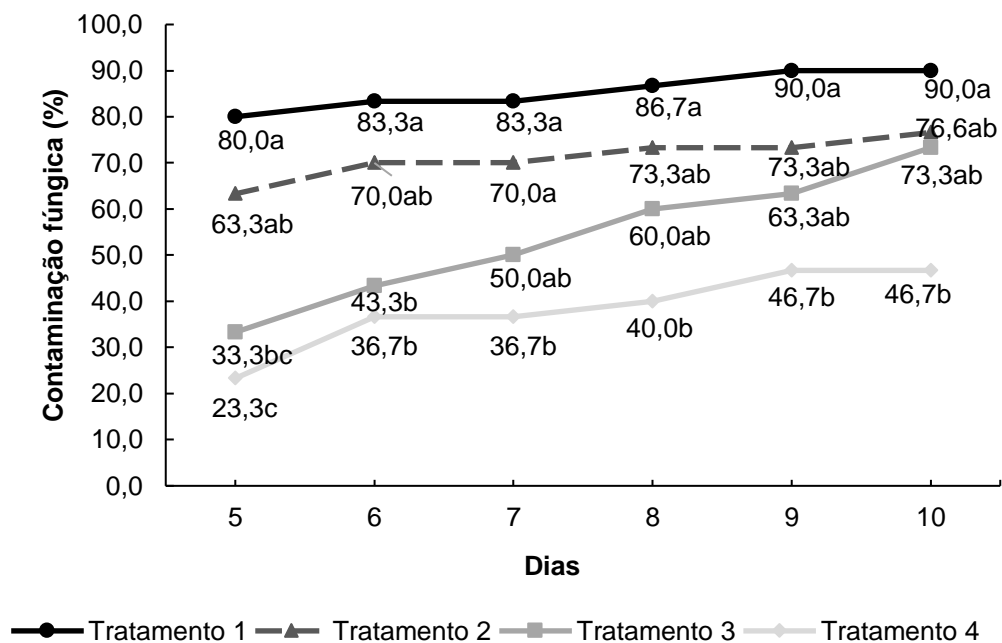
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de médias Tukey ($P < 0,05$).
 Tratamento 1: 0 minutos de imersão; Tratamento 2: 10 minutos de imersão; Tratamento 3: 15 minutos de imersão; Tratamento 4: 20 minutos de imersão.

Os resultados mostram que na primeira avaliação, ocorrida ao quinto dia após a introdução, o tratamento em que os explantes não foram submetidos à imersão em hipoclorito de sódio, apresentou 100% de contaminação, não diferindo estatisticamente do tratamento com imersão por 10 minutos, que apesar de ter apresentado 80% de contaminação na primeira avaliação, alcançou os 100% de contaminação ao sétimo dia. Inicialmente, os tratamentos 3 e 4 (15 e 20 minutos de imersão, respectivamente) apresentaram menores porcentagens de contaminação total; no entanto, o tratamento com 15 minutos de imersão obteve 100% de contaminação ao final das avaliações, enquanto o tratamento com 20 minutos apresentou 86,7%, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Os quatro tratamentos apresentaram variações relacionadas à contaminação fúngica (Figura 4).

Figura 4 - Porcentagem de contaminação por fungos na micropropagação de explantes de *D. brasiliensis* submetidas a diferentes tempos de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,0 % (v/v).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

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

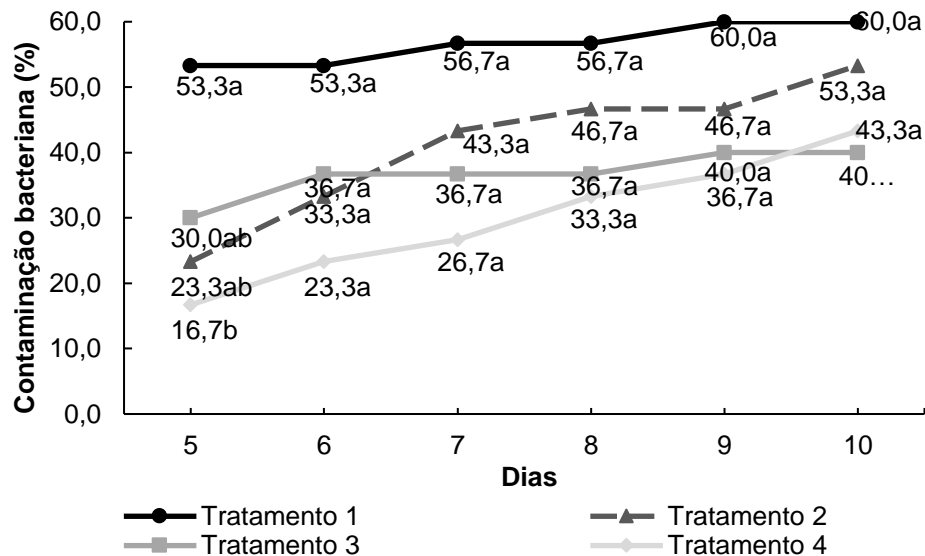
Tratamento 1: 0 minutos de imersão; Tratamento 2: 10 minutos de imersão; Tratamento 3: 15 minutos de imersão; Tratamento 4: 20 minutos de imersão.

Os tratamentos com tempo de imersão de 0 e 20 minutos foram os que apresentaram a maior e a menor porcentagem de contaminação, respectivamente,

durante todo o tempo de avaliação, com o máximo de 90,0% de contaminação fúngica para 0 minutos de imersão. A imersão por 20 minutos, apesar do aumento na contaminação (46,7%), ainda permaneceu como o melhor tratamento, sendo verificada a diferença estatística quando comparado aos demais.

Quanto a contaminação causada por bactérias, os tratamentos avaliados apresentaram menores percentagens em comparação a contaminação por fungos (Figura 5).

Figura 5 - Porcentagem de contaminação por bactérias na micropropagação de explantes de *D. brasiliensis* submetidas a diferentes tempos de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,0 % (v/v).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

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

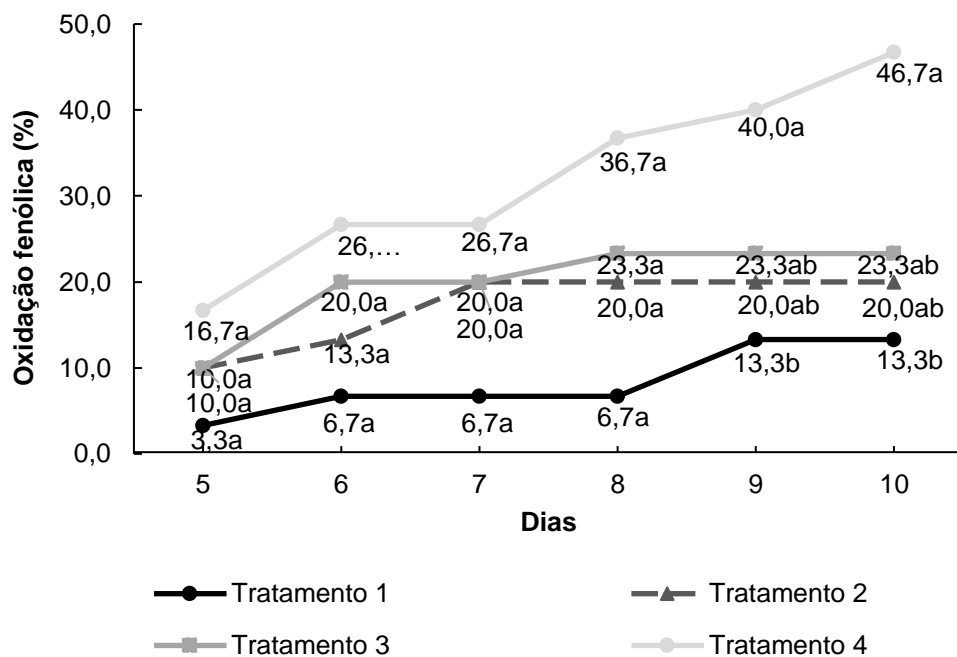
Tratamento 1: 0 minutos de imersão; Tratamento 2: 10 minutos de imersão; Tratamento 3: 15 minutos de imersão; Tratamento 4: 20 minutos de imersão.

Inicialmente, os quatro tratamentos apresentaram percentagens de contaminação por bactérias, no entanto, o tratamento em que não houve imersão em hipoclorito de sódio apresentou maior percentagem de contaminação (53,3%) enquanto o tratamento de maior tempo de imersão (20 minutos) apresentou a menor percentagem (16,7%). Contudo, apesar de a partir do segundo dia de avaliação nenhum dos tratamentos ter apresentado diferenças significativas, as menores médias de contaminação ocorreram em resposta aos dois tratamentos (3 e 4) com maiores tempos de imersão em solução de hipoclorito, 15 e 20 minutos. Esses resultados sugerem que o uso da solução de hipoclorito de sódio, para os tempos de

imersão e concentração analisadas nesse estudo, não possui influência quanto à contaminação bacteriana para a espécie estudada.

A percentagem de oxidação fenólica para os tratamentos testados apresentou baixa variação no período inicial, com médias variando entre 3,3% e 16,7% não apresentando diferença significativas entre si. (Figura 6).

Figura 6 - Percentagem de oxidação fenólica na micropropagação de explantes de *D. brasiliensis* submetidas a diferentes tempos de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,0 % (v/v).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

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

Tratamento 1: 0 minutos de imersão; Tratamento 2: 10 minutos de imersão; Tratamento 3: 15 minutos de imersão; Tratamento 4: 20 minutos de imersão.

Quanto a oxidação fenólica do material vegetativo utilizado na micropropagação, não houve diferença estatística entre os tratamentos no período do quinto ao oitavo dia de avaliação, contudo, ao final das avaliações realizadas ao décimo dia, o tratamento de maior tempo imersão em solução de hipoclorito (tratamento 4) foi responsável pela maior percentagem de oxidação fenólica (46,7%), diferenciando-se estatisticamente do tratamento 1, o qual não se utilizou a solução de hipoclorito na assepsia dos explantes.

4.3. Estaquia

Com relação a estaquia da espécie *D. brasiliensis* a maior percentagem de sobrevivência foi apresentada pelo tratamento com estacas obtidas a partir da técnica de galhos podados acondicionados em mini-tunel (68,0%), diferenciando-se estatisticamente do tratamento em que foram utilizadas estacas obtidas das partes aéreas da planta (Tabela 5).

Tabela 5 - Percentagem de sobrevivência e calogênese de estacas de *D. brasiliensis* em função de diferentes métodos de resgate.

| Método de resgate | Sobrevivência (%) | Calos (%) | Enraizamento (%) |
|-----------------------------|-------------------|-----------|------------------|
| Parte aérea | 33,3 b* | 0,0 a | 0,0 a |
| Anelamento e semianelamento | 54,2 ab | 33,3 b | 0,0 a |
| Galhos podados | 68,0 a | 48,0 b | 0,0 a |

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de médias Tukey ($P < 0.05$).

Quanto à formação de calos, o tratamento com estacas obtidas de partes aéreas da planta não apresentou calos em nenhuma estaca, apresentando diferença estatística quando comparado aos tratamentos com estacas oriundas dos tratamentos de resgate anelamento/semianelamento e galhos podados que obtiveram resultados superiores. Não foi observada formação de raízes em nenhum dos tratamentos testados dentro do período de avaliação do estudo (140 dias).

5. DISCUSSÃO

5.1. Resgate vegetativo

A técnica de anelamento apresentou maior eficiência com relação ao número de árvores brotadas, comparada ao semianelamento, entretanto, não foram observadas diferenças significativas quanto a sua aplicação a diferentes alturas do solo. O maior número de árvores brotadas por meio do anelamento pode ser atribuída a quebra de dominância apical causada pelo corte total do floema, que afeta o balanço hormonal entre auxina e citocinina, fotossimilados e metabolismo na área anelada (DIAS et al., 2015). A auxina é um hormônio vegetal responsável pelo desenvolvimento de regiões apicais com biossíntese ocorrendo, principalmente, em

tecidos de rápida divisão celular e crescimento, especialmente nas partes aéreas, enquanto a citocinina é produzida principalmente no sistema radicular das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2017). Nascimento et al. (2018) constataram em seu estudo que o semianelamento produziu menor número de brotos quando comparado ao anelamento, apesar de mais longos em *Ilex paraguariensis*. Dias et al. (2015), avaliando o corte raso e anelamento, alcançaram 90% de indução de brotos em árvores de *Anadenanthera macrocarpa*.

O baixo desempenho do método de semianelamento, nas condições experimentais testadas, pode ser atribuído a remoção parcial da circunferência da árvore, o que pode não ter sido suficiente para causar o desbalanço hormonal necessário para a emissão de brotações. No mesmo sentido, Carvalho (2020) estudando resgate de matrizes e propagação vegetativa de *Plathymenia reticulata* Benth. obteve somente 40% de suas matrizes com emissão de brotos, ao empregar a técnica de semianelamento, além de terem ocorrido em menor número. Resultados semelhantes foram observados no estudo de Meneguzzi (2017) com *Persea willdenovii*. Pereira et al. (2015), ao analisar o resgate vegetativo e propagação da espécie *Toona ciliata* também obteve maior número de brotos em árvores em que foi aplicado o anelamento em comparação ao semianelamento, apontando esta primeira técnica como viável, tendo em vista que resultou em um número médio de brotos razoável (2,73), enquanto a segunda apresentou uma média de 1,33 brotos.

No presente estudo, as técnicas foram aplicadas no mês de dezembro, período em que se inicia o verão, podendo atribuir a isso, de modo geral, o reduzido número médio de brotações emitidas. Segundo Carvalho (2020), a época da prática do resgate por anelamento e semianelamento pode influenciar no número de brotações, em função da translocação de reservas para o caule, o que acontece com maior intensidade no inverno, tornando as matrizes propensas à emissão de novas brotações. Segundo Hartmann et al. (2011) no verão há menor quantidade de reservas no caule, devido à alta atividade metabólica da parte aérea, dificultando a retomada do crescimento vegetativo. Ferriani et al. (2011) observaram no estudo sobre a espécie *Piptocarpha angustifolia* Dusén ex Malme um maior número de emissão de brotos durante o período da primavera. Além disso, possivelmente o vigor fisiológico e a idade ontogenética de algumas plantas têm influenciado negativamente a emissão de brotações, visto que as matrizes em que foram aplicadas as técnicas de

resgate estão em condições naturais sem aplicação de fertilizantes ou qualquer tratamento silvicultura que favoreça seu crescimento (WENDLING et al., 2014b).

Apesar de no presente estudo não haver correlação significativa entre o número de brotos emitidos e o diâmetro das árvores, em outros casos, o maior diâmetro dos indivíduos pode aumentar a quantidade de brotações emitidas até o estágio em que a espessura de casca passa a dificultar a emergência de gemas dormentes (KRAMER e KOZLOWSKI, 1979).

Contraopondo os resultados do presente estudo, Pinto et al. (2013) trabalhando com *Pterogyne nitens* apontaram correlação positiva, em que o aumento de diâmetro da planta resultou em maior emissão de brotos, bem como o aumento de seu vigor. Sampaio et al. (2007) avaliando a rebrota de árvores de *Aniba rosaeodora* também observaram associação significativa entre o DAP (1,30 m) das árvores e a quantidade de brotações emitidas, em que árvores com maior diâmetro apresentaram maior quantidade de brotações.

Quanto à mortalidade, os tratamentos de anelamento a 30 cm do solo e semianelamento causaram a morte de árvores, o que denota que a espécie pode não suportar a retirada de um anel, principalmente no diâmetro total da árvore, sem comprometer sua sobrevivência, fato este que não está relacionado ao diâmetro das árvores aneladas, indicando que as mortes foram causadas por outros fatores. Diante disso, a metodologia de aplicação dessas técnicas de resgate vegetativo não é indicada para o resgate vegetativo da espécie *D. brasiliensis*. Junior et al. (2021) constaram que o anelamento possibilitou a obtenção brotações de *Cedrela fissilis* sem causar a morte das árvores-matrizes, fato de ampla importância, visto que se trata de uma espécie nativa ameaçada de extinção. Nascimento et al. (2018) também enfatizam o resgate por meio do anelamento como o menos prejudicial para plantas de *Ilex paraguariensis*. Corroborando com Pereira et al. (2015) que ressaltam a importância da aplicação de métodos de anelamento e semianelamento ao invés do corte raso para a promover brotos epicórmicos de *Toona ciliata* var. *australis*, devido a possibilidade de perda da árvore-matriz, Meneguzzi (2017) não registrou mortalidade das plantas de *Persea willdenovii* Kosterm aos 240 dias após a aplicação dos tratamentos de anelamentos e semianelamento, evidenciando que as técnicas são viáveis para a espécie, pois ela é capaz de tolerar a retirada de um anel parcial ou total da casca.

Em relação à eficiência do método de galhos podados que, no presente estudo, quando acondicionadas verticalmente alcançou o número máximo da porcentagem de brotação, também foi abordada por Rosa et al. (2003) em estudo com a espécie *Ilex paraguariensis*, Almeida et al. (2007) ao abordarem a propagação vegetativa de *Eucalyptus cloeziana*, Wendling et al. (2009) com *Araucaria angustifolia* e Meneguzzi (2017) ao tratar sobre o resgate da espécie *Persea willdenovii* Kosterm., destacam que o acondicionamento em casa de vegetação desenvolve um microclima favorável para a sobrevivência e emissão de brotos em galhos podados.

Foi observada uma diminuição quanto ao número de brotações emitidas aos 390 dias quando comparado ao número de brotos emitidos aos 180 dias após o acondicionamento dos galhos em mini-túnel o que está atribuída a secagem e queda de brotos jovens, emitidos recentemente. Wendling et al. (2009) ao avaliarem brotações epicórmicas de *Araucaria angustifolia* observaram uma diminuição no número de brotações no período de 60 a 90 dias após o acondicionamento dos galhos, com subsequente mortalidade de quase 100% do material, ocorrido após 120 dias. Esta redução pode estar associada ao esgotamento das reservas presentes nos galhos, competição por água, nutrientes, espaço e luz entre os brotos (WENDLING et al., 2009; DIAS et al., 2015). Nascimento et al. (2018) relataram que em galhos podados de *Ilex paraguariensis*, com comprimento de aproximadamente 70 cm a diminuição de brotos ocorreu no intervalo entre 180 e 390 dias. Este tipo de material, obtido a partir desse método de propagação, torna-se viável pois permite a coleta de maiores número de mudas, tendo em vista que sua disponibilidade e quantidade é maior na planta.

O método de galhos podados é recente e pouco difundido, apesar disso, em geral, podem proporcionar brotações precoces e em maior número e tamanho, quando comparada à outras técnicas, além de possibilitar o acompanhamento do desenvolvimento destas brotações em ambiente controlado oferecido pela casa de vegetação.

5.2. Estabelecimento *in vitro*

Os tratamentos testados neste estudo não foram eficazes no controle da contaminação dos explantes introduzidos *in vitro* na micropropagação para *D. brasiliensis*, considerando que todos apresentaram percentagens acima do índice

aceitável de contaminação que é igual a 10% (GEORGE, 1993; HARTMANN et al., 2011). Esses resultados indicam que estudos devem ser realizados buscando melhorar as porcentagens de contaminação para permitir a aplicação da micropropagação. De acordo com Erig e Schuch (2005), as plantas lenhosas possuem dificuldades para o estabelecimento *in vitro*, principalmente em virtude da contaminação por microrganismos, sendo a contaminação causada por fungos e bactérias um dos maiores entraves encontrados inicialmente na fase de estabelecimento do explante *in vitro* em especial na superfície dos tecidos de folhas, gemas e segmentos nodais (TEIXEIRA, 2005). Além disso, na assepsia dos explantes não ocorre a exposição dos microrganismos endógenos aos agentes desinfestantes (XAVIER et al., 2013).

Vale salientar que o estabelecimento *in vitro* é uma etapa determinante no processo de micropropagação e altamente complexa devido às dificuldades de descontaminação dos tecidos, que estão relacionadas ao tipo do explante, a idade da planta matriz doadora, a concentração da solução desinfestante e ao tempo de imersão do explante à solução (DONINI et al., 2005). O uso de baixas concentrações de um agente desinfestante aliado a curtos períodos de exposição contribuem para a sobrevivência dos explantes, entretanto, essas condições podem não promover uma desinfestação satisfatória.

Outro fator que pode contribuir para o insucesso no estabelecimento *in vitro* é a utilização de material vegetativo coletado em campo, situação em que ocorre alta exposição à agentes contaminantes exógenos e endofíticos (PORFÍRIO et al., 2016). Alguns autores citam que intervenções feitas visando a prevenção contra agentes contaminantes têm influenciado positivamente, de forma a otimizar a etapa seguinte de desinfestação em laboratório, promovendo assim melhor assepsia dos explantes. Este fato corrobora com Brondani et al. (2010) que avaliando estabelecimento de segmentos nodais de *E. benthamii* x *E. dunnii*, a partir de minicepas cultivadas em sistema semi-hidropônico com a aplicação de fungicida Kumulus DF® (enxofre como princípio ativo) a 3 g L⁻¹ (p/v), obtiveram a contaminação média de 41,3%. Segundo os autores, esse resultado pode ser atribuído ao tratamento fungicida realizado nas plantas matrizes, tendo em vista que, as diferentes concentrações de cloro ativo testados não apresentaram diferença para descontaminação dos explantes.

Por meio da análise da descontaminação de segmentos nodais feita por outros autores, quando não houve a realização de intervenção com o uso de antibióticos nas

plantas matrizes, observam-se maiores percentagens de contaminação do material vegetal utilizado na micropropagação. Hansel et al. (2005) em estabelecimento com explantes de *E. benthamii* coletados após a decepa de plantas matrizes cultivadas a campo, obtiveram 95% de contaminação, com a desinfestação realizada somente em laboratório, através da imersão de segmentos nodais em álcool 70% (1 min) e NaOCl₂ 2% (10min).

Nesse estudo, as contaminações por fungos ocorreram em maior proporção quando comparadas à contaminação por bactérias, sendo responsáveis pelas maiores perdas de material vegetal nessa fase da micropropagação. Esse resultado se assemelha ao obtido no estudo desenvolvido por Azevedo (2019), em que foi avaliada a desinfestação de *Khaya ivorensis* sob diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio, na concentração 2,5%, no qual a percentagem de contaminação por fungos também foi superior a contaminação por bactéria, com média de 40,3%, valor bem próximo obtido pelo tratamento de maior eficiência nesse estudo (46,7%).

Visando controlar a contaminação por microrganismos durante a introdução, a incorporação de fungicidas e bactericidas ao meio de cultura em baixas concentrações pode ser uma alternativa eficiente para controlar a contaminação (TEIXEIRA, 2001). Yoshiko et al., (2001), por exemplo, observaram alta eficiência no controle de fungos em explantes de *Celtis* sp. com o uso de fungicida Benlate[®] (200 mgL⁻¹), corroborando com Ferreira et al. (2009), que concluíram que a ação do antibiótico cefotaxima (100 mgL⁻¹) em conjunto com o hipoclorito de sódio controlou a contaminação fúngica de explantes florais de *Theobroma grandiflorum*. A contaminação por bactérias de segmentos nodais de *Cedrela fissilis* foi controlada pela adição ao meio de cultura de estreptomicina e Benlate[®], nas concentrações de 10 mg L⁻¹ e 300 mg L⁻¹, respectivamente (AMARAL, 2006).

Esses resultados indicam que possivelmente os microrganismos estariam impregnados em locais onde o hipoclorito de sódio não teve alcance, haja vista que esse processo remove bactérias localizadas na superfície dos explantes (NADHA et al., 2012). Condições *in vitro* objetivam o crescimento e desenvolvimento ideal das plantas, porém costumam proporcionar um ambiente favorável para a multiplicação bacteriana (ORLIKOWSKA et al., 2017). Com isso, torna-se necessária a realização de novos ensaios a fim de se testar outras concentrações e tempos de imersão e, possivelmente, outros agentes desinfestantes.

A oxidação fenólica dos explantes para espécies lenhosas também tem sido outro obstáculo a ser superado durante o processo de estabelecimento *in vitro* (SILVA et al., 2007). A oxidação fenólica está relacionada principalmente ao genótipo, a fase de desenvolvimento da planta e do período do ano em que foi realizada a coleta do material vegetativo (WERNER et al., 2009). Esse processo ocorre devido ao corte realizado no explante, o que danifica as células dos tecidos, ocasionando a liberação de compostos fenólicos precursores da síntese de lignina, alterando o meio de cultura de forma a interferir na absorção de metabólitos, provocando a morte dos tecidos (ANDRADE et al., 2000).

No presente estudo, observou-se que os tratamentos com menores tempos de exposição a solução desinfestante apresentaram menores percentagens de oxidação fenólica, sendo o tratamento em que não houve a imersão em solução de hipoclorito de sódio o que mostrou a menor média de oxidação fenólica. Contudo, quando ocorreu um maior tempo de exposição a solução desinfestante, houve um aumento nas percentagens de oxidação fenólica, apesar de apresentar maior controle dos contaminantes. Embora, geralmente, apresente maior eficiência quanto à contaminação, um maior tempo de imersão pode afetar a viabilidade dos explantes, reduzindo-os por meio da perda de material por fitotoxidez (BARRUETO e ZIMMERMANN, 2006). O uso de agentes desinfetantes como o hipoclorito de sódio pode potencializar o aumento do estresse oxidativo (OLIVEIRA, et al., 2021). Os resultados corroboram com o trabalho desenvolvido por Ferreira (2021), na micropropagação de *Theobroma grandiflorum* a partir explantes florais, os quais foram imersos em hipoclorito de sódio durante 20 e 30 minutos nas concentrações 0,25 e 0,50%, sendo recomendado pelos autores o uso da menor concentração de hipoclorito de sódio (0,25%) com 20 minutos de imersão dos explantes, a fim de reduzir a oxidação fenólica dos tecidos dos explantes. Em estudo sobre o estabelecimento e desinfestação *in vitro* de explantes de bananeira Grande Naine conduzido por Pereira et al. (2011), foi obtida alta percentagens de oxidação fenólica dos explantes (90,0%) para o tratamento com maior concentração de hipoclorito ativo, de 2,0%.

Além das dificuldades citadas anteriormente, outros fatores podem contribuir para a oxidação fenólica dos explantes como o tempo elevado de transporte do campo ao laboratório e a tendência natural que algumas espécies possuem, o que de acordo com Yoshiko et al. (2001), quando a espécie possui alta suscetibilidade natural à

oxidação fenólica, independente do tempo de imersão em solução desisfentante, a oxidação fenólica ocorrerá.

5.3. Estaquia

Os resultados obtidos para a porcentagem de sobrevivência das estacas de *D. brasiliensis* indicam que essa variável pode estar diretamente relacionada ao grau de lignificação das estacas, visto que os tratamentos em que foram utilizadas estacas herbáceas obtidas das técnicas de resgate vegetativo (anelamento/semianelamento e galhos podados) obtiveram melhores resultados (54,2% e 68,0% respectivamente) quando comparados ao tratamento em que as estacas utilizadas possuíam características semilenhosas (33,3%).

Os resultados para diferentes tipos de estaca podem variar conforme a espécie. No entanto, é possível identificar uma tendência para melhores resultados quando utilizadas estacas herbáceas para a multiplicação vegetativa por estaquia, visto que estacas herbáceas apresentam maior concentração de auxinas endógenas (FOLARODI et al., 2021). Contudo, em alguns casos, estacas herbáceas podem ser tenras, o que pode reduzir a eficiência da propagação em virtude dos baixos níveis de biossíntese e altas percentagens de desidratação do tecido (FOLADORI-INVERNIZZI, 2021). Em alguns casos, estacas lenhosas e semilenhosas podem ser mais vantajosas, pois reduzem a desidratação do material, entretanto, podem acumular inibidores de enraizamento (XAVIER, 2009; HARTMANN et al., 2011). Hussain et al. (2017) avaliando a estaquia da espécie *Rubus* spp. com o uso de diferentes estacas com diferentes níveis de lignificação (herbáceas, semilenhosas e lenhosas) observaram melhores resultados relacionados à sobrevivência e enraizamento para estacas herbáceas. Resultados contrários aos do presente estudo foram mostrados por Singh e Rawat (2017) estudando a espécie *Zanthoxylum armatum* em que estacas semilenhosas apresentaram melhores resultados quanto ao enraizamento quando comparadas a estacas com características herbáceas.

Um fator importante para o sucesso da estaquia é idade ontogenética da árvore-matriz que pode influenciar negativamente os resultados, havendo necessidade de rejuvenescimento desse material, visto que as plantas possuem um gradiente de juvenilidade no sentido ápice/base, logo, ramos maduros tendem a ter menor concentração de auxina (WENDLING et al., 2012; WENDLING et al., 2015).

Além disso, outros fatores exógenos, como a utilização de reguladores vegetais, também podem influenciar a sobrevivência e enraizamento das estacas (ZHANG et al., 2016; HARTMANN et al., 2011; STUEPP et al., 2018).

No presente estudo, os melhores resultados foram apresentados pelos tratamentos em que as estacas testadas apresentavam características herbáceas, no entanto, o tratamento em que foram utilizadas estacas obtidas através de galhos podados apresentou maior percentagem de sobrevivência e formação de calos quando comparado ao tratamento com estacas obtidas por meio do anelamento/semianelamento, este fato pode ser atribuído ao tempo decorrido durante o transporte dessas estacas do campo para a casa de vegetação, o que pode ter ocasionado um estresse biológico no nível celular, resultando na perda de solutos e metabólitos que contribuíram para o aumento da mortalidade das estacas para este tratamento, diferente das estacas retiradas dos galhos podados que já estavam acondicionadas na casa de vegetação, sendo estaqueadas imediatamente após a retirada das estacas dos galhos.

Ressalta-se, que algumas estacas de *D. brasiliensis* emitiram novas brotações, entretanto sem formação de raízes adventícias, o que pode explicar a redução na sobrevivência das estacas, principalmente semilenhosas. Nesse caso, provavelmente, a ausência de raízes juntamente com o consumo de reservas para a formação de brotações (HARTMANN et al., 2011) aumentaram a sensibilidade das estacas.

Foi ainda observada a queda das folhas presentes nas estacas, principalmente no tratamento em que as estacas foram retiradas da parte aérea da planta-matriz (semilenhosas), o que pode ter contribuído para redução na percentagem de sobrevivência para esse tratamento. A presença de folhas nas estacas pode afetar a percentagem de enraizamento, visto que são fontes de auxina, cofatores e fotoassimilados, componentes necessários para a rizogênese, já que os carboidratos presentes nas folhas são translocados em direção à base da estaca, sendo fonte importantes de energia, macromoléculas e elementos estruturais para a formação das raízes, mesmo sem induzir diretamente a formação destas (TAIZ e ZEIGER, 2017). Contudo, mantendo-se um número grande de folhas ou de uma grande área foliar pode aumentar excessivamente a percentagem de transpiração, causando a morte da estaca (HARTMANN et al., 2011).

Quanto à porcentagem de estacas com calo, foi observada apenas para os tratamentos com estacas herbáceas obtidas através das técnicas anelamento/semianelamento e galhos podados, ou seja, o tratamento em que foram utilizadas estacas retiradas de partes aéreas das árvores com características semilenhosas não apresentaram formação de calos.

A superioridade das estacas herbáceas na formação de calos, além da menor lignificação dos tecidos, pode estar relacionada também ao teor de auxina endógena no propágulo, visto que as estacas herbáceas estão próximas das gemas apicais, regiões de síntese de auxinas, resultando em maior concentração endógena desse hormônio, estando, assim, mais propensa ao enraizamento adventício (HARTMANN et al., 2011). Aguiar et al. (2021), contrariando os resultados do presente estudo, avaliaram a estaquia das espécies *Calliandra brevipes* e *Calliandra tweedii* utilizando estacas semilenhosas em que observaram a presença de calos nas duas espécies (4,2% e 13,3%, respectivamente), também foi observado que a maior parte das estacas enraizadas possuía calos.

A formação de raízes adventícias está altamente relacionada a cultivar e espécie, visto que este processo é direto ou indiretamente controlado por genes. Entretanto, os aspectos genéticos e fisiológicos que influenciam a formação de raízes adventícias ainda são pouco estudados. Além disso, a presença ou não de cofatores de enraizamento nos tecidos podem ter influência, pois também é variável de uma espécie para outra e até mesmo dentro de uma mesma espécie (HARTMANN et al., 2011).

Vários fatores podem afetar enraizamento das estacas, incluindo as condições fisiológicas da planta-matriz, juvenildade, condições ambientais, posição e graus de lignificação das estacas (SILVA et al., 2012). A capacidade de enraizamento pode ser maximizada por fatores como a presença de folhas nas estacas, o uso de nebulização intermitente e a aplicação de reguladores de crescimento (SCALOPPI JUNIOR e MARTINS, 2014). Visto que nenhum dos tratamentos apresentou formação de raízes adventícias, pode-se afirmar que a maturidade e, conseqüentemente, a maior lignificação dos tecidos não influenciou diretamente esta variável.

No presente estudo, o fato de não ter ocorrido o enraizamento dentro do período avaliado (140 dias) pode ser atribuído à oxidação de compostos fenólicos contidos nas estacas de *D. brasiliensis*. Segundo Franzon et al. (2010), em algumas espécies, devido à oxidação desses compostos fenólicos pode ocorrer o

escurecimento intenso na região de secção da estaca, o que pode dificultar a formação emissão de raízes. Outro fator que pode ter contribuídos para o não enraizamento das estacas é o período do ano em que o experimento foi conduzido, sendo instalado próximo ao fim do outono, e acompanhado majoritariamente no período do inverno. Pivetta et al. (2012), estudando o enraizamento de estacas de espirradeira (*Nerium oleander* L.), mostraram que no verão a espécie apresentou maior percentagem de enraizamento comparado ao inverno (80,7 e 48,2%, respectivamente), atribuindo a superioridade no período do verão a um intenso crescimento vegetativo, o que pode facilitar o desenvolvimento de raízes em espécies com dificuldade de enraizamento. ZEM et al. (2015) comparando verão e inverno no estudo da espécie *D. brasiliensis*, apresentaram um número maior de raízes por estaca para o experimento conduzido no verão (5,47) quando comparado ao inverno (4,25). Entretanto, contrariando os resultados do presente estudo, Souza et al. (2019) e Nava et al. (2014) utilizando a espécie *Ficus carica*, obtiveram melhores resultados no inverno.

Dessa forma, percebe-se que, para algumas espécies, o período de coleta das brotações e, conseqüentemente, o período de instalação e acompanhamento do estudo, pode influenciar no enraizamento das estacas. A influência do período do ano sobre a indução radial pode ser estar relacionada às reservas de nutrientes presentes nos tecidos cambiais e da atividade cambial, bem como na distribuição de auxinas endógenas nas estacas (OHLAND et al., 2009).

Já em relação a condição nutricional, as matrizes estavam localizadas em ambiente natural e sem receber nenhum tipo de trato silvicultural. O conteúdo de carboidratos presente nas estacas está positivamente correlacionado com o enraizamento e sobrevivência, visto que as auxinas necessitam de carbono para realizar a iniciação das raízes, processo demanda energia, sendo o nitrogênio também um nutriente importante para síntese de ácidos nucléicos e proteínas (GUASSO et al., 2020). Segundo Cunha et al. (2009) a baixa relação C/N podem prejudicar o enraizamento em virtude da elevada produção de parte aérea da estaca em detrimento das raízes. De acordo com esses autores, fósforo, potássio, cálcio e magnésio apresentam-se também como elementos fundamentais, que devem estar em equilíbrio para o sucesso no processo de estaquia, segundo estes autores.

De acordo com Mendonça et al. (2018), o enraizamento ocorre em virtude de inicialmente haver a formação de calos nas estacas o que, posteriormente, poderá

levar a formação de primórdios radiculares. A presença de calos sinaliza a possível formação de raízes adventícias (SILVA et al., 2012). Nesse sentido, seria necessário um tempo maior de acompanhamento das estacas sobreviventes, a fim de confirmar a capacidade ou não de enraizamento de estacas de *D. brasiliensis* para a metodologia adotada neste estudo.

6. CONCLUSÕES

A técnica de semianelamento não se mostrou uma boa alternativa para a indução de brotações. Os tratamentos em que as árvores foram completamente aneladas a 30 cm do solo, de modo geral, apresentaram uma resposta positiva da espécie *D. brasiliensis* com relação a emissão de brotações, no entanto, causaram a morte de parte dos indivíduos.

O método de galhos podados apresentou melhores resultados considerando as três variáveis avaliadas, quando comparadas aos métodos de anelamento e semianelamento, sendo uma alternativa viável para o resgate de *D. brasiliensis*.

O hipoclorito de sódio demonstrou ser uma alternativa viável para o controle de inicial da contaminação fúngica por maiores tempos de exposição, enquanto para a contaminação bacteriana não foi observada influência significativa quando a sua utilização. Maiores tempos de imersão em hipoclorito de sódio tendem a aumentar as percentagens de oxidação fenólica de explantes de *D. brasiliensis*.

Na estaquia, recomenda-se o uso de estacas herbáceas por possuir maior sobrevivência e formação de calos, contudo, não foi verificado o enraizamento de estacas, desta forma é indicada a realização de outros trabalhos para aperfeiçoamento da técnica para a espécie em estudo.

REFERÊNCIAS

- ABREU, D. C. A.; KUNIYOSHI, Y. S.; MEDEIROS, A. C. S.; NOGUEIRA, A. C. Caracterização morfológica de frutos e sementes de cataia (*Drimys brasiliensis* Miers. - Winteraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 2, p. 67-74, 2005.
- AGUIAR, N. S.; SOUSA, C. E.; BEGER, G.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Ácido indolbutírico na estaquia de *Calliandra brevipes* e *Calliandra tweedii*. **Advances in Forestry Science**, v. 8, n. 1, p. 1327-1333, 2021.
- ALFENAS, A.C.; ZAUZA E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV, p. 450, 2009.
- ALMEIDA, F. D.; XAVIER, A.; DIAS, J. M. M. Vegetative propagation of selected *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. trees through cutting technique. **Revista Árvore**, v. 31, n. 3, p. 445-453, 2007.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. D. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- AMARAL, V. F. M. Multiplicação *in vitro* de *Cedrela odorata*. **Tese** (Doutorado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, p. 63, 2006.
- ANDRADE, M. W.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Alli.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 174-180, 2000.
- AZEVEDO, M. L. **Micropropagação e enraizamento de miniestacas de mogno africano** (*Khaya ivorensis* A. Chev). Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Muruci, Minas Gerais, 2019.
- BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do sul**: guia de identificação e interesse ecológico. Instituto Souza Cruz, ed. 2, 2002.
- BACKES, A.; NARDINO, M. **Árvores, arbustos e algumas lianas nativas no Rio Grande do Sul**. São Leopoldo: UNISINOS, 1998, 202 p.
- BADILLA, Y.; XAVIER, A.; MURILLO, O.; PAIVA, H. N. D. Eficiência do AIB no enraizamento de miniestacas de clones de Teca (*Tectona grandis* Linn F.). **Revista Árvore**, v. 40, n. 3, p. 477-485, 2016.
- BARRUETO CID, L. P.; ZIMMERMANN, M. J. A. **Contaminação *in vitro* de plantas**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 20, 2006.
- BASTOS, F. E. A.; GRIMALDI, F.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L. Propagation of native plants with ornamental potential from Serra do Oratório, Santa Catarina State, Brazil. **Ornamental Horticulture**, v. 26, p. 298-305, 2020.

- BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 277-281, 2009.
- BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; GROSSI, F.; DUTRA, L. F.; ARAUJO, M. A. Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*: (II) sobrevivência e enraizamento de miniestacas em função das coletas e estações do ano. **Ciência Florestal**, v. 20, p. 453-465, 2010.
- CARVALHO, G. C. M. W. **Resgate de matrizes e propagação vegetativa de *Pathymenia reticulata* Benth.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2020.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, ed. 3, 2008.
- CECHINEL FILHO, V.; SCHLEMPER, V.; SANTOS, A. R. S.; PINHEIRO, T. R.; YUNES, R. A.; MENDES, G. L.; CALIXTO, J. B.; DELLE MONACHE, F. Isolation and identification of active compounds from *Drimys winteri* barks. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, n. 3, p. 223-227, 1998.
- CUNHA, A. C. M. M.; PAIVA, H. N.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. **Pesquisa Florestal Brasileira**. ed. 58, p. 35-47, 2009.
- DIAS, P. C.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; FÉLIX, G. A.; PIRES, I. E. Vegetative rescue of *Anadenanthera macrocarpa* trees. **Cerne**, v.21, n.1, p.83-89, 2015.
- DONINI, L. P.; FERREIRA-MOURA, I.; GUISSO, A. P.; SOUZA, J. A.; VIÉGAS, J. Preparo de lâminas foliares de aráceas ornamentais: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v. 72, n. 4, p. 517-522, 2005.
- DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p. 49-59, 2009.
- ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W.; Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de plantas de macieira (*Malus domestica* Borkh.) cvs. Galaxy, Maxigala e Mastergala. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 9, p. 221-227, 2005.
- FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação Vegetativa de Espécies Florestais.** Embrapa Florestas. Colombo, p. 19, 2004.
- FERREIRA, M. G. R.; DOS SANTOS, M. R. A.; BRAGADO, A. C. R. Propagação *in vitro* de cupuaçuzeiro. **Saber Científico**, v. 2, n. 2, p. 37-44, 2021.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FERREIRA, M. G. R.; SANTOS, M. R. A.; BRAGADO, A. C. R. Propagação *in vitro* de cupuaçuzeiro: desinfestação de explantes florais. **Revista Saber Científico**, v. 2, n. 2, p. 37-44, 2009.

FERRIANI, A. P.; ZUFELLATTO-RIBAS, K. C.; HELM, C. V.; BOZA, A.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Sprouts production and rooting of *Piptocarpha angustifolia* minicuttings. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, n. 67, p. 257-264, 2011.

FIGLIOLIA, M. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Considerações práticas sobre o teste de germinação. Instituto Florestal. **Série registros**, São Paulo, v. 14, p. 45-60, 1995.

FOLADORI-INVERNIZZI, S.; DE ALMEIDA M. R.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Estado da arte da propagação vegetativa por estaquia de espécies arbustivo-arbóreas. **Revista Eletrônica Científica Da UERGS**, v. 7, n. 1, p. 50-63, 2021.

FRANZON, R. C.; CARPENEDO, S.; SILVA, J. C. S. **Produção de mudas: principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras**. (Documento 283), Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 56, 2010.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture - Part 1: The technology**. Westbury: Exectics, 1993. 574 p.

GOTTSBERGER, G.; SILBERBAER-GOTTSBERGER, I.; EHRENDORFER, F. Reproductive Biology in the Primitive Relic Angiosperm *Drimys brasiliensis* (Winteraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 135, n. 1, p. 11-39, 1980.

GUASSO, L. Z.; SASSI, A.; SILVEIRA, S. V.; MARODIN, F. A.; SOUZA, P. V. D. **Enraizamento de estacas herbáceas de quatro genótipos de kiwizeiros submetidas a tratamento com Ácido Indolbutírico**. Iheringia. Série Botânica., v. 75, 2020.

GUPTA, N.; JAIN, V.; JOSEPEH, M. R.; DEV, S. A. Review on Micropropagation Culture Method. **Asian J Pharm Res Develop**, v. 8, n. 1, p. 86-93, 2020.

HANSEL, F.A.; DUTRA, F. L.; WENDLING, I. **Ápices caulinares como alternativa para o resgate de matrizes adultas de *Eucalyptus benthamii* diretamente do campo**. Embrapa Florestas: Comunicado Técnico, 2005.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; GENEVE, R. L.; **Plant propagation: principles e practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall, p. 915, 2011.

HUSSAIN, I.; ROBERTO, S. R.; COLOMBO, R. C.; ASSIS, A. M.; KOYAMA, R. Cutting types collected at different seasons on Blackberry multiplication. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 3, 2017.

JUNIOR, C. F. S.; RECH, T. D.; NAVROSKI, M. C.; BOFF, P.; BOFF, M. I. C. Resgate vegetativo de *Cedrela fissilis* Vell. por enraizamento de estacas de brotos epicórmicos e de copa. **Ciencia rural**, v. 51, n. 8, p. 6, 2021.

KRAMER, T.; KOZLOWSKI, T. **Physiology of woody plants**. New York, Academic Press, p. 811, 1979.

LUZ, J. M. Q.; SANTOS, V. A.; RODRIGUES, T. M.; ARRIGONI BLANK, M. F.; ASMAR, S. A. Estabelecimento *in vitro* e aclimatização de *Lippia alba* (Mill.) NE Brown. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 444-449, 2014.

MALHEIROS, A.; FILHO, V. C.; SCHMITT, C. B.; YUNES, R. A.; ESCALANTE, A.; SVETAZ, L.; ZACCHINO, S.; MONACHE, F. D. Atividade antifúngica de sesquiterpenos drimane de *Drimys brasiliensis* utilizando biomonitorado. **Pharm Sci Pharmaceut**, v. 8, n. 2, p. 335-339, 2005.

MARCHIORI, J. N. C. **Dendrologia das angiospermas: das magnoliáceas às acurtiáceas**. Santa Maria: UFSM, p. 271, 1997.

MELO, L. A.; DAVIDE, A. C.; TEIXEIRA, L. A. F. Methodology for stock plants rescue and cuttings rooting of *Eremanthus erythropappus*. **Cerne**, v. 18, n. 4, p. 631-638, 2012.

MENDONÇA, L. P.; BATISTA J. N.; MAGALHÃES, W. B.; FERREIRA, J. P.; BUCHER, C. A. Ácido-indol-3-butírico and collection time influencing on the rotation of *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 12, n. 2, p. 176-184, 2018.

MENEGUZZI, A. Resgate vegetativo e propagação *in vitro* de *Persea willdenovii* Kosterm. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2017.

MEROTTO, J.; CESTONARO, V. L.; ROSSATO-GRANDO, G. L.; SIQUEIRA, O. L.; BERTOL, D. C. Anti-lipid potential of *Drimys brasiliensis*. **Pharmacognosy magazine**, v. 13, n. 2, p. 370, 2017.

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

NADHA, H. K.; SALWAN, R.; KASANA, R. C. Identification and elimination of bacterial contamination during *in vitro* propagation of *Guadua angustifolia* Kunth. **Pharmacognosy Magazine**, v. 8, n. 30, p. 93-97, 2012.

NASCIMENTO, B.; SÁ, A. C. S.; LEMOS, L. B.; ROSA, D. P.; PEREIRA, M. O.; NAVROSKI, M. C. Three epicormic shoot techniques in *I. paraguariensis* mother trees and its cutting according to the material rejuvenation degree. **Cerne**, v. 24, n. 3, p. 240-248, 2018.

NAVA, G. A.; JUNIOR, A. W.; MEZALIRA, E. J.; CASSOL, D. A.; ALEGRETTI, A. L. Rooting of hardwood cuttings of Roxo de Valinhos fig (*Ficus carica* L.) with diferente propagation strategies. **Ceres**, v. 61, n. 6, p. 989-996, 2014.

OHLAND, T.; PIO, R.; CHAGAS, E. A.; BARBOSA, W.; KOTZ, T. E.; DANELUZ, S. Enraizamento de estacas apicais de figueira 'Roxo de Valinhos' em função de época de coleta e AIB. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 1, p. 74-78, 2009.

OLIVEIRA, N. P.; RIBEIRO, S. A. F.; DE SOUZA, M. M. Controle de contaminação e oxidação no cultivo *in vitro* de oliveira (*Olea europaea* L.) cv. "Koroneiki". **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e30710514929-e30710514929, 2021.

OLIVEIRA, L. S.; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013.

ORLIKOWSKA, T.; NOWAK, K.; REED, B. Bacteria in the plant tissue culture environment. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 128, n. 3, p. 487-508, 2017.

PEREIRA, M. O.; ÂNGELO, A. C.; NAVROSKI, M. C.; JÚNIOR, M. D.; OLIVEIRA, L. M. Vegetative rescue and rooting of cuttings of different stock plants of *Sequoia sempervirens*. **Cerne**, v. 23, n. 4, p. 435-444, 2017b.

PEREIRA, M. O.; WENDLING, I.; NOGUEIRA, A. C.; FILHO, A. N. K.; NAVROSKI, M. Resgate vegetativo e propagação de cedro-australiano por estaquia. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 4, p. 282-289, 2015.

PEREIRA, G. A.; CORRÊA, L. de S.; BOLIANI, A. C. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de explantes de bananeira 'Grande Naine' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. SPE1, p. 222-226, 2011.

PINTO, H. C. A.; BARRETO, P. A. B.; AMARAL, A. R.; OLIVEIRA, F. G. R. B. Rebrotas de cepas de árvores adultas de madeira nova (*Pterogyne nitens* Tull.) **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 9, n. 17; p. 2287-2296, 2013.

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

PORFÍRIO, S.; SILVA, M. D. G.; CABRITA, M. J.; AZADI, P.; PEIXE, A. Reviewing current knowledge on olive (*Olea europaea* L.) adventitious root formation. **Scientia Horticulturae**, v. 198, p. 207-226, 2016.

RIBEIRO, V. L. S.; ROLIM, V.; BORDIGNON, S.; HENRIQUES, A. T.; DORNELES, G. G.; LIMBERGER, R. P.; VON POSER, G. Chemical composition and larvicidal properties of the essential oils from *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae) on the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* and the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasitol.** v.102, p. 531-535, 2008.

RICKLI-HORST, H. C. Desenvolvimento de tecnologias de resgate vegetativo, enxertia, crescimento e indução de florescimento precoce em *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Tese** (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

ROSA, L. S.; WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. Brotações epicórmicas no resgate vegetativo de árvores selecionadas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. In: **Embrapa Florestas-Artigo em anais de congresso**. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 2003.

SALOMÃO, L. C. C.; SIQUEIRA, D. L.; LINS, L. C. R.; CECON, P. R. Crescimento e produção da bananeira (*Musa* spp. AAB) Prata-Anã, oriunda de rizoma e micropropagada. **Ceres**, Viçosa, ed. 63(3), p. 340-347, 2016.

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

SAMPAIO, P. T. B.; SANTOS, M. C.; VIEIRA, G.; SPIRONELLO, W.; USECHE, F. L.; BRUNO, F. M. S. Avaliação rebrota da copa das árvores de pau-rosa (*Aniba rosaedora* Ducke) em sistema de podas sucessivas. **Acta Amazônica**, v. 37, n. 1, p. 55-60, 2007.

SCALOPPI JUNIOR, E. J.; MARTINS, A. B. G. Estaquia em anonas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 147-156, 2014.

SILVA, L. C.; SCHUCH, M. W.; SOUZA, J. A.; ERIG, A. C.; ANTUNES, L. E. C. Efeito da iluminação e pré-lavagem das brotações de mirtilo cv. Florida no estabelecimento *in vitro*. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 1, p. 127-129, 2007.

SILVA, L. F. O.; OLIVEIRA, A. F.; PIO, R.; ZAMBON, C. R.; OLIVEIRA, D. R. Rooting of semi-woody cuttings of olive cultivars. **Bragantia**, v. 71, n. 4, p. 488-492, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; ELOIR, P. S.; IRGANG, E. B.; STEHMANN, R. J. Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Ed. da Universidade/ UFRGS, p. 147, 1986.

SINGH, B.; RAWAT, J. M. S. Effects of Cutting Types and Hormonal Concentration on Vegetative Propagation of *Zanthoxylum Armatum* in Garhwal Himalaya, India. **Journal of Forestry Research**, v. 28, n. 2, p. 419-423, 2017.

SOUZA, J. M. A.; LEONEL, S.; SILVA, M. S.; JÚNIOR, M. A. O.; MARTINS, R. C.; BOLFARINI, A. C. B.; ATAÍDE, E. M. Carbohydrate content and season collection of cuttings from 'Roxo de Valinhos' fig tree. **Comunicata Scientiae**, v. 10, n. 1, p. 125-131, 2019.

SOUZA, J. C. A. V.; BARROSO, D. G.; CARNEIRO, J. G. A.; TEIXEIRA, S. L.; BALBINOT, E. Propagação vegetativa de cedro australiano (*Toona ciliata* M. Roemer) por miniestaquia. **Revista Árvore**, v.33, p.205-213, 2009.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. - **Fisiologia vegetal**. Artemed, ed.6, p. 888, 2017.

TEIXEIRA, D. A. Promoção de enraizamento e indução de resistência sistêmica à ferrugem e à mancha-de-cylindrocladium, mediadas por rizobactérias em clones de *Eucalyptus* spp. (Patente PI0101400-5). 2001. 67 f. **Tese** (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2001.

TEIXEIRA, J. B. **Limitações ao processo de cultivo *in vitro* de espécies lenhosas**. Brasília: Embrapa – Recursos. Genéticos e Biotecnologia Brasília, 2005.

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

TOSTA, M. S.; OLIVEIRA, C. V. F.; FREITAS, R. M. O.; PORTO, V. C. N.; NOGUEIRA, N. W.; TOSTA, P. A. F. Ácido indolbutírico na propagação vegetativa de cajareira. (*Spondias* sp). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 2727-2740, 2012.

TRINTA, E. F.; SANTOS, E. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: BR Petrobras, p. 19, 1997.

VILLA, F.; PIVA, A. L.; MEZZALIRA, É. J.; SANTIN, A. **Estaquia na propagação de espécies de fisális**. *Magistra*, v.28, n.2, p.185-193, 2017.

WENDLING, I.; WARBURTON, P. M.; TRUEMAN, S. J. Maturation in *Corymbia torelliana* x *C. citriodora* stock plants: effects of pruning height on shoot production, adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. **Forests**, v. 6, p. 3763-3778, 2015.

WENDLING, I; BRONDANI, G. Vegetative rescue and cuttings propagation of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Revista Árvore**, v. 39, p. 93-104, 2015.

WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry – Part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. **New Forests**, v. 45, n. 4, p. 473-486, 2014b.

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

WENDLING, I; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. único, p. 187-194, 2012.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; HOFFMANN, H. A.; BETTIO, G.; HANSEL, F. Indução de brotações epicórmicas ortotrópicas para a propagação vegetativa de árvores adultas de *Araucaria angustifolia*. **Agronomía Costarricense**, v. 33, n. 2, p. 309-319, 2009.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas**. Colombo: Embrapa Florestas. 2006. 54 p.

WERNER, E. T.; CUZZUOL, G. R. F.; PESSOTTI, KAMILA, V.; LOPES, F. P.; ROGER, J. A. Controle da calogênese do pau-brasil *in vitro*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 987-996, 2009.

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

XAVIER, A. **Silvicultura clonal princípios e técnicas**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2009.

YOSHIKO, A. S.; TEIXEIRA, H. C. D. Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, v. 7, n. 2, p. 117-123, 2001.

ZEM, L. M.; WEISER, A. H.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RADOMSKI, M. I. Estaquia caulinar herbácea e semilenhosa de *Drimys brasiliensis*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, p. 396-403, 2015.

ZHANG, W.; FAN J.; TAN, Q. Z. M; CAO F. Mechanisms underlying the regulation of root formation in *Malus hupehensis* stem cuttings by using exogenous hormones. **Journal Plant Growth Regulation**, v. 36, n. 1, p. 1-12, 2016.