



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE - UERN  
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS – FANAT  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS – PPGCN  
MESTRADO EM CIÊNCIAS NATURAIS – MCN



**USO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E AUXINAS  
ASSOCIADAS COM MICROELEMENTOS NO DESENVOLVIMENTO DE  
ESTACAS DE *Varronia leucocephala* (Boraginaceae)**

MÔNICA DANIELLE SALES DA SILVA FERNANDES

MOSSORÓ/RN

2017

MÔNICA DANIELLE SALES DA SILVA FERNANDES

**USO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E AUXINAS  
ASSOCIADAS COM MICROELEMENTOS NO DESENVOLVIMENTO DE  
ESTACAS DE *Varronia leucocephala* (Boraginaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, da Faculdade de Ciências Exatas e Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Naturais. Área de concentração: Recursos Naturais

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque.

MOSSORÓ/RN

2017

Ficha catalográfica gerada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas  
e Diretoria de Informatização (DINF) - UERN,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F363u Fernandes, Mônica Danielle Sales da Silva .  
USO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E AUXINAS  
ASSOCIADAS COM MICROELEMENTOS NO DESENVOLVIMENTO  
DE ESTACAS DE *Varronia leucocephala* (Boraginaceae) / Mônica  
Danielle Sales da Silva Fernandes - 2017.  
73 p.

Orientadora: Cynthia Albuquerque.  
Coorientadora: .  
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio Grande do  
Norte, Ciências Naturais, 2017.

1. Micorrizas. 2. Microelementos. 3. Ácido Indolbutírico. 4.  
Enraizamento. I. Albuquerque, Cynthia , orient. II. Título.

MÔNICA DANIELLE SALES DA SILVA FERNANDES

**USO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E AUXINAS  
ASSOCIADAS COM MICROELEMENTOS NO DESENVOLVIMENTO DE  
ESTACAS DE *Varronia leucocephala* (Boraginaceae)**

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque  
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte

---

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Claudia Ulisses de Carvalho Silva  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

---

Prof. Dr. Diego Nathan do Nascimento Souza  
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte

*A Deus criador e mantenedor de todas as coisas, sem ele nada seria possível.*

**OFEREÇO**

**DEDICO**

*A minha família pelo amor incondicional e amparo em todos os momentos de minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

*Minha gratidão primeiramente a Deus, meu Senhor, que me proporciona tantas bênçãos, tantas conquistas e tantas vitórias. Pelas pessoas que tem colocado em minha vida, pelos projetos já realizados e pelos desafios que estão por vir, eu agradeço.*

*Ao meu pai, Joaquim, pela confiança em mim depositada, pela orientação e pelos ensinamentos. Assim como à minha mãe, Francisca, pelo exemplo de determinação e pelo amor incondicional. Obrigada por acreditarem que eu sou capaz de realizar todos os meus sonhos. Amo vocês.*

*Ao meu querido esposo Kepson pelo conforto em tempos mais difíceis, pelo apoio concedido, paciência, compreensão, dedicação, carinho e amor.*

*Ao meu irmão Marcos e minha linda sobrinha Melissa pelo amor incondicional.*

*A minha querida e eterna orientadora, professora Dr. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque pelo apoio, amizade, confiança e companheirismo cujo exemplo tento seguir.*

*A todos que compõe a família do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas – LFPB pela colaboração em todas as etapas desse trabalho, em especial a Maria Valdigleza, Vanilse Sampaio, Gessyka Silva, Julyanna Arruda, Débora Lopes, Laís Pontes, Isabel Ortiga, Auciélia Patrícia, Fábio Mesquita e Marcus Emanuel. Sem vocês eu não teria conseguido.*

*Aos amigos Shaline, Mônica Firmino, Daniel Veras, Lorena, Rodrigo, Antônio Alex, Virton e “Clarinha” pelos momentos de aprendizagem compartilhados na convivência, pelas conversas, discussões, companheirismo, pela ajuda disponibilizada na construção deste trabalho e, principalmente, pelos momentos de distração possibilitados.*

*Aos docentes do programa, pelo aprendizado e por partilharem seus conhecimentos e suas experiências de vida acadêmica.*

*Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais pela oportunidade para a realização de mais uma etapa de minha vida acadêmica.*

*A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concepção da bolsa de pós-graduação.*

*“Quando Deus muda nossos planos é porque algo vai melhorar. Confie.”*

*Salmos 37.5 (Bíblia Sagrada)*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO 2 – INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1** - Média do número de brotações (a), percentual de enraizamento (b) em plantas de *Varronia leucocephala* tratadas com soluções auxínicas de ANA ou AIB nas concentrações (0,5; 1,0; 1,5 mg L<sup>-1</sup>). Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).....48
- Figura 2** - Média do número de brotações (a) e percentual de enraizamento (b) em plantas de *Varronia leucocephala* tratadas com solução auxínica de AIB nas concentrações (1,5; 15; 1500 mg L<sup>-1</sup>) acrescidas de zinco ou boro. Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).....51
- Figura 3.** Média de massa seca de parte aérea (a), massa seca da raiz (b), relação raiz/parte aérea (c) e massa seca total (d) em plantas de *Varronia leucocephala* associada com fungos micorrízicos arbusculares: *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum* e o *Claroideoglosum etunicatum* e o controle (sem FMAs). Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).....53
- Figura 4.** Média de porcentagem de enraizamento (a), número de folhas (b), brotações (c) e altura (d) em plantas de *Varronia leucocephala* associada com fungos micorrízicos arbusculares: *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum* e o *Claroideoglosum etunicatum* e o controle (sem FMAs). Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).....55
- Figura 5.** Média da colonização micorrízica (a), eficiência micorrízica (b) e densidade de esporos (c) em plantas de *Varronia leucocephala* associada com fungos micorrízicos arbusculares: *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum* e o *Claroideoglosum etunicatum* e o controle (sem FMAs). Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).....57
- Figura 6.** Teores de Nitrogênio (a) na raiz e na parte aérea, e teores de Fósforo (b) em plantas de *Varronia leucocephala* associadas com fungos micorrízicos arbusculares: *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum* e o *Claroideoglosum etunicatum*. Tratamento controle - sem FMAs. Letras iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a ( $p < 0,01$ ).....60
- Figura 7.** Teores de Potássio na raiz e na parte aérea (a). teores de Sódio na raiz e na parte aérea (b) em plantas de *Varronia leucocephala* associadas com fungos micorrízicos arbusculares: *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum* e o *Claroideoglosum etunicatum*. E o tratamento controle (sem FMAs). Letras iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a ( $p < 0,01$ ).....61

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO 2- DESENVOLVIMENTO DE ESTACAS DE *Varronia leucocephala* (BORAGINACEAE) UTILIZANDO FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E AUXINA ASSOCIADAS A BORO E ZINCO**

**TABELA 1** - Características físico-químicas dos substratos: Solo Natural (substrato antes do experimento); Substratos após o experimento (Tratamento 1 - sem inóculo; Tratamento 2 -contendo inóculo *Acaulospora longula*; Tratamento 3 - contendo inóculo de *Gigaspora albida*; Tratamento 4 - contendo inóculo de *Glomus clarum*; Tratamento 5 - substrato contendo inóculo de *Claroideoglomus etunicatum*, utilizados no experimento, Mossoró/ RN, 2016.....45

## LISTA DE SIGLAS

**AIA** - Ácido indolacético

**AIB** – Ácido Indolbutírico

**ANA** – Ácido Naftalenoacético

**ANAVA**- Análise de variância

**B** – Boro

**C** – Carbono

**CTC** - Capacidade de troca de cátions

**cm** – Centímetro

**DE** - densidade de esporos

**DA** - Densidade aparente

**FMA**s – Fungos micorrízicos arbusculares

**g** – Gramas

**g.g<sup>-1</sup>** - Grama por grama

**g.kg<sup>-1</sup>**- Grama por quilograma.

**K**- Potássio

**m** – Metro

**Mg** – Magnésio

**g.kg<sup>-1</sup> MS** -grama por quilograma de massa seca

**mL. L<sup>-1</sup>**- Mililitros por litro

**mm** – Milímetros

**N** – Nitrogênio

**Na** – Sódio

**°C** - Graus Celsius

**OMS** - Organização Mundial da Saúde

**P** - Fósforo

**PST** – Percentagem de sódio trocável

**pH** -Potencial Hidrogeiônico

**ST**- Sólidos totais

**TDS** - Sólidos totais dissolvidos

**Zn** – Zinco

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

<b>1.0 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>12</b>
<b>2.0 OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
2.1 Geral.....	14
2.2 Específicos.....	14
<b>3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>15</b>
3.1 FAMÍLIA BORAGINACEAE.....	15
3.2 <i>Varronia leucocephala</i> .....	16
3.3 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E O USO DE AUXINAS.....	17
3.4 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES.....	20
3.5 NUTRIÇÃO MINERAL.....	23
3.6 UTILIZAÇÃO DE ZINCO E DO BORO NO ENRAIZAMENTO.....	25
3.7 REFERÊNCIAS.....	27
<b>CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO DE ESTACAS DE <i>Varronia leucocephala</i> (BORAGINACEAE) UTILIZANDO FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E AUXINA ASSOCIADAS A BORO E ZINCO</b>	
<b>RESUMO.....</b>	<b>38</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>49</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>64</b>

## **CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**



## 1.0 INTRODUÇÃO GERAL

A Caatinga é um ecossistema que se destaca pela heterogeneidade e por ser uma região semiárida, entretanto sua paisagem está sendo muito alterada, e encontra-se entre os ecossistemas brasileiros mais ameaçados, sendo marcada pela desertificação, resultante de fatores climáticos, bem como pelas atividades humanas (COSTA et al., 2009), as quais tem colocado muitas espécies de plantas em risco de extinção, mesmo antes de terem sido estudadas (CASTELETI et al., 2004).

A vasta flora da Caatinga além de ser uma inestimável fonte de abastecimento de compostos químicos naturais, sempre teve uma enorme importância para a população regional, pois, dessas espécies são retirados muitos produtos que servem aos mais diversos fins. Dentro desse contexto, as plantas medicinais e aromáticas passaram a ser utilizadas como fonte de compostos químicos que servem à diversos setores da indústria. No entanto, poucas espécies vegetais são utilizadas em larga escala, em atividades que permitam grandes ganhos econômicos (PEREIRA et al., 2003).

As plantas nativas da região semiárida podem ser utilizadas de diversas formas, dentre elas como medicamentos. Porém, a extração e purificação de compostos, em muitos casos, tornam-se inviáveis economicamente, devido à pequena quantidade de princípio ativo, demandando em consequência disso grande quantidade de material vegetal. Além disso, as reservas vegetais nativas, apesar de serem a única opção para certas drogas, não são inesgotáveis e o extrativismo em demasia pode gerar consequências negativas no que diz respeito à conservação das espécies de interesse.

Apesar da Caatinga ser rica em biodiversidade, a exploração predatória das plantas medicinais e o desconhecimento das práticas de cultivo, têm levado a reduções drásticas das populações naturais, culminando na perda de muitos metabólitos ainda não estudados pela química e pela farmacologia (FLORES, 2006). Aliado a isso, ainda são escassos os estudos visando uma exploração racional, com o intuito de contribuir para a conservação e manejo de muitas espécies, bem como o seu estabelecimento para o fornecimento de matéria-prima para exploração comercial, evitando o extrativismo e reduzindo, conseqüentemente, o risco de extinção (MAIA, 2006).

Dentre as espécies endêmicas da Caatinga, com importantes propriedades medicinais, *Varronia leucocephala* se destaca. As plantas dessa espécie possuem porte

arbustivo ou arbóreo-arbustivo, são encontradas em solos arenosos e pedregosos e em áreas antropizadas (VIEIRA et al., 2015). A espécie possui registro nos estados da Bahia, Ceará, Piauí, Pernambuco e Paraíba (MELO et al., 2015), sendo também encontrada no estado do Rio Grande do Norte.

Estudos prévios comprovaram a eficácia terapêutica da *V. leucocephala* em função das cordiaquinonas extraídas de suas raízes (MARINHO-FILHO, 2010). Esse mesmo grupo químico extraído de raízes de outras espécies de *Cordia* como: *Cordia corymbosa*, *Cordia linnaei*, *Cordia curassavica* e *Cordia leucocephala* também apresentaram atividade contra o fungo *Cladosporium cucumerinum*, a levedura *Candida albicans* e as larvas do mosquito *Aedes aegypti*, transmissor da febre-amarela (IOSET et al., 1998; IOSET et al., 2000; ARKOUDIS & STRATAKIS, 2008).

A rápida perda da viabilidade, dormência tegumentar, germinação lenta e irregular são umas das dificuldades encontradas para a produção de mudas de *Cordia trichotoma* via sementes (CARVALHO, 2006; KIELSE et al., 2013). Para a erva baleira (*Varronia curassavica*), a propagação vegetativa através do enraizamento de estacas caulinares constitui-se em um método viável e alternativo à propagação desta espécie, comumente propagada via seminal (PEREIRA et al., 2016). A propagação vegetativa, por meio da estaquia, para algumas espécies acaba sendo uma técnica alternativa e viável em substituição a propagação via sementes.

De acordo com alguns pesquisadores, a espécie *V. leucocephala* quando reproduzidas a partir do processo de propagação vegetativa, apresentaram baixos percentuais de enraizamento e de sobrevivência, indicando que, possivelmente, fatores intrínsecos à espécie estão envolvidos na sua propagação vegetativa por estacas (PAULINO et al., 2011). Uma forma de contornar as dificuldades relacionadas ao processo de iniciação radicular em estacas é a utilização de reguladores de crescimento, como auxinas.

O ácido indolbutírico (AIB) tem sido a auxina mais utilizada por ser altamente efetiva no estímulo ao enraizamento, em função de sua menor mobilidade, por ser menos tóxico e por apresentar maior estabilidade química na planta (HARTMANN et al., 2011). Aliada a utilização do AIB na indução de enraizamento, também se destaca a associação de fungos micorrízicos arbusculares em estacas tratadas com esse tipo de fitorregulador. Essa associação pode melhorar a capacidade de enraizamento e a

qualidade das estacas promovendo um maior número de sobrevivência das mesmas (FATEMEH & ZAYNAB, 2014; YANG et al., 2014).

A utilização de microelementos, dentre estes o manganês, boro, ferro e zinco, também vem sendo muito utilizado no processo de enraizamento de estacas (REJMAN et al., 2002). Esses compostos são conhecidos como cofatores de enraizamento, os quais atuam de forma sinérgica ou aditivamente com as auxinas no processo de formação de raízes (PACHOLCZAK & SZYDŁO, 2008).

Diante do exposto, para *V. leucocephala* torna-se importante investigar a influência de alguns fatores que estejam ligados ao enraizamento de estacas, uma vez que a propagação vegetativa é uma forma eficiente de propagação dessa espécie.

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Desenvolver um protocolo utilizando fitorreguladores e microelementos associados com fungos micorrízicos arbusculares para avaliar o enraizamento e posterior desenvolvimento de estacas de *Varronia leucocephala*.

### **2.2 Específicos**

- Avaliar o tipo e a dose da auxina que proporcione maior percentual de enraizamento e brotação de estacas;
- Avaliar a influência do ácido indolbutírico, do zinco e do boro na percentagem de enraizamento e brotações em estacas;
- Analisar o desenvolvimento e crescimento das estacas tratadas com AIB e zinco associada a fungos micorrízicos;
- Avaliar a colonização micorrízica nas raízes, bem como determinar a densidade de esporos presentes no solo.
- Determinar os teores de macronutrientes N, P, K e Na da parte aérea e radicular.

### 3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 FAMÍLIA BORAGINACEAE

A família Boraginaceae possui cerca de 134 gêneros e 2.650 espécies e no Brasil já foram registrados nove gêneros dessa família e aproximadamente 125 espécies, sendo *Cordia*, *Varronia* e *Tournefortia* os gêneros mais numerosos (VIEIRA et al., 2013). Na Região Nordeste, a família se destaca por concentrar seis gêneros e 39 espécies, o que corresponde a 2,7% do número de espécies deste bioma (GIULIETTI et al., 2006; MELO et al., 2015). Esta família caracteriza-se, morfológicamente, por reunir ervas, subarbustos, lianas e até mesmo árvores. Suas folhas são simples; suas inflorescências são folhosas, glomérulo-globosas e suas flores são pentâmeras com o cálice gamossépalo e a corola gamopétala (MELO, 2012).

Inúmeras espécies pertencente à família Boraginaceae são de uso popular, muitas das quais são produtoras de óleos essenciais, outras fornecem madeira de boa qualidade, inclusive resistente ao ataque de fungos, insetos e microrganismos (SANTOS et al., 2006). Algumas dessas espécies apresentam grande importância econômica, sendo cultivadas como ornamentais, principalmente as dos gêneros: *Heliotropium*, *Mertensia*, *Myosotis*, *Borago*, *Cordia* e *Varronia* (BARROSO et al., 2002).

O gênero *Varronia* é um dos mais numerosos, juntamente com *Cordia* e *Tournefortia* (VIEIRA et al., 2013) e muitas espécies desse gênero são utilizadas na medicina popular, por apresentarem diversas propriedades farmacológicas ou biológicas como: anti-inflamatória e antialérgicas (PASSOS et al., 2007); antifúngica (GUZZO et al., 2010; HERNANDEZ et al., 2007); larvicida (SANTOS et al., 2006; FREITAS, 2010) e antimicrobiana (CARVALHO et al., 2004).

A nomenclatura de algumas espécies que antes estavam posicionadas dentro do gênero *Cordia* foi atualizada para *Varronia* devido à mudança na filogenia, incluindo espécies como: *Varronia curassavica* Jacq; *Varronia globosa* Jacq; *Varronia dardani* e *Varronia leucocephala* (Moric.) J.S.Mill, todas encontradas no Nordeste do Brasil. (MELO, 2012).

### 3.2 *Varronia leucocephala* (Moric.) J.S. Mill.

*Varronia leucocephala* (Moric.) J. S. Mill possui sinonímia científica *Cordia leucocephala* Moric., endêmica da caatinga, associada à caatinga arbustiva e a caatinga arbóreo-arbustiva, sendo encontrada em solos arenosos e pedregosos e em áreas antropizadas, apresentando flores nos meses de Abril e Agosto (VEIRA et al., 2015). A espécie possui registros nos estados na Bahia, Ceará, Piauí, Pernambuco e Paraíba (MELO et al., 2015), sendo também encontrada no estado do Rio Grande do Norte.

No tocante ao uso popular, suas folhas, bem como toda a planta, são utilizadas em infusos ou decoctos contra reumatismo, indigestões e tônico geral (ABRANTES & ANGRA, 2004). O xarope das flores é indicado contra o raquitismo e artrismo (ANGRA, 1996). Estudos feitos em raízes e folhas da *C. leucocephala* proporcionou o isolamento de novos metabólitos secundários, dentre estes as naftoquinonas denominadas cordiaquinona L e cordiaquinona M (DINIZ et al., 2009). O óleo essencial de *V. leucocephala* é constituído principalmente de sesquiterpenoides (92,7%), onde  $\beta$ -cariofileno (39,0%) e bicyclogermacrene (25,9%) se destacam (DINIZ et al., 2014).

Estudos realizados com cordiaquinonas extraídas das raízes de *V. leucocephala* exibiram atividade anticancerígena em células cancerosas (MARINHO-FILHO, 2010). Outros trabalhos têm demonstrado a atividade das moléculas de cordiaquinonas presentes nas raízes de *Cordia corymbosa*, *Cordia linnaei*, *Cordia curassavica* e *Cordia leucocephala* contra *Cladosporium cucumerinum*, *Candida albicans* e as larvas do mosquito *Aedes aegypti*, transmissor da febre-amarela (IOSET et al., 1998; IOSET et al., 2000; ARKOUDIS & STRATAKIS, 2008).

Devido as suas propriedades medicinais, essa espécie tem sido muito utilizada pela população e ou uso intensivo, através do extrativismo, ocasionando consequências negativas para o ambiente. Com o aumento da população e da tendência ao uso de produtos mais naturais, tem crescido a pressão sobre determinadas espécies, podendo levar à eliminação de indivíduos e populações. Diversas partes da planta, tais como cascas, sementes e raízes têm sido extraídas, muitas vezes sem a preocupação com a manutenção ou reposição dos estoques naturais (MING et al., 1996).

As extrações sem controle e sem reposição vêm se repetindo ao longo do tempo, sem nenhuma orientação a respeito do manejo e dos limites de coleta, e aliado a

esse problema, várias espécies são de difícil propagação, provavelmente devido a fatores intrínsecos da própria espécie (PAULINO et al., 2011).

Em função desse cenário, estudos sobre a propagação de espécies é imprescindível, sobretudo daquelas que se destacam pela sua importância medicinal e pela dificuldade na produção de novas mudas, a exemplo da *V. leucocephala*.

### 3.3 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E O USO DE AUXINAS

A propagação vegetativa através de estacas é uma técnica de multiplicação que propicia maior viabilidade econômica principalmente para o plantio comercial, pois gera menor custo e mantém a uniformidade dos compostos de interesse. (MENDES et al. 2014).

A estaquia, por sua vez, é uma alternativa à propagação seminal e se baseia na indução do enraizamento adventício de segmentos destacados de uma planta matriz, formando indivíduos idênticos à mesma (ou clones) (LAFETÁ et al., 2016). Essa técnica permite a obtenção de um grande volume de mudas com baixo custo durante todo o ano, a redução da juvenilidade e o aumento da uniformidade e vigor da produção (Zem et al., 2015).

A formação de raízes adventícias em estacas envolve a formação de células meristemáticas, as quais passam pelo processo de diferenciação em primórdios de raízes e, conseqüentemente, o surgimento de novo sistema radicular que envolve a ruptura de outros tecidos do caule e a formação de ligações com os tecidos vasculares condutores (HARTMANN et al., 2011). Assim, as células que se tornam meristemáticas dividem-se e originam primórdios radiculares, ocorrendo diferenciação de raízes adventícias a partir de células adjacentes ao câmbio e ao floema secundário (GOULART et al., 2014). Estas células totipotentes possuem inclusive a capacidade de realizar a divisão mitótica, diferenciando-se em um novo tecido (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Em plantas perenes lenhosas nas quais se encontra uma ou mais camadas de tecido do floema secundário, as raízes adventícias das estacas de ramos originam-se geralmente do tecido do floema secundário jovem (ALTMAN & WAISEL, 1996). Nas espécies de difícil enraizamento, praticamente todas as raízes se originam do tecido cicatricial (GOULART et al., 2014). Nesse tecido as raízes surgem principalmente por

divisões do câmbio e do parênquima floemático ou de qualquer célula que mantenha a capacidade de desdiferenciação (ALTMAN & WAISEL, 1996). Algumas espécies, como a *Hevea brasiliensis* (seringueira), são consideradas de difícil enraizamento devido à presença de um cilindro quase contínuo de tecidos lignificados que, juntamente com as barreiras químicas, dificultam a emissão de raízes (MEDRADO et al., 1995).

Fatores endógenos da planta matriz e exógenos afetam a capacidade das plantas em iniciar o processo de enraizamento adventício, no processo de propagação vegetativa (PEREIRA et al., 2016). Trata-se de uma interação complexa entre estes fatores que ainda não estão completamente esclarecidos (SOUZA & PEREIRA, 2007). Entre os fatores intrínsecos relacionados à propagação, podem ser destacados o genótipo, as condições fisiológicas e a idade da planta matriz, o balanço hormonal, o tipo de estaca e o estado de maturação em que são colhidas. E como fatores extrínsecos, podem ser destacadas as condições ambientais a que as estacas são submetidas, presença ou ausência de água, temperatura, dentre outros, e essa interação entre os fatores intrínsecos e extrínsecos é utilizada como base para estudos de suas influências no enraizamento (FACHINELLO et al., 2005).

O balanço hormonal é um fator intrínseco relacionado à própria planta, o qual parece ser responsável por influenciar o enraizamento de estacas (PIO et al., 2004; COSTA et al., 2015). A aplicação exógena de reguladores de crescimento, elevando o teor de auxinas no tecido, tem sido adotada como uma forma de contornar as dificuldades relacionadas ao processo de iniciação radicular (PASQUAL et al., 2001; FACHINELLO et al., 2005; ALCANTARA et al., 2010).

As variações fisiológicas que ocorrem na planta matriz durante as diferentes estações do ano também podem exercer grande influência no enraizamento adventício, de forma que as épocas do ano e as condições ambientais específicas para o enraizamento de estacas devem ser determinadas para cada espécie (XAVIER et al., 2013). O processo inicial de formação de raízes adventícias é estimulado por níveis adequados de auxina, classe de reguladores vegetais mais efetivos como indutores da formação de raízes adventícias em estacas, pois estimulam desde a divisão celular até a formação do meristema apical da nova raiz (TAIZ & ZEIGER, 2013). As auxinas também desempenham outros papéis críticos em quase todos os aspectos do

desenvolvimento de plantas, incluindo embriogênese, formação de arquitetura da planta e crescimento trópico (WANG et al., 2015).

O ácido indolbutírico (AIB) e o ácido  $\alpha$ -naftaleno acético (ANA) são as auxinas mais utilizadas em aplicações exógenas e mostram-se bastante eficientes para promover o crescimento de raízes (FACHINELLO et al., 2005). Entretanto, a resposta da planta à auxina endógena ou exógena varia tanto com a natureza do tecido, época do ano, condições fisiológicas da planta e da estaca, quanto com a concentração da substância presente (XAVIER et al., 2013).

As auxinas exógenas quando aplicadas na base da estaca são translocadas para diferentes órgãos da planta, e posteriormente re-transportada para a base da mesma (PEREIRA et al., 2016). Quando a auxina é aplicada na base da estaca, ela é rapidamente transportada pela corrente de transpiração até as folhas, onde exerce a função de ativar maior produção de AIA, que posteriormente será transportado até a região de iniciação radicular (SOUSA & PEREIRA, 2007).

Em espécies mais difíceis de enraizar, como as espécies lenhosas, o AIA endógeno pode ser metabolizado mais rapidamente no centro de produção, quando comparados às espécies de mais fácil enraizamento, resultando em uma baixa concentração de AIA livre para ser transportado para a base das estacas onde ocorrerá o enraizamento (SOUSA & PEREIRA, 2007). As raízes adventícias podem ser originadas em espécies lenhosas por formação direta de raízes, a partir de células próximas ao sistema vascular, ou indireta, quando a divisão celular origina tecidos chamados de calos antes da organização para iniciar o primórdio radicular (HARTMANN et al., 2011).

Propagação por estaquia constitui-se em uma das principais técnicas de propagação vegetativa, podendo ser utilizada para fins comerciais, assim como auxiliar no resgate e conservação de recursos genéticos florestais (XAVIER et al., 2013). Na produção de mudas por estacas, o ácido indolbutírico (AIB) tem sido a auxina sintética mais utilizada por ser altamente efetiva no estímulo ao enraizamento, em função de sua menor mobilidade, por ser menos tóxico e por apresentar maior estabilidade química na planta (HARTMANN et al., 2011).

Estudos feitos com *Varronia curassavica* demonstram que a utilização do AIB favoreceu o enraizamento em estacas desta espécie, aumentando a porcentagem de

enraizamento (MENDES et al., 2014; PEREIRA et al., 2016). O efeito positivo da aplicação do AIB no enraizamento de estacas também foi observado em estacas de *Vaccinium* spp (Mirtilo) (MARANGON & BIASI, 2013) e em miniestacas apicais de *Melaleuca alternifolia* obtendo um incremento de 68% de estacas enraizadas (OLIVEIRA et al., 2012). Como também, altas concentrações de AIB (2000 e 4000 mg/L) favoreceu a sobrevivência e enraizamento de estacas de *Hyptis leucocephala* e *Hyptis platanifolia*, (OLIVEIRA et al., 2011). Os autores ainda constaram maior percentagem de enraizamento naquelas tratadas com 2000 mg/L de AIB

### 3.4 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Embora a maioria das pesquisas esteja focada nos fatores químicos que governam o enraizamento adventício, interações biológicas com fungos e bactérias também têm sido descritas para melhorar a formação e crescimento de raízes.

Aliados a esses fatores de indução de enraizamento, estão os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), os quais se associam de forma simbiótica às raízes, sendo ecologicamente vitais às espécies de plantas superiores. Esses fungos são considerados essenciais para o crescimento, desenvolvimento e sobrevivência de várias plantas terrestres (LONE et al., 2015). Essa simbiose é essencial para a manutenção das comunidades vegetais, influenciando na organização das espécies, na diversidade e na estabilidade dessas comunidades, contribuindo para o funcionamento dos ecossistemas terrestres (JOHNSON & GEHRING, 2007; FINLAY, 2008).

A micorriza arbuscular é uma das mais importantes simbioses pelos benefícios promovidos às plantas, pelo fato de a maioria dos vegetais (mais de 80% das plantas terrestres) formarem essa simbiose e por se tratar de uma associação largamente distribuída no planeta (BONFANTE & GENRE, 2010). Essa associação é formada por fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pertencentes principalmente ao filo Glomeromycota, que consiste em três classes, cinco ordens, 15 famílias, 32 gêneros e mais que 250 espécies descritas (OEHL et al., 2011; GOTO et al., 2012). Os fungos micorrízicos ocorrem em diversas áreas, desde faixas boreais e alpinas até florestas tropicais, pastagens e cultivos (BONFANTE & GENRE, 2010).

Dentre os benefícios promovidos pelos fungos micorrízicos, destaca-se o maior aporte de nutrientes e água para o hospedeiro, promovidos graças ao micélio extra radicular, constituído por hifas finas que se estendem além da zona radicular e penetram em diferentes microsítios do solo (FINLAY, 2008). Os FMAs são organismos importantes na nutrição das plantas, pois contribuem para aumentar a absorção radicular de nutrientes de baixa mobilidade no solo, como P, Zn e Cu (MIRANDA et al., 2008).

Através do aumento da absorção de nutrientes minerais da planta, os fungos micorrízicos desempenham um papel fundamental no estabelecimento e na sobrevivência de espécies nativas da caatinga, promovendo o crescimento das plantas e oferecendo proteção contra a seca e patógenos do solo (AUGÉ, 2001; RODRÍGUEZ et al., 2009). Além disso, os fungos liberam sideróforos, compostos voláteis e fitormônio, que podem atuar direta ou indiretamente no aumento do crescimento da planta, em função da disponibilidade de nutrientes para o seu hospedeiro (HAAS, 2014). Na associação micorrízica as plantas fornecem carboidratos obtidos durante a fotossíntese e em troca os FMAs transferem para os hospedeiros nutrientes minerais, principalmente os de baixa mobilidade, como fósforo e formas indisponíveis de nitrogênio, absorvidos pelas hifas no solo (SILVEIRA, 1992; SIQUEIRA et al., 2010).

Os fungos micorrízicos tem trazido outros benefícios para plantas, tais como crescimento mais acentuado, em função da melhor captura de macro e micronutrientes, melhor resistência contra estresses bióticos e abióticos e alterações em reguladores de crescimentos em plantas hospedeiras (WATTS-WILLIAMS et al., 2014). Os fungos podem secretar substâncias que promovem o crescimento de plantas, tais como a auxina IAA (ácido indol-3-acético), que por sua vez, induz o mecanismo de resistência sistêmica em plantas para prevenir ataque de patógenos (HERMOSA et al., 2012).

Recentemente, estudos com mutantes de tomate relacionados com a auxina indicaram um importante papel desse fitohormônio na colonização micorrízica (FOO, 2013), uma vez que a auxina parece regular a ramificação dos ramos, em parte, regulando as estrigolactonas (BREWER et al., 2009; BEVERIDGE et al., 2010), as quais fazem parte de um grupo recentemente descrito de hormônios vegetais derivados de carotenoides (MATUSOVA et al., 2005; ALDER et al., 2012). As estrigolactonas regulam o desenvolvimento de plantas e interações simbióticas, incluindo a simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (FOO & REID, 2013). Esses compostos

participam também, da regulação de muitos processos fisiológicos incluindo: crescimento das raízes, alongamento dos pelos radiculares, enraizamento adventício, crescimento secundário, germinação e nodulação de sementes (FOO & REID, 2013).

O IAA produzido por fungos pode induzir a formação de raízes laterais e o desenvolvimento de pelos radiculares (SUN et al., 2014). Esta associação também pode promover modificações na taxa de crescimento da raiz, melhorias no crescimento das plantas, até mesmo em áreas de baixa fertilidade ou degradadas, impróprias ao seu crescimento, além da proteção das plantas frente a patógeno e maior resistência a estresses salino e hídrico (MIRANDA, 2005).

A inoculação com fungos micorrízicos em estacas tratadas com AIB também tem proporcionado melhorias na capacidade de enraizamento e na qualidade de estacas, promovendo um efeito vantajoso por facilitar a sobrevivência de mudas ao impacto do transplante (FATEMEH & ZAYNAB, 2014; YANG et al., 2014).

Na propagação vegetativa de estacas, a colonização micorrízica pode ter uma contribuição maior quando o inóculo for aplicado durante a formação de raízes adventícias (YANG et al., 2014). A capacidade de enraizamento em estacas de *Dalbergia melanoxylon* tratadas com AIB foi consideravelmente reforçada quando associada com FMAs (AMRI, 2015). A produção de biomassa é incrementada com o aumento dos produtos da fotossíntese para as raízes, o que estimula a esporulação, colonização micorrízica e produção de glomalina pelo FMA associado a essas plantas (SOUZA et al., 2012).

Os FMAs são largamente utilizados em micropropagação para melhorar o desempenho das mudas propagadas e reduzir o tempo de aclimação (KAPOOR et al., 2008). Como também, a inoculação de micorrizas arbusculares em plantas micropagadas com micorrizas arbusculares resultou em sistema de raiz altamente ramificado, contendo raízes com um diâmetro maior (KAPOOR et al., 2008). Além disso, as inoculações fúngicas podem aumentar a capacidade da planta de superar o estresse relacionado transplante e ao crescimento após o transplante (FINI et al., 2011).

### 3.5 NUTRIÇÃO MINERAL

O solo é o meio que atua como reservatório de minerais necessários às plantas. Sendo assim, a solução do solo é o compartimento de onde a raiz retira ou absorve os elementos essenciais. Os elementos minerais essenciais são geralmente classificados como macro e micronutrientes, de acordo com suas concentrações relativas no tecido vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2013). Além do Carbono, Oxigênio e Hidrogênio (orgânicos), treze elementos (minerais) são considerados essenciais para o desenvolvimento das plantas, sendo estes divididos em dois grupos: Macronutrientes: N, P, K, Ca, Mg e S e Micronutrientes: B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn.

Sendo organismos sésseis, as plantas são constantemente expostas durante o seu ciclo de vida às condições adversas do ambiente, que podem afetar negativamente o crescimento, desenvolvimento ou produtividade (HOSSAIN et al., 2012). Depois de terem sido absorvidos pelas raízes, esses elementos são translocados para diversas partes das plantas, os quais são utilizados em numerosas funções biológicas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Os fungos micorrízicos arbusculares são importantes organismos do solo, fundamentais para a nutrição das plantas e para a fertilidade do solo e representam uma ponte para a translocação de água e nutrientes para plantas hospedeiras e como também, assimilados de plantas para fungos (HEIJDEN et al., 2009)

A nutrição é um fator chave na determinação da morfogênese radicular através de efeitos na formação de raízes laterais e no controle do comprimento e densidade radiculares (ASSIS, 2001). Embora o enraizamento adventício e a nutrição mineral estejam intimamente relacionados, poucos estudos têm tentado caracterizar os efeitos de minerais específicos no processo de enraizamento (SCHWAMBACH et al., 2005).

A importância da simbiose FMA-planta está relacionada à maior exploração do solo por parte da rede de hifas que colonizam as raízes funcionando como uma extensão do sistema radicular, assim as plantas apresentam vantagens na absorção de nutrientes de pouca mobilidade como o Fósforo (P), Cobre (Cu) Magnésio (Mg) e Zinco (Zn) (BERBARA et al., 2006). Estendendo-se para além das zonas de depleção de nutrientes minerais de raiz, os FMAs podem proporcionar às plantas hospedeiras até 80% e 25% de suas necessidades de Fósforo (P) e Nitrogênio (N), respectivamente (LI et al., 1991;

MARSCHNER & DELL, 1995; WEREMIJEWICZ et al., 2016). Vários experimentos mostraram a capacidade dos fungos micorrízicos arbusculares de absorver N, P, K, Ca, S, Cu e Zn do solo e transloucar para plantas associadas (NOURI et al., 2014)

A planta, através da fotossíntese, fornece energia e carbono para a sobrevivência e multiplicação dos fungos, enquanto estes absorvem nutrientes minerais e água do solo transferindo-os para as raízes da planta, estabelecendo assim a simbiose mutualística (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Os nutrientes minerais têm funções essenciais e específicas no metabolismo das plantas: podem funcionar como constituintes de estruturas orgânicas, como ativadores de reações enzimáticas, ou como transportadores e osmorreguladores (MARSCHNER & DELL, 1995). Pode melhorar também a abundância de moléculas bioativas como açúcares, macro e microelementos e outros fitoquímicos que tem recebido muita atenção (LONE et al., 2015)

Os FMAs podem, ainda, promover efeitos positivos adicionais à qualidade nutricional da planta, considerados secundários ou de ação biorreguladora, além de benefícios decorrentes da ação biocontroladora, quando reduzem a severidade de doenças ou como agentes bióticos que amenizam os danos ocasionados por estresses abióticos; além de reduzir estresses hídricos e melhorar a agregação do solo (SIQUEIRA et al., 2010).

A utilização do FMA pode adquirir grande importância às culturas que passam pela fase de muda em substratos, os quais devem ser, segundo a recomendação, isentos de microrganismos para não transmitirem possíveis agentes patogênicos (SILVEIRA; GOMES, 2007). Sendo assim, os FMA podem colaborar para a utilização de menor quantidade de fertilizantes e, mais adiante, de proporcionar maior desenvolvimento e nutrição das plantas, abreviando a época de transplante e aumentando a sobrevivência de mudas no campo (SIQUEIRA, 1996).

Diante do exposto, fica evidente a importância das auxinas e dos microelementos boro e zinco para o processo de enraizamento em estacas. É importante destacar também, a importância do incentivo às pesquisas acerca da simbiose entre os FMAs e plantas que habitam regiões que enfrentam corriqueiros fatores de estresses ambientais, visto que esses fungos promovem melhor desenvolvimento das plantas em seu habitat natural.

### 3.6 UTILIZAÇÃO DO ZINCO E DO BORO NO ENRAIZAMENTO

Outro fator que também pode auxiliar o enraizamento de estacas são os nutrientes minerais. No entanto, poucos são os estudos relacionados aos efeitos dos micronutrientes, principalmente no que se refere a sua influência na atividade dos reguladores de crescimento envolvidos nos processos de enraizamento adventício (NICOLOSO et al., 1999).

Os micronutrientes são essencialmente requeridos para balancear o crescimento e desenvolvimento de plantas (GRAHAM et al., 2001). Qualquer nutriente associado à diferenciação e à formação de sistema radicular é considerado essencial para a iniciação da rizogênese (CUNHA et al., 2009). Dentre esses nutrientes, os microelementos manganês, boro, ferro e zinco se destacam como os mais ativos no enraizamento de estacas (REJMAN et al., 2002).

O zinco é essencial para o metabolismo das plantas, principalmente devido a sua atuação como cofator enzimático (RUBIO et al., 2009); por regular processos fisiológicos e metabólicos em plantas (RAMESH et al., 2004); desempenhar um papel vital na divisão e expansão celular; participar da síntese de proteínas e do metabolismo de carboidratos, ácidos nucleicos e lipídios (LEPP, 1981). Além disso, o zinco é um constituinte de uma metaloenzima e cofator de várias enzimas, tais como anidrases, desidrogenases, oxidases e peroxidases; desempenha um importante papel na regulação do metabolismo do nitrogênio, multiplicação celular, na fotossíntese e na síntese de auxinas em plantas (SHIER, 1994). Requerido na síntese do triptofano, o zinco também atua como um precursor do ácido indolacético, que é um fitohormônio envolvido na formação de raízes adventícias (MENGEL & KIRKBY, 1979; BLAKESLEY et al., 1991).

O mecanismo de ação do zinco é diferente dos cofatores auxínicos típicos, pois quando aplicado, ele estimula a biossíntese da auxina endógena, resultando na relação de troca auxina/citocinina o que incrementa a formação de raiz (PACHOLCZAK & SZYDLO, 2008). Acetato de zinco amoniacal, por exemplo, pode proporcionar o crescimento radicular em um grande número de culturas, tais como *Zea mays* (milho) e *Brassica napus* (canola) (PACHOLCZAK & SZYDLO, 2008). Culturas tratadas com zinco têm apresentado maior volume de raiz, maior resistência à seca, proporcionando

maior produtividade (PACHOLCZAK & SZYDLO, 2008). Doses de 30  $\mu\text{M}$  de Zn levaram ao enraizamento de 100% estacas de *Eucalyptus globulus*, enquanto o tratamento com ausência de Zn teve um enraizamento na ordem de 75%, não diferindo do tratamento controle (concentração de 9  $\mu\text{M}$ ) (SCHWAMBACH et al., 2005). Os autores ainda observaram que doses de 60  $\mu\text{M}$  de Zn no meio de indução e de formação resultaram em um maior número de raízes. Estudos publicados recentemente por Szydło e Pacholczak (2007) também confirmam a estimulação do zinco em conjunto com a auxina no enraizamento de estacas de arbustos ornamentais.

Porém, apesar disso, e de comprovada essencialidade do Zn em outros processos metabólicos da planta, pouca atenção até o presente momento foi dispensada ao seu possível uso como cofator importante no enraizamento, podendo até mesmo substituir a utilização de auxinas sintéticas (NICOLOSO et al., 1999).

Outro elemento que possui uma elevada importância no processo de enraizamento é o boro (B) (TAIZ & ZEIGER, 2013). O B é um micronutriente de grande importância para as plantas por atuar, dentre outras funções não totalmente esclarecidas, na biossíntese de lignina, na indução de raízes adventícias e germinação do grão de pólen, no processo de fotossíntese, metabolismo e transporte de carboidratos, manutenção da integridade de paredes e membranas celulares, entre outras (MALAVOLTA, 2006). Além disso, o B pode otimizar a atividade da enzima oxidase sobre AIA, regulando os níveis endógenos desta auxina (HARTMANN et al., 2011). O boro adicionado à auxina tem como função proporcionar aumento na formação e crescimento das raízes (VALMORBIDA & LESSA, 2008). Como também, o boro, assim como o zinco, é tido como um cofator ativo no processo de enraizamento de estacas (REJMAN et al., 2002).

Alguns trabalhos demonstram seu efeito benéfico no desenvolvimento de estacas como por exemplo: Estacas de *Hylocereus undatus*, imersas em solução com boro tiveram o crescimento e desenvolvimento da massa radicular elevada (SANTOS et al., 2010). Para miniestacas de *Eucaliptos cloeziana*, *Eucaliptos dunnii* e *Corymbia citriodora* as concentrações mais altas de B no tecido foliar se correlacionaram positivamente com o enraizamento adventício (TRUEMAN et al., 2013). No crescimento de mudas clonais da Erva-mate, BENEDETTI et al. (2014) observaram que doses próximas a 5,0  $\text{mg L}^{-1}$  de B na solução nutritiva resultaram em engrossamento das

raízes, que pode ter sido a causa da redução do crescimento das mudas em doses elevadas do micronutriente, por apresentarem menor eficiência na absorção de nutrientes e água. Estas mesmas soluções nutritivas com 1,0 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de Zn e B respectivamente associadas à aplicação de AIB em estacas de *Eucalyptus benthamii* resultaram em acréscimo no enraizamento adventício (BRONDANI et al., 2014). Esses autores atribuem este efeito à demanda de Zn na síntese de triptofano, favorecendo a síntese de auxinas endógenas promotoras da rizogênese na estaca.

## 1.2 REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F. **Plantas da Medicina Popular dos Cariris Velhos, Paraíba, Brasil**. Editora União. 1996. 112p.
- ABRANTES, H. F. L.; AGRA, M. F. Estudo etnomedicinal das Boraginaceae na caatinga paraibana, Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.85, n.1, p.7-12, 2004.
- ALDER, A.; JAMIL, M.; MARZORATI M.; BRUNO, M.; VERMATHEN M, BIGLER P. The path from  $\beta$ -carotene to carlactone, a strigolactone-like plant hormone. **Science**, v.51, p. 335:1348, 2012.
- ALCANTARA, G. B.; OLIVEIRA, Y.; LIMA, D. M.; FOGAÇA, L. A.; PINTO, F.; BIASI, L.A. Efeito dos ácidos naftaleno e indolbutírico no enraizamento de estacas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 3, p. 317-321, 2010.
- ALTMAN, A.; WAISEL, Y. Biology of root formation and development. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 93, n. 23, p. 376, 1996.
- AMRI, E. Influence of Arbuscular mycorrhizal fungi on rooting ability of auxin treated stem cuttings of *Dalbergia melanoxylon* (Guill and Perr.) **Research Journal of Botany** v. 10, n. 3, p. 88-97, 2015.
- ARKOUDIS, E.; STRATAKIS, M. Synthesis of cordiaquinones B, C, J, and K on the basis of a bioinspired approach and the revision of the relative stereochemistry of cordiaquinone C† **Journal Organic Chemical**, v. 73, n. 12, p. 4484-4490, 2008.
- ASSIS, T. F. Evolution of technology for cloning *eucalyptus* in large scale. in: iufro international symposium, Valdivia. **Proceedings**. Chile: embrapa/cnpf, 2001
- AUGÉ R M. Water relations, drought and VA mycorrhizal symbiosis. **Mycorrhiza**, v. 11, n. 3, p. 3-42, 2001.

BARROSO, I. C. E. O gênero *Cordia* L.: Botânica, química e farmacologia. **Revista Lecta**, v.20, p. 15-34, 2002.

BENEDETTI, E. L. et al. Boro no crescimento de mudas de erva-mate em solução nutritiva. In: Congresso sudamericano de yerba mate, 6., simposio internacional de yerba mate y salud, 2., 2014, Montevideo. Memorias... [S.l]: Grupo Interdisciplinario de Yerba Mate y Salud, 2014.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. III – **Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição**. In FERNANDES, M.S.. Nutrição Mineral de Plantas,. Ed. SBCS, Viçosa. 2006, 53-85.

BEVERIDGE, C. A. Axillary bud outgrowth: sending a message. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 1, p. 35-40, 2010.

BONFANTE P GENRE A. Mechanisms underlying beneficial plant– fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. **Nature Communications**, v. 1, n. 48, p. 2010.

BRONDANI, G. E.; BACCARIN, F. J. B.; BERGONCI, T.; GONÇALVES, A. N.; ALMEIDA, M. Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii*: efeito do genótipo, aib, zinco, boro e coletas de brotações. **Cerne**, v. 20, n. 1, p. 147-156, 2014.

BLAKESLEY, D.; WESTON, G. D.; HALL, J. F. The role of endogenous auxin in root initiation. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v. 10, p. 341-353, 1991.

BREWER, P. B.; DUN, E.A.; FERGUSON, B. J.; RAMEAU, C.; BEVERIDGE, C.A. Strigolactone acts downstream of auxin to regulate bud outgrowth in pea and Arabidopsis. **Plant Physiology**, v.150, n.1, p. 482–493, 2009

CARVALHO, J. R.; RODRIGUES, R.F.O.; SAWAYA, A.C.H.F.; MARQUES, M.O.M.; SHIMIZU, M.T.; *Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Cordia verbenaceae D.C.*; **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p.297-301, 2004.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica/Colombo: Embrapa Florestas, 2006. v. 2. 628p.

CASTELETI, H., SANTOS, A. M. M. TABARELLI, M. SILVA. M. C. Quanto ainda resta da Caatinga? Uma estimativa preliminar. In: LEAL. I. R. TABARELI, M. SILVA, J. M. C. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Ed. Universitária da UFPE, 2003. p. 719-734

COLLINS, J. C. **Zinc**. In: LEPP, N. W. Effect of Heavy Metal Pollution on Plants. Springer Netherlands. 1981 p. 145-169.

COSTA, E. M.; LOSS, A.; PEREIRA, H. P. N.; ALMEIDA, J. F. Enraizamento de estacas de *Bougainvillea spectabilis* Willd. com o uso de ácido indolbutírico. **Acta Agronômica**, v. 64, n. 3, p. 221-226, 2015.

CUNHA, A. C. M. C.; PAIVA, H. N.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. *Revista Florestal Brasileira*, n. 58, p. 35-47, 2009.

DINIZ, J. C.; VIANA, F. A.; OLIVEIRA, O. F.; MACIEL, M. A.; TORRES, M. C.; BRAZ-FILHO, R.; SILVEIRA, E.R.; PESSOA, O. D. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR assignments for two new cordiaquinones from roots of *Cordia leucocephala*, **Magnetic Resonance Chemistry**, v. 47, p.190–193, 2009.

DINIZ, J. C.; VIANA, F. A.; OLIVEIRA, O. F.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. H. Chemical Composition of the Leaf Essential Oil of *Cordia leucocephala* Moric from Northeast of Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, n. 6, p.495-496, 2014.

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

FATEMEH, B., ZAYNAB, M. Enhanced Rooting of Leaf Bud Cuttings of *Schefflera arboricola* Using Mycorrhizal Fungi, **Annual Research & Review in Biology**, v. 4, n. 18, p.2892-2900, 2014

FINLAY, R.D. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. **Journal of Experimental Botany**,v.59, n. 5,p.1115–1126, 2008.

FOO, E. Something old, something new: Auxin and strigolactone interact in the ancient mycorrhizal symbiosis. **Plant Signaling & Behavior**, v. 8, n. 4, 2013.

FOO, E AND REID, J. B. Strigolactones: New Physiological Roles for an Ancient Signal. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 32, n. 2, p. 429–442, 2013.

FREITAS, H. P. S. **Estudo químico e farmacológico de Cordia polycephala (Lam.) I. M. Johnston (Boraginaceae)**. 2010. 167f. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal Do Ceará, Fortaleza.

GIULIETTI, A. M.; CONCEIÇÃO, A. A.; & QUEIROZ, L. P. Nordeste semi-árido: caracterização geral e lista das espécies fanerógamas. In: GIULIETTI, A.M.; Conceição, A.A. & Queiroz, L.P. (eds.). *Diversidade e caracterização das fanerógamas do Semi-árido brasileiro*. Associação Plantas do Nordeste, Recife. p. 15-40. 2006

GOULART, P. B.; XAVIER, A.; IAREMA, L.; OTONI, C.W. Morfoanatomia da rizogênese adventícia em miniestacas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, p. 521-532, 2014.

GOTO, B. T.; SILVA, G. A. S.; ASSIS, D. M. A.; SILVA, D. K. A.; RENATA G. SOUZA, R. G.; FERREIRA, A. C. A.; JOBIM, K.; , MELLO, C. M. A.; HELDER E.E. VIEIRA, H. E. E.; MAIA, L. C.; FRITZ OEHL, F. Intraornatosporaceae (Gigasporales),

a new family with two new genera and two new species **Mycotaxon**, v.119, p. 117–132, 2012.

GRAHAM, R. D., WELCH, R. M. & BOUIS, H. E. Addressing micronutrient malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods: principles, perspectives and knowledge gaps. **Advances in Agronomy**, v.70, p. 77-142. 2001.

GUZZO, R. N.; MACHADO, L.; SANTOS dos, R.B.; LACERDA Jr., V.; GRECO, S.J.; COLE, E.R. **Extração e estudo da atividade biológica do óleo essencial de *Cordia verbenacea* (erva-baleeira)**. In: 33 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2010.

HARTMANN, H. T., KESTER, D. T.; DAVIES JR., F.T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles e practices**. 8.ed. New Jersey: Prentice Hall, p 918, 2011.

HAAS, H. Fungal iderophore metabolism with a focus on *Aspergillus fumigatus*. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 10, p. 1266–1276, 2014.

HERNANDEZ. T.; CANALES. M.; TERAN. B.; AVILA. O.; DURAN. A.; GARCIA. A.M.; HERNANDEZ. H.; ANGELES-LOPEZ. O.; FERNANDEZ-ARAIZA. M.; AVILA. G. Antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Cordia curassavica* (Boraginaceae). **Journal Ethnopharmacology**, v. 111, n. 1, p.137-141, 2007.

HERMOSA, R; VITERBO, A; CHET, I; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, n.158, p. 17-25, 2012.

HEIJDEN, M. G.A. & HORTON, T.R. Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. **Journal of Ecology**, v. 97, p.1139-1150, 2009.

HODGE, A & STORER, K. Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. **Plant Soil**, v. 386, n. 1, p. 1-19, 2014.

IOSET, J. R.; MARSTON, A.; GUPTA, M. P.; HOSTETTMANN, K.. Antifungal and larvicidal meroterpenoid naphthoquinones and a naphthoxirene from the roots of *Cordia linnaei*, **Phytochemistry**, v. 47, n. 5, p.729–734, 1998.

IOSET, J. R.; MARSTON, A.; GUPTA, M. P.; HOSTETTMANN, K. Antifungal and larvicidal cordiaquinones from the roots of *Cordia curassavica*. **Phytochemistry**, v. 53, n. 5, p. 613–617, 2000.

JOHNSON, N.C., GEHRING, C.A. Mycorrhizas: **Symbiotic mediators of rhizosphere and ecosystem processes**. In: CARDON, Z.G.; WHITBECK, J.L. The rhizosphere – an ecological perspective. USA, Elsevier Academic Press, p.73-100, 2007.

KAPOOR, R.; SHARMA, D.; BHATNAGAR, A. Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications. **Scientia. Horticulturae**, v. 116, n. 3, p.227-239, 2008.

KIELSE, P.; DILSON A. B.; MICHELE H.; FREDERICO D F.; ALENCAR X.; MARCELO A. R. Propagação vegetativa de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steudel por estaquia radicular. **Revista Árvore**, v. 37, n. 1, p.59-66, 2013.

LAFETÁ, B. O.; MATOS, M. P.; LAGE, P.; FERRARO, A. C.; PENIDO, T. M. A. Ácido indol-3-butírico (AIB) no enraizamento de estacas de fedegoso gigante. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 36, n. 88, p. 489-496, 2016.

LI, X. L.; MARSCHNER, H., GEORGE, E. Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover. **Plant Soil**, v. 136, p. 49-57, 1991.

LONE, R.; SHUAB, R.; SHARMA, V.; KUMAR, V.; MIRKOUL, K. K. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and Development of Potato (*Solanum tuberosum*) Plant. **Asian Journal of Crop Science**, v. 7, n. 3, p.233-243, 2015.

MARINHO-FILHO, J, D, B.; BEZERRA, D. P.; ANA J. ARAÚJO, A. J.; MONTENEGRO, R. C.; PESSOA, C.; DINIZ, J. C.; F. V.; OTÍLIA D.L. PESSOA.; EDILBERTO R. SILVEIRA , MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO. L. V. Oxidative stress induction by (+)-cordiaquinone J triggers both mitochondria-dependent apoptosis and necrosis in leukemia cells **Chemico-Biological Interactions**. v. 183, n. 3 p.369-379, 2010.

MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed. Editora: UFLA, 2006, p.729.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. p. 638.

MAIA, S. S. S. **Propagação, adubação orgânica e níveis de radiação nas características anatômicas e composição de óleo essencial em *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Lamiaceae**. 2006, 150f. Tese (Doutorado em Fitotécnia) - Universidade Federal de Lavras, lavra- MG.

MARANGON, M. A.; BIASI, L. A. Estaquia de mirtilo nas estações do ano com ácido indolbutírico e aquecimento do substrato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 1, p. 25-32, 2013.

MARSCHNER, H & DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, v.159, n.1, p.89–102,1994 DOI: 10.1007/BF00000098

MATUSOVA, R.; RANI, K.; VERSTAPPEN, F. W. A.; FRANSSEN, M. C. R.; BEALE, M. H.; BOUWMEESTER, H. J. The strigolactone germination stimulants of

the plant-parasitic *Striga* and *Orobanch*e spp. are derived from the carotenoid pathway. **Plant Physiology**, v. 139, p. 920-934, 2005.

MEDRADO, M. S. J.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; COSTA, J. D. Alterações anatômicas em estacas de seringueira (*Hevea brasiliensis* clone RRIM 600) em resposta a diferentes técnicas de indução de enraizamento. **Scientia Agrícola**, v. 52, n. 1, p. 89-95, 1995.

MELO, J. I. M. Synopsis of Boraginaceae *sensu lato* in the Caatingas of the São Francisco River, Northeastern Brazil **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, v. 72, n. 1, 2015.

MELO, J. I. M. Flora do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil: Boraginaceae *sensu lato* **Biotemas**, v. 25, n. 4, p. 109-120, 2012

MENDES, A. D. R.; LACERDA, T. H. S.; ROCHA, S. M. G.; MARTINS, E. R. Reguladores vegetais e substratos no enraizamento de estacas de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 16, n. 2, p.262-270, 2014.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A.; HARALD K.; THOMAS, A. **Principles of plant nutrition**. Springer Netherlands 2001. p. 849.

MIDDLETON W, JARVIS BC & BOOTH A. The boron requirement for roots development in stem cutting of *Phaseolus aureus* Roxb. **New Phytology**, v. 81, p. 278. 1978.

MING, L. C.; SILVA, S. M. P.; SILVA, M. A. S.; HIDALGO, A. F.; MARCHESE, J. A.; REIS, M.S. dos. Manejo sustentado de plantas medicinais em ecossistemas tropicais. In: DI STASI, L. C. (organizador) 1996. **Plantas Medicinai**s: arte e ciência. **Um guia de estudo multidisciplinar**. Ed 1. São Paulo, p. 199-215.

MIRANDA, J. C. C.; VILELA, L.; MIRANDA, L. N. Dinâmica e contribuição da micorriza arbuscular em sistemas de produção com rotação de culturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 10, p.1005-1014, 2005.

MIRANDA, E. M.; JÚNIOR, O. J. S & SILVA, E. M.R. Seleção de fungos micorrízicos arbusculares para o amendoim forrageiro consorciado com braquiária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v.43, n.9, p.1185-1191, 2008

NOURI E.; BREUILLIN, S F.; REINHARDT D, F. U.. Phosphorus and nitrogen regulate arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Petunia hybrida*. **PLOS ONE**, v.10, n.4): e0127472.

NICOLOSO F. T.; LAZARRI, M.; FORTUNATO, R. P. Propagação vegetativa de *Platanus acerifolia*. Efeito da aplicação de zinco, boro e ácido indolbutírico no enraizamento de estacas. **Ciência Rural**, v. 29, n. 3, p.487-492, 1999

OEHL, F.; SILVA, G. A.; GOTO, B. T.; SIEVERDING, E. *Glomeromycota*: three new genera, and glomoid species reorganized. **Mycotaxon**, v. 116, p. 75-120, 2011.

OLIVEIRA, Y.; ALCANTARA, G. B.; GUEDES, I.; PINTO, F.; QUOIRIN, M.; BIASI, L. A. Substratos, concentrações de ácido indolbutírico e tipos de miniestacas no enraizamento de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 611-616, 2012.

OLIVEIRA, L. M.; NEPOMUCENO, C. F.; FREITAS, N. P.; PEREIRA, D. M. S.; SILVA, G. C.; LUCCHESI, A. M. Propagação vegetativa de *Hyptis leucocephala* Mart. ex Benth. e *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 1, p. 73-78, 2011.

PACHOLCZAK, A. & SZYDŁO, W. Effect of ammonium zinc acetate on rooting of stem cuttings in *Physocarpus opulifolius* **Annals of Warsaw University of Life Sciences**, v. 29, p. 59–64, 2008.

PASSOS, G. F. FERNANDES, E. S.; DA CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; PIANOWSKI, L. F.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. Antiinflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 323-333, 2007.

PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D.; VALE, M. R.; SILVA, C. R. R. **Fruticultura comercial: propagação de plantas frutíferas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 137 p.

PAULINO, R. D. C.; HENRIQUES, G. P. D. S. A.; COELHO, M. D. F. B.; NETO, H. D. S. L.; DOMBROSKI, J. L. D. Diferentes substratos na propagação por estaquia de *Cordia globosa* e *Cordia leucocephala*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 4, p.274–278. 2011.

PEREIRA, D. P.; ÉDIMO, F. A. M.; JEFERSON, C. O. S.; MAYARA, C. P.; BEATRIZ, N. G. Enraizamento adventício de estacas de *Varronia curassavica* Jacq. com uso de ácido indolbutírico **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v. 9, n. 1, p. 113-119, 2016.

PEREIRA, S. C.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L.; GAMARA-ROJAS, G.; LIMA, M.; GALLINDO, F. A. T. **Plantas úteis do Nordeste do Brasil**. Centro Nordestino de Informações sobre Plantas-CNIP; Associação Plantas do Nordeste-APNE, 2003, p.139

PIO, R.; RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N.J.; COELHO, J. H. C.; GONTIJO, T. C. A.; CARRIJO, E. P.; VILLA, F. Enraizamento adventício de estacas apicais de figueira e desenvolvimento inicial das plantas no campo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 1, p. 213-219, 2004.

RAMESH, S. A.; STEVE, C. S.; SCHACHTMAN, D. P. Over-expression of an Arabidopsis zinc transporter in *Hordeum vulgare* increases short-term zinc uptake after

zinc deprivation and seed zinc content. **Plant Molecular Biology**, n.54, n. 3, p. 373–385, 2004

REJMAN, A.; SCIBISZ, K.; CZARNECKI, B. **Nursery production of fruit trees**, in Polish, 2002.

RODRÍGUEZ, E. S.; CRISÓSTOMO, J. A.; NABAIS, C.; FREITAS, H. Belowground mutualists and the invasive ability of *Acacia longifolia* in coastal dunes of Portugal. **Biological Invasions**, v.11, n. 3, p. 651-661, 2009.

RUBIO, V.; BUSTOS, R.; IRIGOYEN, M. L.; CARDONA, L. X.; ROJAS, T. M.; PARES, J. Plant hormones and nutrient signaling. **Plant Molecular Biology**, v. 69, n. 4, p.361–373, 2009.

SANTOS, R. P.; NUNES, E. P.; NASCIMENTO, R. F ; SANTIAGO, G. M. P. ; MENEZES, G. H. A. ; SILVEIRA, E. R. ; PESSOA, O. D. L. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 5, p. 1027-1030, 2006.

SANTOS, C. M. G.; CERQUEIRA, R. C.; FERNANDES. L. M. S.; JOÃO, D. R.; ELIZABETH. O. O. Efeito de substratos e boro no enraizamento de estacas de pitaya. **Revista Ceres**, v. 57, n. 6, p. 795-802, 2010.

SCHWAMBACH, J.; FADANELLI, C. & FETT-NETO, A. G. Mineral nutrition and adventitious rooting in microcuttings of *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology*, v.25, n.4, p. 487-494, 2005.

SHIER W. T. Metals as toxins in plants. **Journal of Toxicology**, v. 13, n. 2, p.205–216, 1994.

SILVEIRA, A. P. D. Micorrizas. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Ed.). **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 257-282

SILVEIRA, A. P. D. & GOMES, V. F. F. Micorrizas arbusculares em plantas frutíferas tropicais. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS. S. S. (Ed.) **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007. p. 57-78.

SIQUEIRA, J. O. et al. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. 716p.

SOUSA, C. S.; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. B.; LIMA, F. S.; OEHL, F. AND MAIA, L. C. Arbuscular mycorrhizal fungi within agroforestry and traditional land use systems in semi-arid Northeast Brazil. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 307-314, 2012.

SOUZA, A. V. & PEREIRA, A. M. S. Enraizamento de plantas cultivadas in vitro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 4, p. 103-117, 2007.

SUN, P. F.; FANG, W. T.; SHIN, L. Y.; WEI, J. Y.; FU, S. F.; CHOU, J. Y. Indole-3-acetic acid-producing yeasts in the phyllosphere of the carnivorous plant *Drosera indica* L. **Plos One**, v. 9, n. 12, 2014.

SZYDŁO W. PACHOLCZAK A., 2007: Wpływ kofaktorów IBA na proces ukorzenia sadzonek pędowych bluszczu pospolitego i ostrokrzewu Meservy. [Effect of IBA cofactors on rooting of stem cuttings in ivy and holly. Mat. konf. XI Naukowa Konferencja Szkółkarska ISiK: Problemy i perspektywy produkcji szkółkarskiej roślin ozdobnych [Conference: Problems and perspectives of ornamental nursery production], Skierniewice 20–21 lutego 2007: 149–157 (in Polish).

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 820p.

TRUEMAN, S. J.; MCMAHON, T. V. & BRISTOW, M. Production of eucalyptus cloeziana cuttings in response to stock plant temperature. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 25, n.1, p. 60-69, 2013

VALMORBIDA, J. & LESSA, A. L. Enraizamento de estacas de *ginkgo biloba* tratadas com ácido indolbutírico e ácido bórico. **Ciência Agrotecnológica**, v. 32, n. 2, p. 398-401, 2008.

VIEIRA, D. D.; MELO, J. I. M.; CONCEIÇÃO, A. S. Boraginales Juss. ex Bercht. & J.Presl in the Ecoregion Raso da Catarina, Bahia, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 15, n. 3, p. 1-17, 2015.

VIEIRA, D. D.; CONCEIÇÃO, A. S.; MELO, J. I. M.; STAPF, M. N. A família Boraginaceae *sensu lato* na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Rodriguésia**, v. 64, n. 1, p. 151-168, 2013.

WANG, G. L.; SUN, S.; XING, G. M.; WU, X. J.; WANG, F.; XIONG, A. S. Morphological characteristics, anatomical structure, and gene expression: novel insights into cytokinin accumulation during carrot growth and development. **PLoS One**, v. 10, n. 7, 2015.

WATTS-WILLIAMS, S. J., TURNEY, T. W.; PATTI, A. F. A.; CAVAGNARO, T. R. Uptake of zinc and phosphorus by plants is affected by zinc fertiliser material and arbuscular mycorrhizas. **Plant Soil**, v. 376, p. 165-175, 2014.

WEREMIJEWICZ, J.; STERNBERG, L. S. L. R. & JANOS. D. P. Common mycorrhizal networks amplify competition by preferential mineral nutrient allocation to large host plants. **New Phytologist**, v. 212, v. 2, p. 461-471, 2016.

YANG, Y.; TANG. M.; SULPICE. R.; CHEN. H.; TIAN, S.; BAN, Y. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Alter Fractal Dimension Characteristics of Robinia pseudoacacia L. Seedlings Through Regulating Plant Growth, Leaf Water Status, Photosynthesis, and

Nutrient Concentration Under Drought Stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, n. 33, p.612–625, 2014.

ZEM, L. M. et al. Estaquia caulinar herbácea e semilenhosa de *Drimys brasiliensis*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 2, p. 396-403, 2015.

**CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO DE ESTACAS DE *Varronia leucocephala*  
(BORAGINACEAE) UTILIZANDO FUNGOS MICORRÍZICOS  
ARBUSCULARES E AUXINA ASSOCIADAS A BORO E ZINCO**

**DESENVOLVIMENTO DE ESTACAS DE *Varronia leucocephala*  
(BORAGINACEAE) UTILIZANDO FUNGOS MICORRÍZICOS  
ARBUSCULARES E AUXINA ASSOCIADAS A BORO E ZINCO**

**RESUMO**

*Varronia leucocephala* é uma planta utilizada pela população para fins terapêuticos e um dos maiores problemas para produção de mudas dessa espécie é o baixo percentual de enraizamento. Portanto, objetivou-se estabelecer um protocolo de enraizamento de estacas de *V. leucocephala* utilizando fitorreguladores e microelementos associados com fungos micorrízicos arbusculares. Em esquema fatorial (2x3), estacas de *V. leucocephala* foram imersas em soluções auxínicas de Ácido naftaleno acético (ANA) ou Ácido indolbutírico (AIB) nas concentrações de: 0,5, 1,0 e 1,5 mg L<sup>-1</sup>. Aos 90 dias foram avaliadas a percentagem de enraizamento e número de brotações com o intuito de estabelecer a melhor auxina para o enraizamento das estacas. Sendo a concentração de 1,5 mg L<sup>-1</sup> de AIB a que proporcionou maior percentual de enraizamento, se propôs, associar os microelementos zinco (ZN) e boro (B) em concentrações maiores de AIB com o propósito de aumentar o percentual de enraizamento e brotação. Na presença do Zn, observou-se incremento na percentagem de enraizamento, no entanto, esse percentual ainda não foi o ideal para uma boa propagação. Para tanto, testou-se a associação de fungos micorrízicos arbusculares junta à concentração de 1500 mg L<sup>-1</sup> de AIB, para avaliar tanto o percentual de enraizamento e brotação quanto o desenvolvimento posterior das plantas, oriundas das estacas. No final dessa etapa, avaliou-se as seguintes variáveis: biomassa seca de parte aérea e raiz, relação raiz/ parte aérea. Concluiu-se que, a utilização de zinco junto a doses mais elevadas de AIB (1500

mg L<sup>-1</sup>) e associada com Fungo micorrízico arbusculares (*Gigaspora albida*) tornaram-se eficientes para a propagação vegetativa de *V. leucocephala*.

**Palavras-chaves: Micorrizas, Microelementos, Ácido indolbutírico, Enraizamento.**

#### **ABSTRACT**

*Varronia leucocephala* is a plant used by population for therapeutic issues, and one of its major problems for the seedlings is the low rooting percentage. Therefore, the objective was the establishment of a rooting protocol for *V.leucocephala* cuttings, using phyto regulators and microelements associated with arbuscular mycorrhizal fungi. In a factorial scheme (2x3), *V.leucocephala* cuttings were immersed in auxinic solutions of Naphthaleneacetic Acid (NAA) or indolbutyric acid (IBA) at doses of 0,5, 1,0 and 1,5 mg L<sup>-1</sup>. After 90 days, the rooting percentage and the number of shoots were evaluated. Considering the IBA concentration of 1,5 mg L<sup>-1</sup> as the one which showed the best rooting percentage, associating the microelements zinc (Zn) and boron (B) at the highest IBA doses was proposed. At the presence of Zn, an increase on the rooting percentage was observed, but still, it was not ideal for a good propagation. For such, the association of arbuscular mycorrhizal fungi with the IBA concentration of 1500 mg L<sup>-1</sup> to evaluate the percentage of root and sprouting, the subsequent development of the plants originated from the cuttings, and the analysis of: total and dry biomass of root and aerial parts, number of leaves, height, mycorrhizal colonization and dependency, spores' density, and nutrients of branches and root. It can be concluded that that use of zinc with the highest doses of IBA (1500 mg L<sup>-1</sup>), associated with arbuscular mycorrhizal fungus (*Gigaspora albida*), became efficient for the vegetative propagation of *V. leucocephala*.

**Key-words. Mycorrhizal, Microelements, indolbutyric Acid, Rootings.**

## INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são muito utilizadas pela população, porém, os estudos que visem uma exploração racional, com o intuito de contribuir para a conservação e manejo de muitas espécies são escassos. O estabelecimento de estratégias para o fornecimento de matéria-prima para exploração comercial, também se faz necessário, com o intuito de evitar o extrativismo, de modo a reduzir os riscos de extinção de várias espécies vegetais (Maia 2006).

Dentre as espécies com potencialidades medicinais, destaca-se *Varronia leucocephala*, pertencente à família Boraginaceae. A espécie é endêmica da Caatinga, e ocorre principalmente nos estados do Piauí, Ceará, Paraíba, Pernambuco e Bahia (Melo et al. 2015), sendo também encontrada no Rio Grande do Norte.

Diversas partes da planta têm sido amplamente utilizadas na medicina popular nordestina (Abrantes & Agra 2004). Cascas e flores são utilizadas para reumatismo, indigestão, hemorragias, inflamação na garganta e artrites (Castro & Cavalcante 2011). Trabalhos com raízes exibiram atividade anticancerígena (Marinho-Filho 2010).

Em função da importância medicinal que a espécie apresenta e do seu uso intensivo pela população, faz-se necessário desenvolver uma técnica de produção de mudas, visto que a espécie apresenta grandes dificuldades na propagação vegetativa através de estacas, provavelmente devido a fatores intrínsecos da própria espécie (Paulino et al. 2011).

Ao longo do tempo, algumas estratégias foram desenvolvidas para maximizar o enraizamento de estacas e dentro desse contexto, as auxinas são muito estudadas. O

ácido indolbutírico (AIB) e o ácido  $\alpha$ -naftaleno acético (ANA) em aplicação exógena, têm mostrado maior eficiência em promover crescimento de raízes (Fachinello et al. 2005). No entanto, segundo Hartmann et al. (2011), para produção de mudas por estacas, o ácido indolbutírico (AIB) têm sido a auxina sintética mais utilizada por ser altamente efetiva no estímulo ao enraizamento, em função de sua menor mobilidade, por ser menos tóxico e por apresentar maior estabilidade química na planta.

A nutrição das plantas torna-se um fator determinante da morfogênese das raízes (Assis 2001), através de efeitos na formação de raízes laterais e no controle do comprimento e densidade radiculares (Schwambach et al. 2005). Vários estudos têm relatado os benefícios da utilização de fungos micorrízicos arbusculares para propagação vegetativa, tais como: aumento significativo da produção, aumento nos parâmetros de enraizamento e crescimento de estacas (Druege et al. 2006; Wang et al. 2008; Oseni et al. 2010). Os microelementos boro e o zinco também têm sido alvo de estudos, pois são considerados cofatores ativos no processo de enraizamento de estacas, sendo necessário no desenvolvimento dos primórdios radiculares e posterior crescimento das raízes (Hartman et al. 2011).

Outro fator que também vem contribuindo para o desenvolvimento de estacas é a utilização de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs). A importância da simbiose FMA-planta está relacionada à maior exploração do solo por parte da rede de hifas que colonizam as raízes funcionando como uma extensão do sistema radicular, assim as plantas apresentam vantagens na absorção de nutrientes de pouca mobilidade como o Fósforo (P), Cobre (Cu) Magnésio (Mg) e Zinco (Zn) (Berbara et al. 2006). Esta associação também pode promover aumento na taxa de crescimento da raiz; incremento no crescimento das plantas, até mesmo em áreas de baixa fertilidade ou degradadas,

impróprias ao crescimento vegetal; proteção das plantas frente a patógenos; e maior resistência a estresses salino e hídrico (Miranda 2005).

Estudos com intuito de avaliar a relação entre fungos micorrízicos associados a estacas tratadas com auxinas e microelementos ainda são escassos. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo de enraizamento de estacas de *V. leucocephala* utilizando fitorreguladores, microelemento associados com fungos micorrízicos arbusculares.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado na Universidade do Estado do Rio Grande do Norte-UERN, em casa de vegetação. Durante o período experimental, a temperatura média da casa de vegetação foi de 35,9 °C e umidade de 68,4%. O solo utilizado no experimento foi coletado no mesmo local de ocorrência da espécie estudada, próximo à UERN (05°12' 10S e 37°18' 57 w) no município de Mossoró/RN.

Com o intuito de se estabelecer um protocolo de enraizamento de estacas de *V. leucocephala*, como uma alternativa de multiplicação da espécie em larga escala, foram conduzidos diferentes experimentos.

### **Indução de enraizamento com auxinas**

As mudas de *V. leucocephala* foram obtidas a partir de estacas com aproximadamente 15 cm de comprimento, retiradas de plantas matrizes encontradas próximo à UERN. Após a coleta, a base das estacas foram imersas em uma solução contendo os hormônios ANA ou AIB nas concentrações de (0,5; 1,0; 1,5 mg L<sup>-1</sup>) por 10 minutos. Após o período de imersão, as estacas foram plantadas em vasos de

polietileno, com capacidade para 8 L contendo o substrato (solo natural + húmus na proporção de 3:1). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3 + 1 (2 fitorreguladores ANA ou AIB x 3 concentrações mais o controle), perfazendo um total de 7 tratamentos, com 5 repetições e cada repetição continha 3 estacas. O experimento foi conduzido de março a maio de 2015 e semanalmente o número de brotações foi quantificado. Ao término do experimento avaliou a percentagem de enraizamento.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $\leq 0,01$ ) de significância. A análise estatística foi realizada utilizando o software ASSISTAT<sup>®</sup>, versão 7.6 beta.

#### **Avaliação da influência do ácido indolbutírico, do zinco e do boro no desenvolvimento das estacas**

Novas estacas foram coletadas no mesmo local supracitado e tiveram suas bases imersas em uma solução auxínica de AIB em diferentes concentrações (1,5; 15; 150 e 1500 mg L<sup>-1</sup>), contendo 100 mg L<sup>-1</sup> de boro ou zinco, por 10 minutos. Para fins de comparação, avaliou-se o tratamento controle, sem auxinas e sem os elementos minerais. Após o tempo de exposição à auxina e aos elementos minerais, as estacas foram plantadas em vasos com capacidade para 8 L contendo o substrato (solo natural + húmus na proporção de 3:1). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 + 1 (4 concentrações de auxina x 2 elementos minerais mais o controle), perfazendo um total de 9 tratamentos, com 5 repetições e cada repetição continha 3 estacas. No tratamento controle, as estacas foram imersas em água e o tempo de imersão foi o mesmo dos demais tratamentos. O

experimento foi conduzido nos meses de setembro a novembro de 2015. Semanalmente o número de brotações foi quantificado e ao término do experimento avaliou a percentagem de enraizamento.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $\leq 0,01$ ) de significância. A análise estatística foi realizada utilizando o software ASSISTAT<sup>®</sup>, versão 7.6 beta.

### **Desenvolvimento de estacas tratadas com AIB, zinco e fungos micorrízicos arbusculares**

Os inóculos dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA): *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum*, *Claroideogломus etunicatum* cedidos pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Para multiplicação dos fungos, foi utilizado areia previamente esterilizada em autoclave a 121<sup>0</sup>C, 1 ATM por 1h e colocada em estufa de circulação forçada a 70 <sup>0</sup>C durante dois dias e posteriormente foi misturada à Vermiculita Expandida <sup>®</sup>. Em casa de vegetação, essa mistura foi distribuída em vasos com capacidade para 8 L nos quais foram postos para germinar sementes de *Panicum milaceum* (Painço), planta que é utilizada como hospedeira dos FMAs, para promover a multiplicação dos mesmos.

O substrato utilizado no experimento foi resultante da mistura do solo coletado e húmus na proporção (3:1), que em seguida foi esterilizado em autoclave a uma temperatura de 121 <sup>0</sup>C e pressão de 1 ATM, durante uma hora para completa remoção de quaisquer microrganismos. Após a esterilização, o solo foi seco por dois dias em estufa de circulação forçada de ar a 70 <sup>0</sup>C. Após a preparação supracitada, os substratos foram caracterizados quanto aos aspectos físicos e químicos, pelo Laboratório de

Fertilidade do solo e nutrição de plantas pertencente a Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), conforme Embrapa (1997), dados apresentados na (Tabela 1).

**Tabela 1-** Características físico-químicas dos substratos: Solo Natural (substrato antes do experimento); Substratos após o experimento (Tratamento 1 - sem inóculo; Tratamento 2 -contendo inóculo *Acaulospora longula*; Tratamento 3 - contendo inóculo de *Gigaspora albida*; Tratamento 4 - contendo inóculo de *Glomus clarum*; Tratamento 5 - substrato contendo inóculo de *Claroideoglomus etunicatum*, utilizados no experimento, Mossoró/ RN, 2016

Atributos	Substratos					
	Solo Natural (SN)	T1	T2	T3	T4	T5
Textura	Areia	Areia	Areia	Areia	Areia	Areia
Silte (%)	4,7	6,23	7,8	8,14	8,54	3,58
Argila (%)	0,78	1,54	1,8	2,47	2,15	0,32
Areia (%)	94,51	92,05	90,3	88,42	88,98	95,64
DA g.cm <sup>3</sup>	1,53	1,56	1,48	1,47	1,53	1,51
ST (ppt)	198,4	196,2	204	201	198,01	204
TSD (ppt)	194,8	188,0	201	197,3	202,9	212,41
N (g/kg)	3,01	4,62	2,17	1,75	1,68	2,38
pH (H <sub>2</sub> O)	7,70	7,30	7,50	7,00	7,50	7,40
Mat.Org (g/kg)	20,98	17,20	18,61	19,45	19,32	21,20
P mg/dm <sup>3</sup>	273,6	32,8	37,1	241,6	220,2	242,2
K <sup>+</sup> (mg/dm <sup>3</sup> )	157,8	549,7	221,7	286,4	296,5	821,3
Na <sup>+</sup> (mg/dm <sup>3</sup> )	209,0	137,1	139,0	404,1	323,3	1009,9
Ca <sup>2+</sup> (cmolc/dm <sup>3</sup> )	8,40	7,40	7,00	7,60	8,60	8,90
Mg <sup>2+</sup> (cmolc/dm <sup>3</sup> )	0,80	2,50	2,20	4,10	1,70	2,40
Al <sup>3+</sup> (cmolc/dm <sup>3</sup> )	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cu (mg/dm <sup>3</sup> )	0,31	0,36	0,37	1,27	0,90	0,75
Fe (mg/dm <sup>3</sup> )	13,8	23,4	21,9	45,3	44,3	48,7
Mn (mg/dm <sup>3</sup> )	62,7	87,4	80,3	29,3	32,9	30,7
Zn (mg/dm <sup>3</sup> )	25,13	37,89	37,59	15,47	15,10	18,17
H+Al (cmolc/dm <sup>3</sup> )	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00
SB (cmolc/dm <sup>3</sup> )	10,51	11,90	10,37	14,19	12,46	17,79
t (cmolc/dm <sup>3</sup> )	10,51	11,90	10,37	14,19	12,46	17,79
CTC	10,51	11,90	10,37	14,52	12,46	17,79
V %	100	100	100	98	100	100
m %	0	0	0	0	0	0
PST %	9	5	6	12	11	25

O pH em água foi determinado na relação solo/água de 1:2,5. CE= Condutividade elétrica do extrato solo/água, na relação 1:2,5. Os elementos P, Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> foram extraídos com o extrator Mehlich-1 na relação solo/extrator de 1:10. O Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, e Al<sup>3+</sup>, foram extraídos com KCL 1mol/L na relação solo/extrator de 1:10. (H+Al) = acidez potencial extraída com acetato de Cálcio 0,5mol/L na relação solo/extrator de 1:15. SB = Soma de bases. t = CTC efetiva. CTC = CTC do solo ou CTC a pH 7,0. V = Saturação por bases. m = Saturação por alumínio. PST = Percentagem de sódio trocável. Salinidade total (ST), Sólidos totais dissolvidos (STD) e Densidade aparente (DA).

Nesse último experimento, estacas de *V. leucocephala* foram coletadas de forma semelhante os experimentos anteriores e foram tratadas com solução auxínica de

AIB na concentração de  $1500 \text{ mg L}^{-1}$  acrescida de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de zinco por 10 minutos. O cultivo das estacas foi realizado em vasos de polietileno com capacidade para 8 L contendo como substrato (solo natural + húmus na proporção de 3:1) e inoculados com uma mistura de solo inóculo fornecendo 200 esporos + hifas + raízes colonizadas de *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum* ou *Claroideoglossum etunicatum* constituindo os tratamentos (T2, T3, T4 e T5) respectivamente. Para fins comparativos, estacas foram plantadas em vasos contendo apenas o substrato (sem FMAs) constituindo o tratamento controle (T1). As plantas foram cultivadas em condições de casa de vegetação e irrigadas diariamente para manter a umidade do solo.

O experimento teve duração de 72 dias e semanalmente o número de brotações foi quantificado. No final do experimento avaliou as seguintes variáveis: altura (cm) de um ramo previamente selecionado, cuja medição se deu entre a inserção da brotação na estaca e o meristema apical, com auxílio de fita métrica; massa seca de parte aérea (MSPA) e radicular (MSR) quantificadas após a secagem do material vegetal em estufa com circulação forçada e renovação de ar a  $70^{\circ}\text{C}$  até a massa constante; relação raiz parte aérea (R/PA); porcentagem de enraizamento; número de folhas que foram contabilizados ao término do experimento. O somatório da MSPA e MSR determinou a massa seca total (MStotal). A partir da MStotal, foi determinada a dependência micorrízica (DM) de acordo com a seguinte fórmula:  $100x \left( \frac{A-B}{A} \right)$  onde A representa a massa seca das plantas micorrizadas e B a massa seca das plantas não micorrizadas (Planchette et al. 1983).

Para avaliação da porcentagem de colonização micorrízica utilizou-se a metodologia de Phillips & Hayman, (1970) com modificações, onde raízes finas foram diafanizadas em KOH 2,5% a  $90^{\circ}\text{C}$  em banho-maria durante 30 minutos, acidificadas

em HCl 1% em banho-maria por 5 min e em seguida coloridas com azul de trypan 2% em lactoglicerol a 90 °C em banho maria por 20 minutos. A taxa de colonização foi estimada pelo método de lâmina, segundo método de Giovanetti & Mosse (1980). Segmentos de raízes, de aproximadamente 1 cm de comprimento, foram avaliadas para verificar a colonização micorrízica através de microscópio óptico, sendo analisados 100 segmentos por repetição. Considerou-se raiz colonizada, todos os fragmentos nos tratamentos inoculados ou não, que continham pelo menos uma estrutura micorrízica (arbúsculos, vesículas ou hifas).

A extração dos esporos de FMAs foi feita pelo método de peneiramento úmido descrito por Gerdemann & Nicolson (1963), onde 50 g de solo foram suspensas em 2 L de água, que em seguida passou por peneiras de 0,42 e 0,053  $\mu\text{m}$  de diâmetro sobrepostas. Logo após, a amostra foi centrifugada a 1106 g por 5 min. Posteriormente, foi adicionada ao precipitado uma solução de sacarose a 50% e o material foi centrifugado mais uma vez a 1106g por 3 min (Jenkins 1964). O sobrenadante foi vertido na peneira de 0,053  $\mu\text{m}$  e o material retido lavado com água de torneira para retirar o excesso de sacarose, sendo depois transferido para um béquer e diluído com água até completar 50 mL. A partir desse volume foi retirada uma alíquota de 0,5 mL a qual foi observada em microscópio estereoscópio (10X), sendo em seguida feita a estimativa de esporos por g de solo utilizado em cada repetição (Malibari 1988).

Foram avaliados ainda os níveis de nutrientes (N, P, K e Na), sendo a determinação de P, K e Na nas folhas e raízes, pelo método de digestão úmida, de acordo com Planck (1992), a quantificação do P foi baseada no método de amarelo de vanadato (Embrapa 2000) e a quantificação do potássio e sódio por espectrometria de chama; a determinação do nitrogênio total obedeceu ao método de Semi-micro Kjeldahl

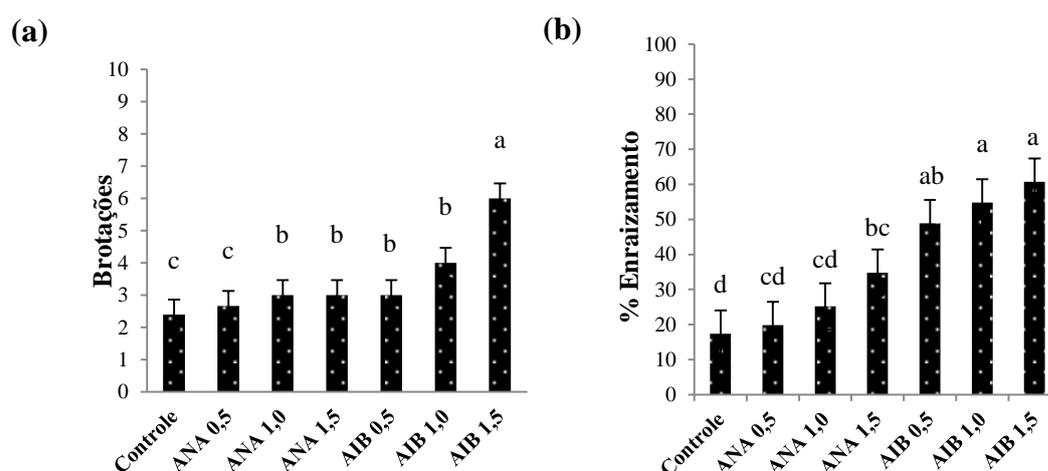
(Aoac, 1990) e a quantificação foi realizada por espectrofotometria conforme descrito por Baethgen & Alley (1989).

O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado, contabilizando cinco tratamentos com 10 repetições cada. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $\leq 0,01$ ) de significância. A análise estatística foi realizada utilizando o software ASSISTAT<sup>®</sup>, versão 7.6 beta.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Indução de enraizamento com auxinas

No presente trabalho, durante o cultivo de *V. leucocephala* observou-se que as estacas tratadas com a auxina AIB a  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  apresentaram maior número de brotações e os maiores percentuais de enraizamento foram observados nas estacas tratadas com AIB a partir de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ , com destaque para as doses de  $1,0$  e  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  que foram as que promoveram aumento acima de 50% do percentual de enraizamento (Figura 1 a e b).



**Figura 1** - Média do número de brotações (a), percentual de enraizamento (b) em plantas de *Varronia leucocephala* tratadas com soluções auxínica de ANA ou AIB nas concentrações (0,5; 1,0;  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ ). Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).

O fitorregulador, ácido indolbutírico (AIB), aplicado de forma exógena, ou seja, na base das estacas foi o que mais favoreceu o processo de iniciação de raízes adventícias em *V. leucocephala*. A utilização da auxina no processo de enraizamento torna-se necessário, pois a auxina é essencial para a formação de raízes laterais e adventícias, por agirem em grupo de células especiais do periciclo, estimulando a divisão celular, ativando em consequência o desenvolvimento do meristema apical de raiz (Taiz & Zeiger 2013).

Resultados semelhantes também foram encontrados por Mendes et al. (2014), os quais observaram que a utilização do AIB também possibilitou um maior percentual de enraizamento como maior número de brotações em estacas de (erva-baleira) *Varronia curassavica*. Os mesmos autores ainda relatam que o ácido naftaleno acético (ANA) não é recomendado para a indução radicial em estacas da erva-baleeira.

O AIB e o ANA têm se revelado como os fitormônios mais eficientes na indução de primórdios radiculares visando o enraizamento (Fachinello et al. 2005). No entanto, quando aplicados em órgãos isolados, dependendo de sua concentração, pode aumentar a resposta rizogênica até certo ponto, e acima da concentração ideal, pode ocorrer efeito inibitório (Goulart et al. 2008).

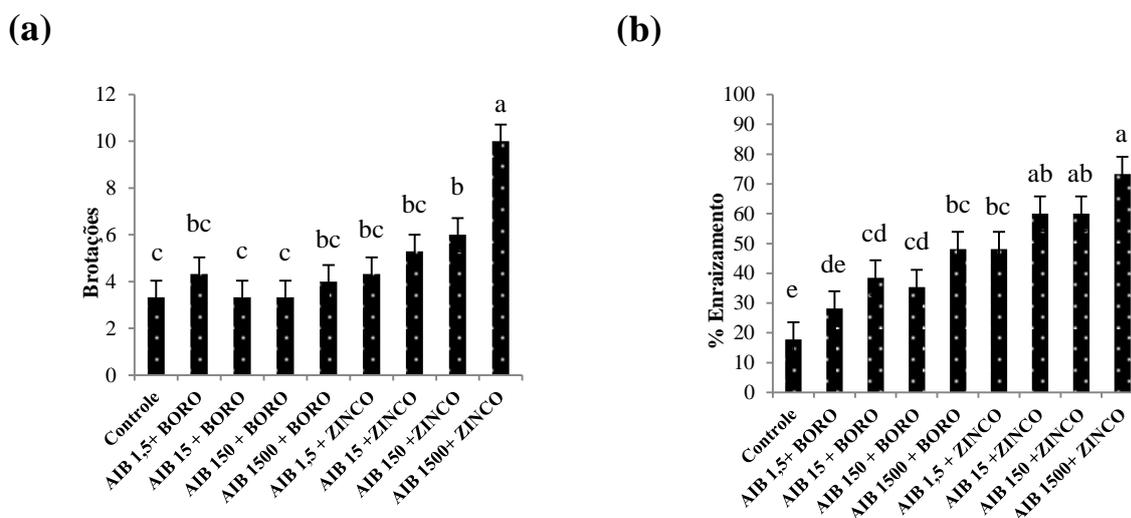
Em conformidade aos resultados obtidos nesse trabalho, outras pesquisas comprovaram que o aumento na concentração de AIB pode proporcionar um maior desenvolvimento de estacas. Estacas lenhosas de jabuticabeira, tratadas com AIB (6.000 mg L<sup>-1</sup>) tiveram sua porcentagem de enraizamento (50%) maior que as tratadas sem o regulador (0%) (Sasso et al. 2009). Doses elevadas de AIB (2.000 mg L<sup>-1</sup>) também promoveram maior taxa de enraizamento (80%) em estacas de *Gingko biloba*

(Valmorbida & Lessa 2008) e em estacas lenhosas de *Bougainvillea spectabilis* (Costa 2014).

Diante dos resultados obtidos nesse experimento e com base na literatura, objetivou-se testar a imersão de estacas de *V. leucocephala* em concentrações mais elevadas de AIB, com o intuito de aumentar o percentual de enraizamento.

### Avaliação da influência do ácido indolbutírico, do zinco e do boro no desenvolvimento das estacas

De acordo com os resultados, o aumento na concentração de AIB acrescido do zinco proporcionou um aumento na percentagem de estacas enraizadas e no número de brotações (Figura 2 a e b).



**Figura 2** - Média do número de brotações (a) e percentual de enraizamento (b) em plantas de *Varronia leucocephala* tratadas com solução auxínica de AIB nas concentrações (1,5; 15; 1500 mg L<sup>-1</sup>) acrescidas de zinco ou boro. Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem pelo teste de Tukey (p≤0,01).

A concentração de 1500 mg L<sup>-1</sup>, associadas com zinco foi a que provocou um efeito estimulador de enraizamento adventício para a espécie *V. leucocephala* (Figura

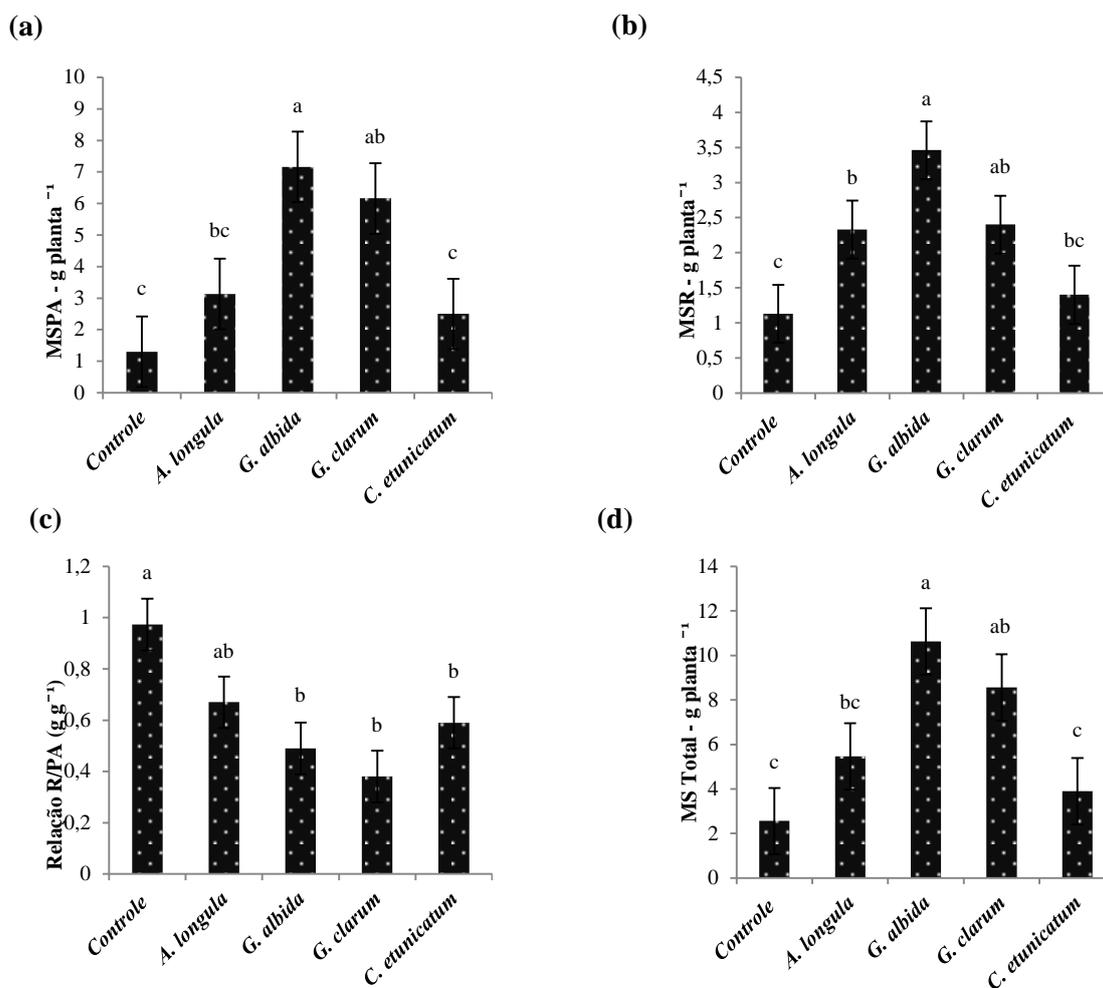
2b). O benefício proporcionado pelo zinco em estacas de *V. leucocephala* se deve a importância deste elemento no processo de rizogênese, pois este mineral atua como um estimulador da biossíntese de auxinas endógenas, alterando a relação auxina/citocinina, resultando por sua vez, numa produção mais abundante de raízes adventícias (Pacholczak et al. 2015). É importante destacar que o Zn é necessário para a biossíntese de triptofano, um precursor de auxina (Milléo & Cristófoli 2015). Em trabalho realizado por Schwambach (2005), estacas de *Eucalyptus globulus* tratadas com 30  $\mu\text{M}$  de Zn apresentaram uma porcentagem de 100% de enraizamento, confirmando a importância desse elemento para o metabolismo da auxina.

O zinco é um elemento essencial no processo de enraizamento adventício (Castro et al. 2012), e também exerce um importante papel na otimização da atividade da enzima oxidase sobre AIA, regulando os níveis endógenos desta auxina (Hartmann et al. 2011). Neste trabalho o elemento boro não se mostrou significativo aos resultados do percentual de enraizamento e brotações em relação ao zinco. A adição de boro às soluções auxínica, também não promoveu um efeito positivo no incremento de enraizamento de estacas de Kiwi (Ono et al. 1995). Como também, a utilização de B não afetou a taxa de enraizamento e de sobrevivência das estacas de *Ginkgo biloba*, não sendo observada interação entre a concentração de AIB e a utilização ou não de boro (Valmorbida & Lessa 2008).

### **Desenvolvimento de estacas tratadas com AIB, zinco e fungos micorrízicos arbusculares**

A associação micorrízica incrementou a produção da parte aérea e da raiz, e por consequência a massa seca total (Figura 3). De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que os valores de MSPA, MSR, MStotal e relação R/PA apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,01$ ) entre os tratamentos. Através dos resultados de relação R/PA verificou-se que nas plantas micorrizadas com *G. albida* e *G. clarum* houve maior

incremento de parte aérea, enquanto que nas plantas do controle a relação foi de aproximadamente 1, ou seja, os valores de MSPA e MSR foram semelhantes (Figura 3 c). A eficiência dos fungos micorrízicos *G. albida* e *G. clarum* para o desenvolvimento de parte aérea da espécie *V. leucocephala* foi comprovada.



**Figura 3.** Média de massa seca de parte aérea (a), massa seca da raiz (b), relação raiz/parte aérea (c) e massa seca total (d) em plantas de *Varronia leucocephala* associada com fungos micorrízicos arbusculares: *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum* e o *Claroideoglomus etunicatum* e o controle (sem FMAs). Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).

Os fungos *G. albida* e o *G. clarum* se destacaram, em aumentar a produção de massa seca da parte aérea, tendo um incremento de 400%, diferenciando-se

significativamente em relação ao controle (Figura 3a). Já a espécie *C. etunicatum* foi a que proporcionou o menor incremento na produção da parte aérea, no entanto, mesmo apresentando o menor desenvolvimento de parte aérea dentre as espécies de fungos, o *C. etunicatum* promoveu aumento de massa seca da parte aérea em relação ao controle, confirmando dessa forma a eficiência dos FMAs no desenvolvimento vegetativo de *V. leucocephala*. A matéria seca da parte aérea de *Amburana cearenses* também teve um incremento em torno de (52%) em planta inoculadas com *G. albida* quando comparada com plantas não inoculadas (Oliveira 2015).

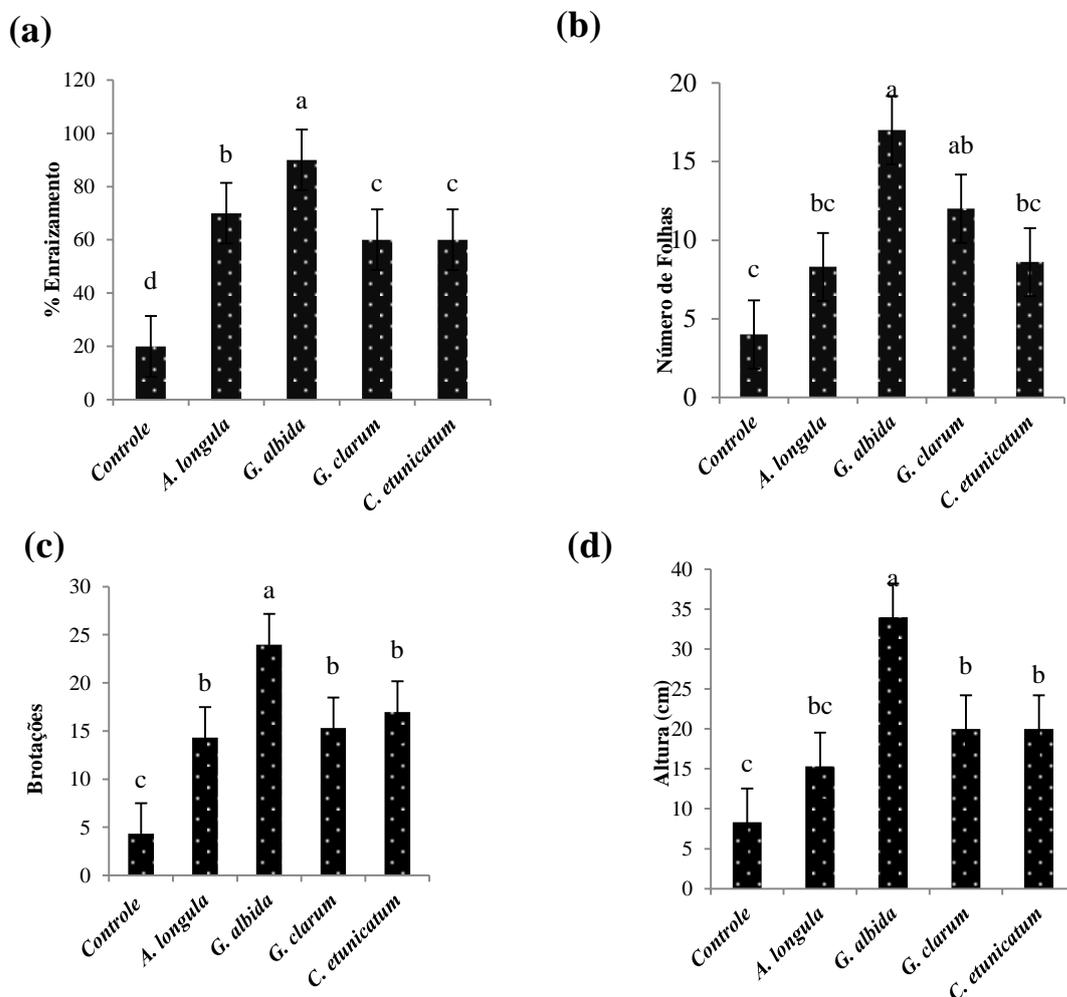
Alguns autores têm relatado benefícios às espécies vegetais quando inoculadas com mais de uma espécie de fungos micorrízicos, a exemplo de plantas de angico que tiveram seu crescimento incrementado quando inoculadas com os fungos *Glomus etunicatum* e *Gigaspora albida* (Suagai et al. 2011). Mudanças de maracujazeiro amarelo também tiveram seu desenvolvimento beneficiado com a inoculação de *Gigaspora albida* e *Gigaspora margarita* (Cavalcante et al. 2002).

Com relação aos valores de massa seca da raiz (MSR), verificou-se influência dos fungos micorrízicos. As maiores médias do crescimento radicular foram obtidas nas estacas inoculadas com *G. albida* (3,5g) sendo este valor reduzido nas estacas não inoculadas (controle) (Figura 1b). O aumento na produção das raízes nos tratamentos micorrizados pode estar atrelado a utilização da auxina AIB, pois esse fitorregulador pode desempenhar um papel específico e direto no estabelecimento da simbiose entre os fungos e as raízes das plantas, bem como estimular o fungo à formação de raízes laterais em seu hospedeiro (Etemadi et al. 2014).

A massa seca total de plantas de *V. leucocephala* foi incrementada com a associação dos FMAs (Figura 3d). Esse incremento deve-se à simbiose entre as raízes

da planta hospedeira e o fungo micorrízico, através da qual se amplia a área de absorção de nutrientes como também a absorção de água, favorecendo assim a produção de biomassa. Uma vez dentro da raiz, o FMAs desenvolve estruturas altamente ramificadas dentro das células corticais, os arbuscúlos, os quais facilitam a transferência de nutrientes para a planta (Gutjahr & Parniske 2013).

A associação micorrízica também proporcionou uma diferença significativa ( $p \leq 0,01$ ) em relação ao tratamento controle no que diz respeito ao percentual de enraizamento, número de folhas, brotações e altura (Figura 4).



**Figura 4.** Média de porcentagem de enraizamento (a), número de folhas (b), brotações (c) e altura (d) em plantas de *Varronia leucocephala* associada com fungos micorrízicos arbusculares: *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum* e o *Claroideoglomus etunicatum* e o controle (sem FMAs). Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).

Observou-se diferença significativa entre os tratamentos micorrizados e o controle (sem inoculação) no que diz respeito à percentagem de enraizamento, confirmando o benefício da associação de FMA (Figura 4a). Essa associação também favoreceu a percentagem de enraizamento de estacas de *Dalbergia melanoxylon* tratadas com AIB (Amri 2015).

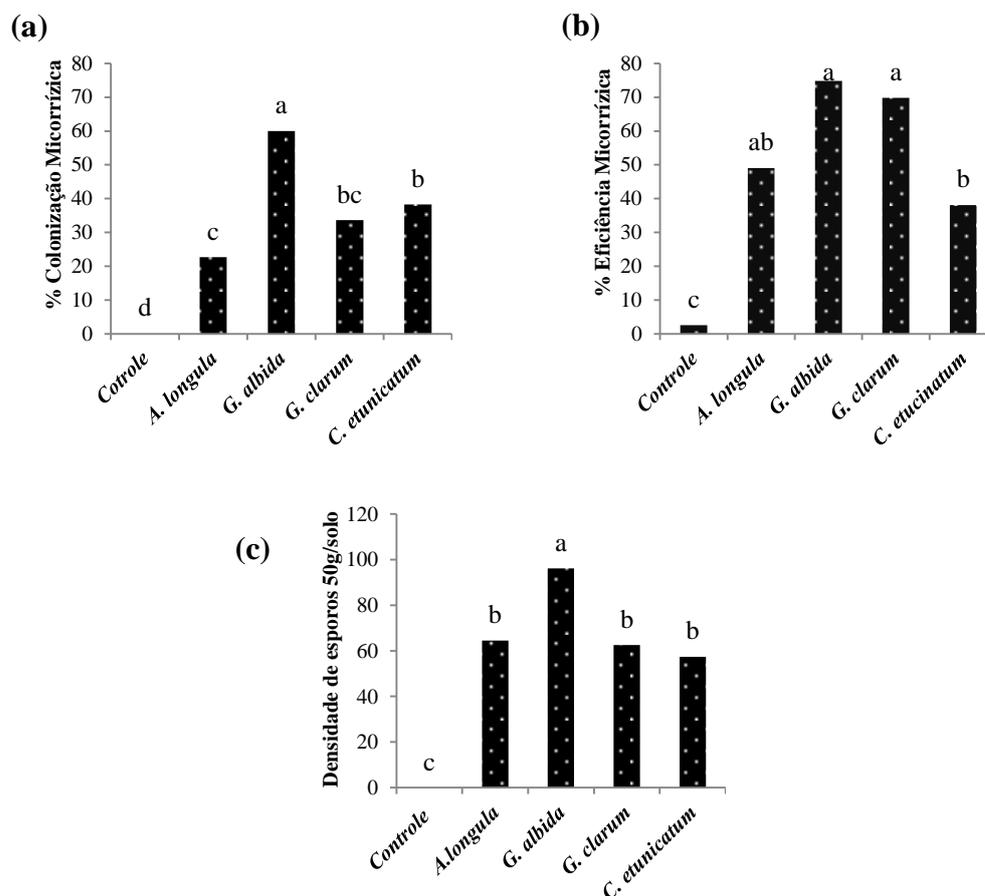
Os ramos brotados de estacas de *V. leucocephala* revelaram melhor crescimento em altura (31 cm) quando submetidos à inoculação de *G. albida* (Figura 4d). A associação micorrízica proporciona efeitos positivos comprovados no crescimento de mudas da maioria das espécies arbustivas, arbóreas tropicais e frutíferas (Balota 2011). Respostas significativas também foram obtidas com a inoculação de *G. albida* no crescimento de mangabeira (Costa et al. 2005).

O número de folhas foi maior em estacas com FMA, confirmando que a simbiose entre as raízes da planta hospedeira e o fungo (Figura 4 b) proporcionou uma maior absorção de nutrientes minerais, tornando possível maior investimento de energia metabólica para produção de biomassa de parte aérea. Em trabalhos realizados com *Robinia pseudoacacia*, Yang et al. (2014), verificaram que mesmo sob estresse hídrico as plantas tiveram seu número de folhas aumentadas em plantas inoculadas com fungos micorrízicos.

O percentual de enraizamento de estacas tratadas com AIB (sem FMAs) foi bem inferior quando comparadas às estacas associadas com FMAs (Figura 4a). Esse fato pode ser explicado pelo benefício proporcionado pelo FMAs, uma vez que, estacas mesmo tratadas com AIB podem apresentar dificuldades de enraizamento, no entanto, quando inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares essa capacidade de enraizamento aumenta (Amri 2015). De forma similar, Amri (2015) confirma que

estacas *D. Melanoxylon* tratadas com IBA associada com FMA apresentaram porcentagem de enraizamento, número de raízes primárias e peso seco da raiz mais elevados do que o controle (apenas IBA).

A porcentagem de colonização do sistema radicular variou de acordo com o fungo inoculado (Figura 5a). A avaliação da colonização radicular permitiu a identificação de algumas estruturas micorrízicas (arbúsculo, hifas, vesículas, células auxiliares e hifas) nas raízes. Essa colonização tornou-se eficiente para as plantas uma vez que o sistema radicular foi ampliado em volume, possibilitando dessa forma a absorção de nutrientes e consequentemente um bom desenvolvimento à planta.



**Figura 5.** Média da colonização micorrízica (a), eficiência micorrízica (b) e densidade de esporos (c) em plantas de *Varronia leucocephala* associada com fungos micorrízicos arbusculares: *Acaulospora longula*,

*Gigaspora albida*, *Glomus clarum* e o *Claroideoglosum etunicatum* e o controle (sem FMAs). Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).

A imersão das bases das estacas de *V. leucocephala* em solução de AIB pode ter contribuído para a colonização micorrizica, uma vez que, as auxinas, em particular a AIB, podem facilitar a colonização do hospedeiro, aumentando o número de raízes laterais como locais de colonização preferenciais para os fungos (Fitze et al. 2005).

A colonização micorrízica tornou-se mais efetiva para a espécie *V. leucocephala* quando associada com ao fungo *G. albida* (figura 5a). Esses resultados corroboram com os encontrados para as variáveis de massa seca da parte aérea, massa seca da raiz, altura, número de folhas, brotações e % de enraizamento, confirmando que essa espécie de fungo foi a que proporcionou maior incremento nessas variáveis (Figuras 3 e 4).

Esse aumento no desenvolvimento das plantas hospedeiras se deve à maior absorção de nutrientes particularmente os de baixa mobilidade no solo como o fósforo, pelo desenvolvimento de estruturas internas nas raízes e de hifas extra radiculares, as quais funcionam como uma extensão do sistema radicular, aumentando assim a área de exploração do solo em mais de cem vezes (Balota et al. 2011). Esse fato é evidenciado quando se observa os níveis de fósforo tanto na parte aérea quanto na radicular de plantas associadas a FMAs, destacando-se *G. albida* que promoveu maior absorção do elemento em questão (Figura 7). A alta colonização micorrízica ocorrentes em raízes de *Amburana cearensis* e *Libidibia ferrea* associada com *G. albida*, também proporcionaram um aumento no desenvolvimento destas espécies (Oliveira et al. 2015; Silva et al. 2014).

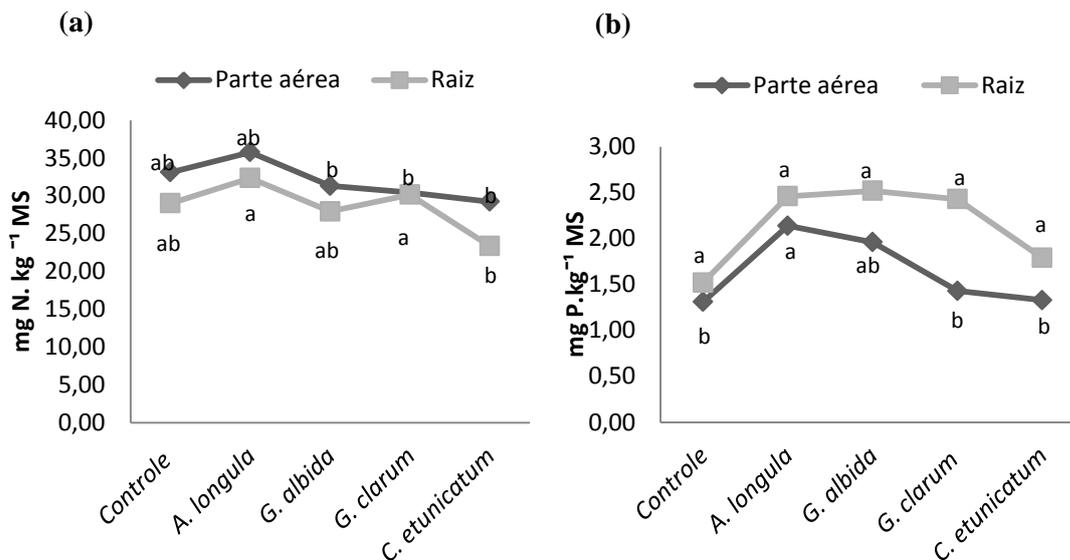
Foi possível observar a eficiência de algumas espécies de FMA em relação ao hospedeiro testado (Figura 5b), tendo em vista que a resposta à inoculação resultou em

crescimento diferenciado das mudas. Enquanto o desenvolvimento das plantas de *V. leucocephala* se destacou quando inoculadas com *G. albida* (Figuras 3 e 4), as plantas oriundas de estacas inoculadas com *C. etunicatum*, apresentaram valores similares aos do tratamento controle no que diz respeito a biomassa seca (Figura 3 a, b e d).

A eficiência da maioria das espécies de FMA avaliadas neste trabalho foram muito significativas. Diferente do tratamento controle (sem inoculação), cujas estacas apresentaram desenvolvimento lento, sugerindo uma possivelmente dependência desta espécie à associação micorrízica.

Os resultados referentes à densidade de esporos na rizosfera de plantas de *V. leucocephala* apresentaram diferença significativa em relação ao controle (Figura 5 d). A duração do experimento (72 dias) foi considerada suficiente para provocar alterações na colonização e reprodução dos fungos micorrizicos arbusculares, confirmando que o inóculo utilizado possibilitou a colonização das espécies. Para alguns autores a alta percentagem de colonização micorrízica em alguns casos, está atrelada a utilização de inóculo em substrato esterilizado, uma vez que as espécies nativas de FMAs são eliminadas (Oliveira et al. 2013).

No que se refere aos nutrientes minerais, verificou-se que embora não tenha havido diferença significativa entre os tratamentos, os níveis de nitrogênio (N) decaíram na parte aérea (Figura 6a). Enquanto, nas raízes houve diferença significativa apenas nos tratamentos (inoculados com *A. longula* e *C. etunicatum*), diferindo dos outros tratamentos (Figura 6a). Quanto aos níveis de Fósforo nas raízes e na parte aérea, houve apenas diferença significativa ( $p < 0,01$ ) para os teores de P na parte aérea (Figura 6b).



**Figura 6.** Teores de Nitrogênio na raiz e na parte aérea (a); teores de Fósforo na raiz e na parte aérea (b), em plantas de *Varronia leucocephala* associadas com fungos micorrízicos arbusculares: *Acaulospora longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum* e *Claroideoglomus etunicatum*. Tratamento controle - sem FMAs. Letras iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a ( $p < 0,01$ ).

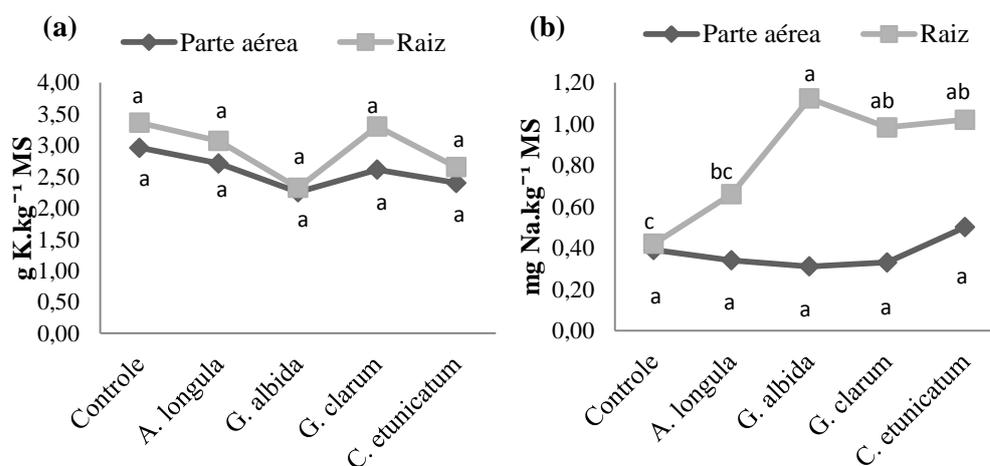
A análise físico-química dos substratos (Quadro1) demonstra que os níveis de N foram menores nos tratamentos com FMAs. Contudo, mesmo ocorrendo essa baixa disponibilidade de N no solo, bem como diminuição desse elemento nas raízes e na parte aérea, esses resultados não influenciaram o conteúdo de biomassa seca da raiz e da parte aérea nas plantas (Figura 3a e b). Os FMAs podem estar envolvidos também no ciclo do nitrogênio, indicando que a transferência de N pelo FMAs para as plantas, pode ser um dos benefícios da colonização dos FMAs nas raízes (Hodge & Fitter, 2010).

A necessidade do transporte de N via hifa fúngica depende da demanda de N na planta (Johansen et al. 1994). Esse fato foi evidenciado nesse trabalho, pois os teores de N nas plantas micorrizadas não se diferenciaram significativamente em relação ao controle (sem FMAs), visto que esse elemento estava bastante disponível no solo (Tabela 1). Para Epstein & Bloom (2006), o valor de aproximadamente 15 g. kg<sup>-1</sup> seria o ideal para crescimento e desenvolvimento das plantas. Assim, os valores observados

para *V. leucocephala*, mesmo tendo um decaimento nos tratamentos utilizados, ainda estão dentro da faixa proposta por esses autores.

A simbiose mutualística entre os fungos micorrízicos arbusculares e as plantas são vantajosas para ambos os organismos envolvidos, uma vez que a planta proporciona aos FMAs os produtos energéticos resultantes da fotossíntese, permitindo o crescimento e manutenção da FMA, enquanto o FMA proporciona à planta água e nutrientes minerais como fósforo e nitrogênio (Smith & Read, 2008; Hodge & Storer, 2014). Devido ao incremento da biomassa vegetal, é natural que a demanda pelas plantas por nutrientes também aumente e em todos os tratamentos inoculados com FMAs, verificou-se aumento do teor de P nos tecidos vegetais. Sheng et al. (2008) também observaram que plantas micorrizadas tiveram suas concentrações de P aumentadas, confirmando que os FMAs possuem uma capacidade em aumentar a absorção desse elemento. Dessa forma, a inoculação de FMA torna-se uma importante ferramenta para o desenvolvimento de estacas de *Varronia leucocephala*.

Para os teores de K, não houve diferença significativa entre os tratamentos nem na parte aérea e nem na raiz (Figura 7a).



**Figura 7.** Teores de Potássio na raiz e na parte aérea (a); teores de Sódio na raiz e na parte aérea (b), em plantas de *Varronia leucocephala* associadas com fungos micorrízicos arbusculares: *Acaulospora*

*longula*, *Gigaspora albida*, *Glomus clarum* e o *Claroideoglosum etunicatum*. Tratamento controle - sem FMAs. Letras iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a ( $p < 0,01$ ).

Em geral, em solos sódicos as plantas apresentam deficiência em K, no entanto, verificamos que embora os níveis de Na tenham sido mais elevados nas plantas dos tratamentos micorrizados, os níveis de K não diferiram significativamente entre esses tratamentos, nos fazendo inferir que os FMAs viabilizaram a absorção de K apesar das altas concentrações de Na no solo. Confirmando que a colonização de FMAs pode melhorar a captação de K em solos e impedir o transporte de Na para a parte aérea, evitando assim o estresse salino causado pelo Na (Tallaat & Shawky 2011).

É importante destacar fato curioso que foi detectado após a fase experimental. A análise do solo (Quadro 1) revelou que houve aumento na concentração de sódio (Na) nos substratos micorrizados. Com *C. etunicatum* e *G. albida*, a quantidade de Na no solo aumentou cerca de 2 e 5 vezes respectivamente, em relação ao tratamento solo natural (antes do experimento). Talvez esse fato tenha influenciado na absorção de K pelas plantas micorrizadas com esses FMAs. Os substratos que apresentaram maiores níveis de Na (inoculados com *C. etunicatum* e *G. albida*) corresponderam aos tratamentos que apresentaram queda de K nos tecidos (Figura 7a).

O Na detectado no solo (Tabela 1), foi absorvido pelas raízes e de acordo com figura 7b é possível observar que esse elemento se concentrou mais nas raízes que na parte aérea. O fator de bioacumulação avalia a eficiência da planta em acumular o Sódio em relação à concentração do solo (Sheoran et al. 2010) e foi possível através desse teste comprovar o potencial bioacumulador de *V. leucocephala*, onde o fator de bioacumulação foi superior a 1 em todos os tratamentos. O potencial bioacumulador também foi encontrado por Cantrell & Linderman (2001) onde observaram uma alta retenção de Na nas raízes em plantas inoculadas, sugerindo que o Na poderia ser retido

em hifas intra-radiciais ou compartimentado em vacúolos das células raízes. Já o fator de translocação foi inferior a 1 em todos os tratamentos, o que indica que as plantas conseguiram armazenar o sódio em suas raízes, ou seja, não ocorreu a translocação desse elemento para a parte aérea.

De modo geral a propagação vegetativa por estacas de *V. leucocephala* irá garantir a conservação, disponibilidade de mudas, como também a exploração de forma mais sustentável da *V. leucocephala*. A domesticação de *V. leucocephala* não só irá diminuir a pressão devido a exploração excessiva deste recurso na natureza, mas também será um meio de preservar a sua diversidade genética.

## CONCLUSÃO

1. A auxina AIB na concentração de  $1500 \text{ mg L}^{-1}$  mostrou-se mais eficiente para o enraizamento de estacas de *V. leucocephala*.
2. A combinação do ácido indolbutírico (AIB) e o microelemento zinco aumentou o desempenho de enraizamento e o número de brotações em estacas de *V. leucocephala*.
3. A associação de fungos micorrízicos arbusculares proporcionou um incremento significativo no desenvolvimento e crescimento das estacas de *V. leucocephala*.
4. Dentre as espécies avaliadas a *G. albida* proporcionou maior percentual de raízes colonizadas, bem como maior densidade de esporos no solo.
5. Os teores de Nitrogênio e Fósforo não foram afetados, mantendo-se ideal para o desenvolvimento da espécie, em presença de FMAs. O potássio foi reduzido nas plantas micorrizadas com *G. albida*. Mesmo em alta concentração no solo, o

sódio armazenado pelas raízes não afetou o desenvolvimento da parte aéreas das estacas de *V. leucocephala*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrantes, H. F. L. & Agra, M. F. Estudo etnomedicinal das Boraginaceae na caatinga paraibana, Brasil. (2004). Revista Brasileira de Farmácia, Rio de Janeiro, 85, 7-12.

Amri, E. (2015). Influence of Arbuscular mycorrhizal fungi on rooting ability of auxin treated stem cuttings of *Dalbergia melanoxylon* (Guill and Perr.). Research Journal of Botany, 10, 88-97. DOI: 10.3923/rjb.2015.88.97

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 15 ed. Washington: AOAC, 1990.

Assis, T.F. (2001). Evolution of technology for cloning eucalyptus in large scale. in: iufro international symposium, Valdivia. Proceedings. Chile: embrapa/cnpf

Baethgen, W. E. & Alley, M. M. (1989). A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digests. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 20, 961-969. DOI: 10.1080/00103628909368129

Balota, E. L., Machineski, O., Stenzel, N. M. C. (2011). Resposta da acerola à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em solo com diferentes níveis de fósforo. *Bragantia*, 70, 166-175. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052011000100023>

Barbara, R. L. L., Souza, F. A & Fonseca, H. M. A. C. (2006). III – Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In Fernandes, M.S. *Nutrição Mineral de Plantas*, Viçosa. Editora SBCS.

Cantrell, I. C. & Linderman, R. G. (2001). Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. *Plant and Soil*, 233, 269–281. DOI:10.1023/A:1010564013601

Castro, A. S. & Cavalcante, A. (2011). *Flores da caatinga*. Campina Grande: Instituto Nacional do Semiárido.

Castro, P. R. C., Santos, V. M., & Stipp, S. R. (2012). Nutrição Vegetal e biorregulação no desenvolvimento das plantas. *Informações Agronômicas*, 139.

Cavalcante, U. M. T, Maia, L. C., Melo, A. M. M., Santos, V. F. (2002). Influência da densidade de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37, 643–649. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2002000500009>

Costa, E. M., Loss, A., Pereira, H. P. N., Almeida, J. F. (2014). Enraizamento de estacas de *Bougainvillea spectabilis* Willd. com o uso de ácido indolbutírico. *Acta Agronómica*, 64, 221-226. <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v64n3.42970>

Costa, C. M. C., Cavalcante, U. M. T., Goto, B. T., Santos, V. F., Maia, L. C. (2005). Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de mangabeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40, 225-232. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2005000300005>

Druege, U., Xylaender, M., Zerche, S. Alten, H. V. (2006). Rooting and vitality of poinsettia cuttings was increased by arbuscular mycorrhiza in the donor plants. *Mycorrhiza*, 17, 67-72. DOI 10.1007/s00572-006-0074-5

Etemadi, M., Gutjahr, C., Couzigoou, J. M., Zouine, M., Lauressergues, D., Timmers, A., Audran, C., Bouzayen, M., Bécard, G., Combier, J. P. (2014). Auxin perception is required for arbuscule development in arbuscular mycorrhizal Symbiosis. *Plant Physiology*, 166, 281–292. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.114.246595>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de solos: Súmula x Reunião Técnica de Levantamento de solo. Rio de Janeiro, 1997.

Epstein, E. & Bloom, A. J. (2006). *Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas*. Londrina. Editora Planta.

Fachinello, J. C., Hoffmann, A. & Nachtigal, J. C. (2005). Propagação de plantas frutíferas. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica.

Fitze, D., Wiepning, A., Kaldorf, M. & Ludwig-muller, J. (2005). Auxins in the development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize. *Journal Plant Physiology*, 162, 1210-2019. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2005.01.014>

Gutjahr, C. & Parniske, M. (2013). Cell and developmental biology of arbuscular mycorrhiza symbiosis. *Annual Review Cell and Developmental Biology*, 29, 593–617. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122413

Gerdemann, J. W. & Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of British Mycological Society*, 46, 235-244. [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)

Giovanetti, M. & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84, 489-500, DOI: 10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x

Goulart, P. B. Xavier, A. & Cardoso N. Z. (2008). Efeito dos reguladores de crescimento AIB e ANA no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla*. *Revista Árvore*, 32, 1051-1058. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622008000600010>.

Hartmann, H. T., Kester, D.T., Davies, J. R., Geneve, R. L. (2011). Plant propagation: principles e practices. New Jersey: Prentice Hall.

Hodge, A. & Storer, K. (2014). Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. *Plant Soil*, 386, 1-19. DOI 10.1007/s11104-014-2162-1

Jenkins, W. R. (1964). A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48, 692.

Johansen, A., Jakobsen, I. & Jensen, E. S. (1994). Hyphal N transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus associated with cucumber grown at 3 nitrogen levels. *Plant and Soil*, 160, 1-9. DOI:10.1007/BF00150340

Malibari, A. A., Fassi, F. A. & Ramadan, E. M. (1988). Incidence and infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizas in some Saudi. *Plant and Soil*, 122, 105-111. DOI: 10.1007/BF02181759

Marinho-filho, J. D. B., Bezerra, D. P., Ana J., Araújo, A. J., Montenegro, R. C., Pessoa, C., Diniz, J. C., Viana, F. A., Otília D.L., Silveira, E. R., Moraes, M. O., Costa, L. L. V. (2010). Oxidative stress induction by (+)-cordiaquinone J triggers both mitochondria-dependent apoptosis and necrosis in leukemia cells. *Chemico-Biological Interactions*, 183, 369–379. DOI: 10.1016/j.cbi.2009.11.030

Melo, J. I. M. (2015). Synopsis of Boraginaceae sensu lato in the Caatingas of the São Francisco River, Northeastern Brazil. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 72, 1-8.

DOI: <http://dx.doi.org/10.3989/ajbm.2398>

Mendes, A. D. R., Lacerda, T. H. S., Rocha, S. M. G., Martins, E. R. (2014). Reguladores vegetais e substratos no enraizamento de estacas de erva-baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16, 262-270.

<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722014000200015>

Milléo, M. V. R. & Cristófoli, I. (2015). Resposta da cultura da soja (*Glycine max* l. merril) à aplicação de acetato de zinco amoniacal via semente. *Revista Scientia Agraria*, 16, 1-16. <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v16i4.47801>

Miranda, J. C. C., Vilela, L., Miranda, L. N. (2005). Dinâmica e contribuição da micorriza arbuscular em sistemas de produção com rotação de culturas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40, 1005-1014. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2005001000009>

Ono, E. G., Rodrigues, J. D., Pinho, S. Z. (1995). Enraizamento de estacas caulinares de kiwi (*Actinidia chinensis* Planch cv Abbott) tratadas com auxinas e boro. *Scientia Agrícola*, 52, 462-468. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90161995000300010>

Oseni, T. O., Shongwe, N. S. & Masarirambi, M. T. 2010. Effect of Arbuscular Mycorrhiza (AM) inoculation on the performance of tomato nursery seedlings in vermiculite. *International Journal of Agriculture and Biology*, 12, 789-792.

Oliveira, P. T. F., Alves, G. D., Silva, F. A., Silva, F. S. B. (2015). Foliar bioactive compounds in *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith seedlings: Increase of biosynthesis using mycorrhizal technology. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9, 712- 718. DOI: 10.5897/JMPR2015.5798

Oliveira, M. S., Albuquerque, U. P., Campos, M. A. S., Silva, F. S. B. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) affects biomolecules content in *Myracrodruon urundeuva* seedlings. *Industrial Crops Products*, 50, 244-247. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.041>

Paulino, R. D. C., Henriques, G. P. D. S. A., Coelho, M. D. F. B., Neto, H. D. S. L., Dombroski, J. L. D. (2012). Diferentes substratos na propagação por estaca de *Cordia globosa* e *Cordia leucocephala*. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 6, 274–278.

Pacholczak, A., Petelewicz, P., Jagiełło, K. K., Ilczuk, A. (2015). Physiological aspects in propagation of smoke tree (*Cotinus coggygria* Scop. 'royal purple') by stem cuttings. *Acta Scientiarum Polonorum*, 14, 145-157

Planchette, C., Fortin, J. A., Furlan, V. (1983). Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant and soil*, 70, 199- 209. doi:10.1007/BF02374780

Panck, C. O. (1992). Plant analysis reference procedures for the Southern region of the United States: Southern cooperative series bulletin. Georgia. Editor Universidad of Georgia

Phillips, J. M., Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearingf roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of British Mycological Society*, 55, 158-161.

Sasso, S. A. Z., Citadin, I., Danner, M. A. (2009). Propagação de jaboticabeira por estaquia. *Revista Brasileira Fruticultura*, 32, n. 2, 577-583. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452010005000054>

Schwambach, J., Fadanelli, C. (2005). Mineral nutrition and adventitious rooting in microcuttings of *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology*, 25, 487–494.

Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., Huang, Y. ( 2008). Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*, 18, 287–296. DOI 10.1007/s00572-008-0180-7

Sheoron, V., Sheoron, A. S., Poonia, P. (2010). Soil Reclamation of Abandoned Mine Land by Revegetation: A Review. *International Journal of Soil, Sediment and Water*, 3, 1940-3259.

Smith, S. E. & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. London. Academic Press.

Silva, F. A. S., Fereira, M. R. A., Soares, L. A. L., Sampaio, E. V. S. B., Silva, F. S. B., Maia, L.C. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi increase gallic acid production in leaves of field grown *Libidibia férrea*. *Journal of Medicinal plant research*, 8, 1110-115. DOI: 10.5897/JMPR2013.5503

Sugai, M. A. A., Collier, L. S., Saggin, O. J. (2011). Inoculação micorrízica no crescimento de mudas de angico em solo de cerrado. *Bragantia*, 70, 416-423. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052011000200024>

Taiz, L. & Zeiger, E. (2013). *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre. Editora Artmed.

Talaat, N. B. & Shawky, B. T. (2011). Influence of arbuscular mycorrhizae on yield, nutrients, organic solutes, and antioxidant enzymes of two wheat cultivars under salt stress. *Journal Plant Nutrition Soil Science*, 174, 283–291. DOI: 10.1002/jpln.201000051

Valmorbida, J. & Lessa, A. L. enraizamento de estacas de Ginkgo biloba tratadas com ácido indolbutírico e ácido bórico. *Ciência e Agrotecnologia*, 32, 398-401. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542008000200008>

Wang, L., Zhou, Q., Ding, L., Sun, Y. (2008). Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolism in leaves of *Solanum nigrum* L. as a newly found cadmium hyperaccumulator. *Journal of Hazardous Materials*, 154, 818–825. DOI:10.1016/j.jhazmat.2007.10.097

Yang, Y., Tang, M., Sulpice, R., Chen, H., Tian, S., Ban, Y. (2014). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Alter Fractal Dimension Characteristics of *Robinia pseudoacacia* L. Seedlings Through Regulating Plant Growth, Leaf Water Status, Photosynthesis, and Nutrient Concentration Under Drought Stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33, 612–625. DOI 10.1007/s00344-013-9410-0