

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE
TECNOLOGIA
CURSO DE AGRONOMIA

Efeito da aplicação de S-nitrosoglutationa (GSNO) na propagação
vegetativa de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze

Acadêmica: Fátima Adriana Carvalho Delgobo

Ponta Grossa
2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE
TECNOLOGIA
CURSO DE AGRONOMIA

Efeito da aplicação de S-nitrosoglutationa (GSNO) na propagação
vegetativa de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze

Acadêmica: Fátima Adriana Carvalho Delgobo

Trabalho apresentado à Disciplina OTCC
como requisito parcial para obtenção de Grau
de Engenheira Agrônoma na Universidade
Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Carlos André Stuepp

Coorientadora: Prof. Dra. Amanda Regina
Godoy Baptidão

Ponta Grossa

2025



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
COLEGIADO DO CURSO DE AGRONOMIA
COORDENAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

OTCC - Ano 2025

AVALIAÇÃO DE TCC

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA

Título da Monografia: Aplicação de S-nitrosoglutathione (GSNO)
em miniestacas de Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze

Autor (a): Fátima Adriana Carvalho Delgado

Data da defesa: 22/05/2025 Horário: 18:00 Local: Ponta Grossa (PR)

Avaliadores:

1-Orientador (a): Carlos Aníbal Stuepp Assinatura: [Assinatura]

2-Avaliador (a): Jessiane S. Silva Brait Assinatura: [Assinatura]

3-Avaliador (a): Rodrigo R. Matelli Assinatura: [Assinatura]

Itens a serem avaliados	Notas atribuídas		
	Orientador(a)	1º Avaliador(a)	2º Avaliador(a)
I- Apresentação oral (Até 2,0)	2,0	2,0	2,0
II- Trabalho escrito (Até 6,0)	5,0	4,5	4,7
III- Arguição (Até 2,0)	2,0	2,0	1,5
TOTAL	9,0	8,5	8,2
MÉDIA FINAL *	8,6		

* Orientador(a) nota final com uma casa após a vírgula

Atenção Professor(a) ORIENTADOR(A):

No caso de apresentação de trabalho, em evento técnico-científico, no qual o acadêmico conste como autor, poderá ser acrescentado ATÉ 10% da nota, na somatória final. Apresentar comprovante junto com os documentos entregues para a Coordenação de TCC.

Dedico ao meu marido, filha, mãe e pai.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela motivação diária para seguir com persistência pelos caminhos que Ele me guia.

Aos meus pais, pelo incentivo à educação de qualidade desde criança, fomentando a curiosidade e a pesquisa.

Em especial, a minha família, Murilo e Alice, por serem minha motivação de ser uma profissional, esposa e mãe cada vez melhor para vocês e por vocês. Obrigada, Murilo, por tudo o que faz por nós três e por me incentivar tanto desde o momento que nos conhecemos.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Carlos André Stuepp por compartilhar tanto conhecimento conosco, por sempre se fazer presente e ter uma didática excelente. Aprendo diariamente a ser uma profissional melhor.

Ao Viveiro Florestal CAAR/UEPG e ao Laboratório de Biodiversidade, em especial aos colegas que conheci nesse período, que auxiliaram nas diversas pesquisas que desenvolvemos, pelo companheirismo do dia a dia e pelas conversas.

À Prof. Dra. Jesiane Batista, por incentivar as mulheres na pesquisa e ser uma excelente tutora na área laboratorial, despertando em mim imenso interesse em microbiologia e biotecnologias.

Ao NAPI Biodiversidade: Restore e à Fundação Araucária pelo incentivo e apoio à pesquisa e realização desse e demais trabalhos.

E aos meus professores do curso de Agronomia na Universidade Estadual de Ponta Grossa pela dedicação, didática e experiência técnica transmitida por cada um de vocês.

Obrigada!

RESUMO

DELGOBO, F. A. C. **Efeito da aplicação de S-nitrosoglutationa (GSNO) na propagação vegetativa de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze.** Orientador: Carlos André Stuepp. Coorientadora: Amanda Regina Godoy Baptistão. Ponta Grossa, 2025. Monografia (obtenção de Grau de Engenharia Agrônoma) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2025.

Araucaria angustifolia, espécie nativa da Floresta Ombrófila Mista e classificada como ameaçada de extinção, apresenta dificuldades na propagação sexual devido à recalcitrância de suas sementes. A miniestaquia representa uma alternativa promissora para a propagação vegetativa, embora limitada por entraves fisiológicos à indução radicial. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de S-nitrosoglutationa (GSNO), doador de óxido nítrico, na rizogênese de miniestacas de *A. angustifolia*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com aplicação de quatro concentrações de GSNO (0, 10, 50 e 100 mM). As variáveis fisiológicas e morfológicas foram avaliadas 120 dias após a instalação do experimento, incluindo: porcentagem de enraizamento (miniestacas com raízes ≥ 2 mm), número de raízes por miniestaca, comprimento das três maiores raízes por miniestaca, porcentagem de formação de calos, porcentagem de miniestacas com raízes e calos, porcentagens de sobrevivência e mortalidade, emissão de brotos (≥ 2 mm) e manutenção das acículas originais. Os resultados não revelaram diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. No entanto, a aplicação de GSNO não comprometeu a viabilidade fisiológica das miniestacas, conforme indicado pelos altos índices de sobrevivência, emissão de brotos e manutenção foliar. Esses achados apontam para o potencial do GSNO como bioestimulante na silvicultura clonal de *A. angustifolia*, sendo recomendada a realização de estudos adicionais com diferentes concentrações, tempos de exposição e combinações com outros reguladores de crescimento vegetal.

Palavras-chave: pinheiro-do-Paraná; óxido nítrico; propagação vegetativa; miniestaquia; biotecnologia florestal.

ABSTRACT

DELGOBO, F. A. C. **Effect of S-nitrosoglutathione (GSNO) application on the vegetative propagation of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze.** Advisor: Carlos André Stuepp. Co-advisor: Amanda Regina Godoy Baptistão. Ponta Grossa, 2025. Undergraduate thesis (Bachelor's degree in Agronomy) – State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2025.

Araucaria angustifolia, a native species of the Mixed Ombrophilous Forest and classified as endangered, presents difficulties in sexual propagation due to the recalcitrance of its seeds. Mini-cutting represents a promising alternative for vegetative propagation, although it is limited by physiological barriers to root induction. This study aimed to evaluate the effect of applying S-nitrosoglutathione (GSNO), a nitric oxide donor, on the rhizogenesis of *A. angustifolia* mini-cuttings. The experiment was conducted in a greenhouse, with the application of four GSNO concentrations (0, 10, 50, and 100 mM). Physiological and morphological variables were evaluated 120 days after the experiment was set up, including: rooting percentage (mini-cuttings with roots ≥ 2 mm), number of roots per mini-cutting, length of the three largest roots per mini-cutting, callus formation percentage, percentage of mini-cuttings with both roots and calluses, survival and mortality percentages, sprout emission (≥ 2 mm), and retention of original needles. The results did not show statistically significant differences between treatments. However, the application of GSNO did not compromise the physiological viability of the mini-cuttings, as indicated by the high survival rates, sprout emission, and leaf retention. These findings highlight the potential of GSNO as a biostimulant in the clonal silviculture of *A. angustifolia*, with further studies recommended using different concentrations, exposure times, and combinations with other plant growth regulators.

Keywords: *Araucaria angustifolia*; nitric oxide; vegetative propagation; mini-cutting; forest biotechnology.

LISTA DE FIGURAS

Figuras 1 – Características morfológicas da espécie.....	10
Figuras 2 – Métodos de propagação vegetativa.....	16
Figura 3 – Mecanismos envolvendo NO na aclimação das plantas à deficiência nutricional e ao estresse abiótico.....	20
Figuras 4 – Metodologia e instalação do experimento.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Médias $\pm$ erro padrão dos parâmetros de enraizamento de miniestacas de *A. angustifolia* tratadas com diferentes concentrações de GSNO, após 120 dias.....29

Tabela 2 – Médias $\pm$ erro padrão da mortalidade, sobrevivência, brotação e manutenção de acículas em miniestacas de *A. angustifolia* tratadas com diferentes concentrações de GSNO, após 120 dias.....31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIA – Ácido Indolacético

AIB – Ácido Indolbutírico

CS – Quitosana

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

GSH – Glutathione

GSNO – S-nitrosoglutationa

GSNOR – GSNO redutase

IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza

MAP – Fosfato Monoamônico

mM – Milimolar

mS/cm – Milisiemens por centímetro

NO – Óxido Nítrico

NO₂⁻ – Nitrito

NP – Nanopartículas

NPQs – Nanopartículas de quitosana

PME – pectina metilesterase.

RSNO – S-nitrosotióis

TPP – Tripolifosfato de sódio

SUMÁRIO

Página

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE.....	10
2.2 HISTÓRICO DE USO E EXPLORAÇÃO DAS FLORESTAS COM ARAUCÁRIAS.....	12
2.3 LEGISLAÇÃO	14
2.4 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE <i>Araucaria angustifolia</i>	15
2.5 FATORES QUE INFLUENCIAM ENRAIZAMENTO E DESENVOLVIMENTO DAS MUDAS	17
2.6 BIOTECNOLOGIA APLICADA À PRODUÇÃO DE MUDAS.....	18
2.7 DESAFIOS E PERSPECTIVAS DO USO DE GSNO	21
3. OBJETIVOS	23
4. HIPÓTESES	24
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
7. CONCLUSÃO.....	33
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

1. INTRODUÇÃO

Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze, conhecida como pinheiro-do-Paraná, é símbolo do estado e sinônimo de resistência, tendo importância econômica, biológica e cultural. Atualmente, consta na lista vermelha de espécies ameaçadas de extinção (IUCN, 2025). Sua exploração resultou na necessidade de implementação de instrumentos legais voltados à sua conservação.

Embora ainda pouco expressivos, os plantios de araucária geralmente utilizam mudas obtidas por meio da propagação sexuada, seja pela produção de mudas seminais, seja pela semeadura direta em campo. No entanto, essa forma de propagação apresenta como principal desafio o fato de a semente ser recalcitrante, o que compromete drasticamente seu vigor com o passar do tempo (Wendling *et al.*, 2016a). Como alternativa, tem-se estudado a propagação vegetativa, como a estaquia, a miniestaquia e a enxertia. Contudo, esses métodos também enfrentam algumas limitações culminando em um baixo percentual de enraizamento (Stuepp *et al.*, 2018).

Embora a miniestaquia seja uma técnica eficiente de propagação clonal, ela impõe estresses fisiológicos significativos às plantas. As miniestacas são retiradas da planta matriz e expostas a condições ambientais com variações de umidade, luminosidade e temperatura, provocando desequilíbrios hormonais e hídricos que afetam seu metabolismo. O déficit hídrico é resultante da remoção das raízes, que interrompe a absorção de água e nutrientes (Santos; Carlesso, 1998). O corte promove um rompimento da circulação vascular, exigindo da planta a reorganização dos tecidos e a ativação de mecanismos fisiológicos e bioquímicos relacionados à cicatrização e à formação de novas raízes. Segundo Hartmann *et al.* (2011), o sucesso do enraizamento depende da capacidade da miniestaca em lidar com esses estresses, sendo fundamental o manejo adequado de fatores ambientais e a aplicação de reguladores vegetais, como auxinas, que auxiliam na superação desses efeitos adversos e estimulam a rizogênese.

Estudos são necessários para ampliar a compreensão dos mecanismos fisiológicos envolvidos na rizogênese de miniestacas e quais alternativas podem ser utilizadas para diminuir os estresses. Nesse contexto, o óxido nítrico (NO) tem se mostrado uma molécula sinalizadora promissora, com potencial para mitigar os efeitos negativos do estresse hídrico por meio da modulação de respostas

antioxidantes e da indução de genes relacionados ao enraizamento adventício (Freschi *et al.*, 2013; Kolbert; Ördög, 2021). Dessa forma, o uso de NO pode representar uma alternativa viável para melhorar o desempenho fisiológico das miniestacas durante a fase de enraizamento.

Apesar de seu potencial biotecnológico, a aplicação direta do NO é limitada devido à sua natureza gasosa e à alta reatividade, o que compromete sua estabilidade e dificulta o manejo em condições de campo (Mur *et al.*, 2011). Uma alternativa consiste na utilização de doadores de NO, compostos capazes de liberar a molécula de forma controlada, sendo amplamente utilizados em estudos com plantas para simular as funções do óxido nítrico em condições específicas (Corpas *et al.*, 2008).

A recuperação e conservação da Floresta com Araucárias considera fatores complexos e integrados, como contribuição para a biodiversidade, economia, além do histórico cultural e social da espécie. Esse trabalho fez parte do projeto transnacional do NAPI Biodiversidade: RESTORE (*nature based solutions for improving restoration*), que tem como objetivo encontrar alternativas para aumentar a tolerância de mudas de espécies arbóreas durante a restauração florestal. Nesse contexto, foi realizada a aplicação de GSNO com base em seu potencial para enraizamento de miniestacas, aumentando o comprimento e número de raízes, com objetivo de estudar a nanotecnologia associada à produção de mudas de araucária, focadas em produção de madeira sustentável, silvicultura clonal e restauração ecológica.

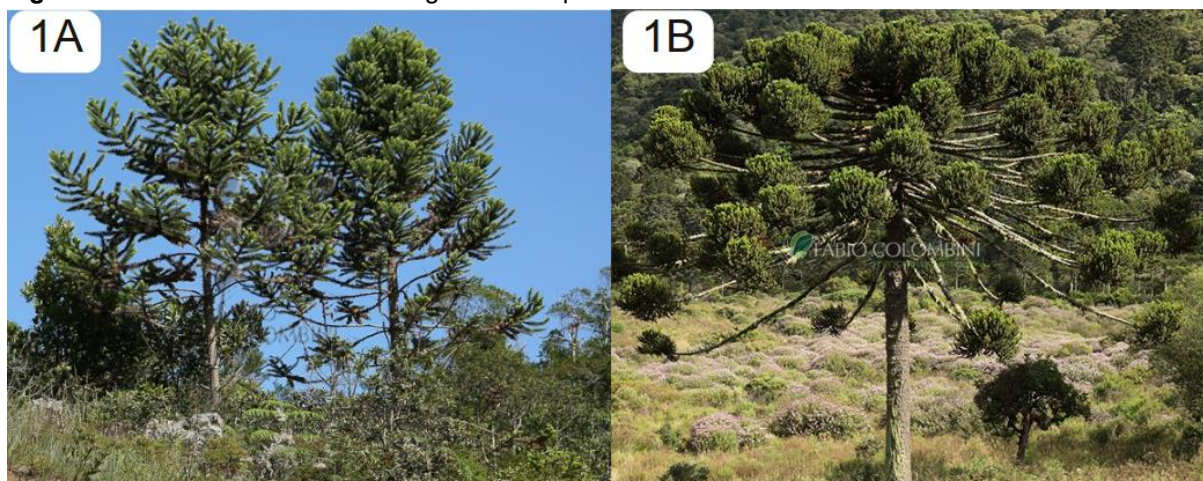
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE

Popularmente conhecida como Pinheiro-do-Paraná, a *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze é uma conífera nativa do Brasil, pertencente à família Araucariaceae. Sua distribuição natural abrange a América do Sul, ocorrendo principalmente nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, estendendo-se também para áreas da Argentina e do Paraguai (Carvalho, 1994).

Possui uma arquitetura característica e marcante, sua copa inicialmente piramidal, torna-se ampla com a maturidade (Figura 1B), espaçando os ramos. As plantas jovens possuem formato cônico (Figura 1A), característico das coníferas (Carvalho, 2003). Seu tronco é reto com casca espessa, e os ramos horizontalizados possuem folhas aciculadas.

Figuras 1 – Características morfológicas da espécie.



Fonte: A) Fábio Colombini, 2017; B) Fábio Colombini, 2023

Notas: A) Copa em formato cônico. B) Copa em formato de candelabro.

É uma planta dióica e alógama, diferindo entre árvores masculinas e femininas. Na araucária feminina, as folhas carpelares dão origem ao estróbilo feminino cônico, conhecido como pinha. Sua semente, o pinhão, tem formato cuneiforme com casca externa resistente, contendo no interior o endosperma e o embrião (Carmo *et al.*, 2021). Os estróbilos masculinos levam cerca de 11 meses para se tornarem maduros, enquanto os femininos levam de 28 a 35 meses; quando atinge a maturação das pinhas e se encerra o ciclo completo de formação do estróbilo feminino (Zanette *et al.*, 2017). As pinhas maduras com pinhões podem ser encontradas em plantas com idade

entre 12 e 15 anos, mas a idade média de uma araucária adulta varia de 140 a 200 anos (Reitz; Klein, 1966).

A semente da araucária perde a viabilidade rapidamente. É classificada como recalcitrante, não suportando o armazenamento a temperaturas negativas e desidratação, mantendo alto seu teor de água mesmo após a germinação (Azarkovich, 2020). Sua dispersão ocorre com umidade aproximada de 43%, enquanto o nível crítico de umidade está em torno de 37% (Gasparin, 2016). A coleta de sementes de *A. angustifolia* apresenta desafios significativos devido à altura da copa dos indivíduos adultos e à necessidade de realização no ponto de maturidade fisiológica das sementes. A queda natural da pinha indica que esse ponto já foi superado, o que pode comprometer a viabilidade e qualidade das sementes. De acordo com Shibata *et al.* (2013), o momento ideal para a coleta ocorre quando as pinhas apresentam coloração marrom e os pinhões ainda estão presentes na copa, indicando que a maturação fisiológica foi alcançada, mas sem que tenha ocorrido a deiscência natural.

Uma vez coletadas, as sementes de *A. angustifolia* podem ser semeadas diretamente no solo, utilizando-se 2 a 4 pinhões por cova, técnica amplamente aceita por produtores com baixo nível de tecnificação (Wendling *et al.*, 2017). No entanto, o principal entrave a esse método está no fato de que as sementes são recalcitrantes, ou seja, possuem baixa tolerância à dessecação e ao armazenamento prolongado. Quando expostas diretamente ao solo, perdem rapidamente a viabilidade, o que resulta em redução na taxa de germinação, além de maior suscetibilidade ao ataque de predadores e à competição com plantas espontâneas (Gasparin, 2016).

Após a germinação, o crescimento inicial da espécie é lento, sendo classificada como uma espécie secundária longeva de temperamento pioneiro (Imaguire, 1979), porém, heliófila, ou seja, sem capacidade de desenvolvimento em condições sombreadas (Reitz; Klein, 1966). Quando adulta a araucária pode se desenvolver até 35 a 50 m de altura, com diâmetro de até 2 metros (Bittencourt *et al.*, 2004; Menezes *et al.*, 2009). Sua madeira é leve e macia devido a sua massa específica, variando entre 0,37 a 0,52 g cm⁻³ segundo estudos de Rolim e Ferreira (1974), indicada para uso doméstico (Curto *et al.*, 2016).

2.2 HISTÓRICO DE USO E EXPLORAÇÃO DAS FLORESTAS COM ARAUCÁRIAS

No início do século XX, a madeira de araucária tornou-se um dos principais produtos de exportação do Brasil, impulsionada especialmente pelo interesse da *Southern Brazil Lumber and Colonization Company* — conhecida simplesmente como Lumber. Considerada a maior madeireira da América Latina naquele período, a Lumber teve origem na *Brazil Railway Company*, uma empresa ferroviária que, ao expandir a malha ferroviária no Sul do país, criou também uma demanda crescente por madeira. Assim, o avanço das ferrovias e a exploração das florestas nativas passaram a caminhar lado a lado. As áreas desmatadas para a linha férrea era composta por espécies nativas como imbuia, araucária, canela preta, erva-mate e cedros.

Como eram de altíssimo interesse econômico, a *Brazil Railway Company* constituiu uma subsidiária madeireira. A Lumber ficou responsável pela extração e abertura das áreas, instalando uma serraria no estado do Paraná e comercializando a madeira (Carvalho, 2010). Além disso, a Lumber comprou diversas fazendas que possuíam parte da Floresta com Araucárias em suas áreas, a fim de suprir a capacidade produtiva da madeireira, tendo papel fundamental para a devastação dessa floresta (Carvalho; Nodari, 2008). Quando a febre madeireira passou, após a Segunda Guerra Mundial, esse volume exacerbado produzido de madeira pronta para ser destinada à exportação muitas vezes era abandonado em rodovias e ferrovias, porque ultrapassavam os limites da capacidade de transporte, deixando para trás apenas as áreas intensamente exploradas e devastadas (Leão, 2000).

Após a crise madeireira, o Governo de Getúlio Vargas instituiu a criação do Instituto Nacional do Pinho, em 1941 (Brasil, 1941). Cabia a ele a fiscalização, tributação, incentivo ao comércio e reflorestamento. Embora a criação do Instituto fosse válida, o Anuário Brasileiro de Economia Florestal de 1949 (Aubreville, 1949), publicou que a exportação da madeira de araucária em 1947 chegou a 476.400 toneladas. Além disso, o reflorestamento pregado por ele ocorreu pelo plantio de espécies exóticas pela indústria madeireira, para suprir a demanda de produção (Carvalho, 2006), isso porque em todas as fases da devastação da Floresta com Araucárias havia interesse econômico. Nodari (2012) afirma que em todos seus estudos sobre o desmatamento das florestas do Sul do país, o interesse econômico foi motivador, tendo as árvores como fonte de renda. Para o reflorestamento de

Araucárias ser algo efetivo, é necessário mais do que leis de incentivo à proteção da espécie.

Quando o plantio de araucária é realizado em áreas remanescentes da Floresta Ombrófila Mista, é considerado enriquecimento ecológico e as árvores não podem ser cortadas, apenas exploradas indiretamente (Vibrans *et al.*, 2013). Segundo Campos (2018), cabe ao Governo o incentivo e estímulo ao plantio de araucárias para exploração futura, de modo que tenha um retorno econômico. De acordo com ele, é mais apropriado o plantio de araucária do que a produção de pinus ou eucáipto, por serem espécies exóticas. Então, assim como nos estudos de Nodari (2012), a economia precisa estar integrada à recuperação das áreas, fazendo-se explícito o uso potencial e controlado da madeira e subprodutos de araucária.

Além do plantio autorizado para exploração direta e indireta, há também os indivíduos regenerantes naturais, porém, nem todos estão se reproduzindo, como apontam Brocardo *et al.* (2018). De acordo com os autores, um exemplo para esse fato é o Parque Nacional do Iguaçu, onde foram constatados aproximadamente 383 indivíduos regenerantes por hectare, porém, apenas 52 reprodutivos. Além disso, para a regeneração ser efetiva, é necessária uma grande quantidade de sementes e mudas produzidas, devido a predação e matocompetição natural, logo, precisando de elevada quantidade de indivíduos regenerantes e reprodutivos concentrados para produção efetiva de novas mudas. Em um estudo publicado por Paludo *et al.* (2011), os autores notaram que o desenvolvimento da plântula de ocorrência natural é crítico até alcançar 50 cm, porém, a morte ocorre com plantas de até 2 m de altura. Fato esse justificado pelo consumo por animais herbívoros, estação do ano atuando na produção da planta e presença de gramíneas competidoras.

Para recuperação de áreas exploradas, mudas são mais adaptáveis do que a semeadura direta, pois as sementes expostas diretamente no solo podem sofrer o ataque de animais e insetos, perda de água, tendo a necessidade de utilizar mais sementes por cova para garantir a germinação (Gasparin, 2016). Para o resgate e conservação genética da espécie, recomenda-se a coleta de sementes de matrizes distanciadas a no mínimo 100 metros, evitando árvores isoladas ou em locais públicos, preferencialmente escolhendo plantas em áreas de ocorrência natural da espécie. É recomendado coletar quantidades de matrizes diferentes e misturá-las para representatividade genética, exceto quando são matrizes muito próximas. Nesse

caso, coletar poucas sementes por matriz e buscar grupos genéticos diferentes afastados (Sebbenn, 2006).

Quanto à conservação das plantas remanescentes, é necessária ação do Estado para incentivo ao produtor, como Pagamento por Serviços Ambientais, isenção de impostos, criação de Unidades de Conservação, fiscalização mais aprofundada, integração de projetos educacionais que englobem a sociedade e demonstrem a importância da conservação e restauração (Campos, 2018). A Embrapa Florestas realiza pesquisas nesse âmbito de conservação relacionada à exploração sustentável, como é o exemplo do projeto “Uso e conservação da araucária na agricultura familiar”, onde o produtor participa da seleção de matrizes para o programa de melhoramento genético, com base na produção de pinhões e estatura da planta, fazendo com que o próprio produtor faça parte do processo para obter retorno financeiro com a comercialização de pinhão e madeira de araucária (Radomski *et al.*, 2016).

2.3 LEGISLAÇÃO

A Lei nº 11.428/2006, conhecida como Lei da Mata Atlântica, a qual regulamenta a utilização, proteção, regeneração e exploração da vegetação nativa do Bioma Mata Atlântica, com o objetivo de assegurar sua preservação e uso sustentável. Essa legislação estabelece diretrizes específicas para o manejo ambiental em áreas inseridas nesse bioma, reconhecido por sua elevada biodiversidade e elevado grau de ameaça (Brasil, 2006).

Além disso, a lei estabelece as hipóteses de vedação absoluta do corte e da supressão de vegetação primária e secundária nos estágios avançado e médio de regeneração, restringindo significativamente as intervenções humanas em áreas ecologicamente sensíveis. Como consequência, determinadas espécies de interesse econômico, como a *A. angustifolia*, foram gradativamente excluídas da rota prioritária da silvicultura.

No âmbito estadual, a Lei nº 20.223, sancionada em maio de 2020 pela Assembleia Legislativa do Estado do Paraná, passou a regulamentar o plantio e a exploração da referida espécie. De acordo com essa norma, apenas os produtores que realizarem o plantio e estiverem devidamente cadastrados junto ao órgão ambiental estadual, além de notificarem previamente a intenção de exploração, poderão utilizar economicamente a araucária, garantindo, assim, o controle e a rastreabilidade da origem do material explorado (Brasil, 2020).

Segundo Dobner Jr (2018), o caminho mais óbvio é a conservação por meio da utilização da espécie com valor econômico, de modo que seja possível um uso sustentável. O objetivo principal é fazer com que o interesse financeiro proporcione o aumento da população da *A. angustifolia*. A Secretaria do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul (SEMA-RS) está trabalhando nesse âmbito, buscando apoiar projetos de pesquisa associadas à sustentabilidade, conservação da espécie e incentivo ao uso (Urruth, 2018). Como o caso do Projeto de Lei 556/2017, que institui o Projeto Preservacionista Araucária, fomentando manejo silvicultural sustentável, incentivando a agricultura familiar por meio da produção de alimento proveniente da araucária (Paraná, 2017).

2.4 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *Araucaria angustifolia*

Para fins madeireiros, produção de pinhões ou restauração ecológica, a silvicultura regenerativa com mudas de espécies nativas representa uma estratégia essencial, visando ao rápido estabelecimento e à sobrevivência das plantas em ambientes adversos. Segundo Ellison *et al.* (2017), áreas anteriormente exploradas apresentam condições edáficas e microclimáticas desfavoráveis, como baixa fertilidade, alterações no pH do solo, alta incidência de radiação solar, baixa umidade relativa do ar e temperaturas elevadas, tornando o ambiente inóspito para o desenvolvimento das mudas. Nesse contexto, a utilização de mudas bem estruturadas e previamente aclimatadas é fundamental. Considerando a recalcitrância das sementes de *A. angustifolia*, a clonagem surge como alternativa viável para a propagação da espécie.

A produção de mudas por propagação vegetativa proporciona uniformidade e qualidade, visto que a matriz a ser clonada é selecionada previamente de acordo com suas características de interesse. Uma das principais vantagens da propagação vegetativa é não depender da sazonalidade da maturação de pinhões para produção de mudas, ou seja, é viável sua produção ao longo do ano todo (Wendling *et al.*, 2016b). Para a araucária com foco em madeira, é recomendada a coleta de propágulos ortotrópicos, que crescem advindos de gemas apicais (Kageyama; Ferreira, 1975). Propágulos plagiotrópicos (ramos e grimpas) não dão origem a uma planta com a arquitetura típica de araucária, o que não é o interesse da indústria madeireira, porém, desenvolve plantas com potencial de maturação juvenil e produção de pinhão em menor tempo (Zanette *et al.*, 2017).

Dentre as técnicas utilizadas de propagação vegetativa, destacam-se a estaquia (Figura 2A), a miniestaquia (Figura 2B) e a enxertia (Figura 2C).

Figuras 2 – métodos de propagação vegetativa.



Fonte: Ivar Wendling, 2017.

Notas: A) Brotações de cepa de araucária, utilizadas para confecção de estacas; B) Minijardim clonal de araucária, em sistema semihidropônico; C) Brotação de material enxertado.

A estaquia tradicional apresenta baixas taxas de enraizamento, especialmente pela cronologia do material de origem (Wendling *et al.*, 2009). Essa técnica utiliza segmentos do caule, denominados estacas, que contêm gemas que são capazes de emitir raízes e brotações em condições ideais, desenvolvendo uma nova planta completa, igual à planta matriz (Hartmann *et al.*, 2011). A estaca confeccionada é inserida em substrato apropriado para promover o enraizamento e posterior formação de uma nova planta (Wendling *et al.*, 2000). A eficácia dessa técnica depende da maturidade fisiológica do material, capacidade da planta de formar calos e raízes em resposta ao estresse, época de coleta, tipo de estaca (apical, intermediária ou basal) e manejo ambiental.

A miniestaquia, por sua vez, tem se mostrado uma alternativa mais eficiente, especialmente por utilizar brotações juvenis oriundas de minijardins clonais (Figura 2B), o que favorece a capacidade rizogênica e a uniformidade das mudas (Bacarin *et al.*, 2020). O minijardim é conduzido em condições de irrigação e adubação controladas, de forma a estimular a produção constante de brotações. Outra característica benéfica dessa técnica é o manejo do minijardim, que permite a produção contínua de propágulos ao longo do ano (Stuepp *et al.*, 2021).

As miniestacas são coletadas preferencialmente da porção apical, contendo ao menos um nó e uma gema. Após a coleta, as miniestacas são confeccionadas no tamanho desejado, são inseridas em substrato e acondicionadas em estufas com alta umidade e temperatura controlada, condições que favorecem a formação de raízes e evitem estresse hídrico (Brondani *et al.*, 2018). No entanto, a espécie ainda apresenta limitações fisiológicas à emissão de raízes, mesmo sob condições experimentais otimizadas.

A enxertia configura-se como uma técnica de propagação vegetativa amplamente empregada na silvicultura, caracterizada pela união de tecidos de duas plantas distintas, com o objetivo de formar um único indivíduo funcional. Essa união permite que o componente basal forneça o sistema radicular e suporte estrutural, enquanto o componente superior (enxerto, visualizado na Figura 2C) expressa as características genéticas de interesse, como é o caso da produção precoce de pinhões, no caso da araucária (XAVIER *et al.*, 2013).

2.5 FATORES QUE INFLUENCIAM ENRAIZAMENTO E DESENVOLVIMENTO DAS MUDAS

A principal função das raízes é a absorção de água e nutrientes, logo, uma raiz bem desenvolvida está propensa a aumentar a adaptação das mudas (Koevoets *et al.*, 2016). A rizogênese é afetada principalmente por maturidade fisiológica dos tecidos vegetais, uma vez que tecidos juvenis apresentam maior plasticidade celular, atividade meristemática e melhor resposta aos reguladores de crescimento (Xavier *et al.*, 2013). Como supracitado, o manejo nutricional do minijardim é essencial, pois interfere diretamente no conteúdo de carboidratos solúveis não estruturais, que atuam como fonte de energia para a formação de novos tecidos (Brondani *et al.*, 2018). Esses carboidratos como sacarose, glicose e frutose desempenham papel inicial na fase de enraizamento das miniestacas, nos processos de divisão e diferenciação celular, permitindo o desenvolvimento dos primórdios radiculares. A síntese e o acúmulo de carboidratos solúveis nas miniestacas estão diretamente associados à capacidade fotossintética das plantas matrizes, a qual é modulada por fatores como a intensidade luminosa, a frequência de podas e a disponibilidade de nutrientes, especialmente nitrogênio e potássio (Brondani *et al.*, 2018; Wendling *et al.*, 2014).

A mobilização para as áreas de rizogênese é influenciada por enzimas como sacarose sintase e invertase, cuja atividade metabólica por ser estimulada por

condições ambientais favoráveis. A limitação desses carboidratos pode comprometer a sobrevivência da miniestaca e reduzir a emissão de raízes, restringindo fotossíntese e a translocação de assimilados (Xavier *et al.*, 2013).

Outro estresse significativo que ocorre na propagação vegetativa é a oxidação de tecidos, causando necrose e inibição de raízes, causados pelo acúmulo de compostos fenólicos. A produção de fenóis precisa estar em equilíbrio com os compostos antioxidantes naturais da planta, para que ocorra sucesso do enraizamento (Wendling *et al.*, 2014). A integração desses aspectos fisiológicos, associados a um manejo eficiente do minijardim clonal é essencial para a obtenção de mudas de qualidade para a silvicultura clonal.

2.6 BIOTECNOLOGIA APLICADA À PRODUÇÃO DE MUDAS

A biotecnologia tem desempenhado um papel fundamental na modernização dos métodos de propagação vegetal, especialmente pela aplicação de bioestimulantes, hormônios sintéticos e nanopartículas, otimizando enraizamento, desenvolvimento e adaptação das plantas. Além disso, o uso de tecnologias sustentáveis, como nanopartículas biodegradáveis contribui para a redução do impacto ambiental, alinhando a produção de mudas aos princípios da agricultura sustentável.

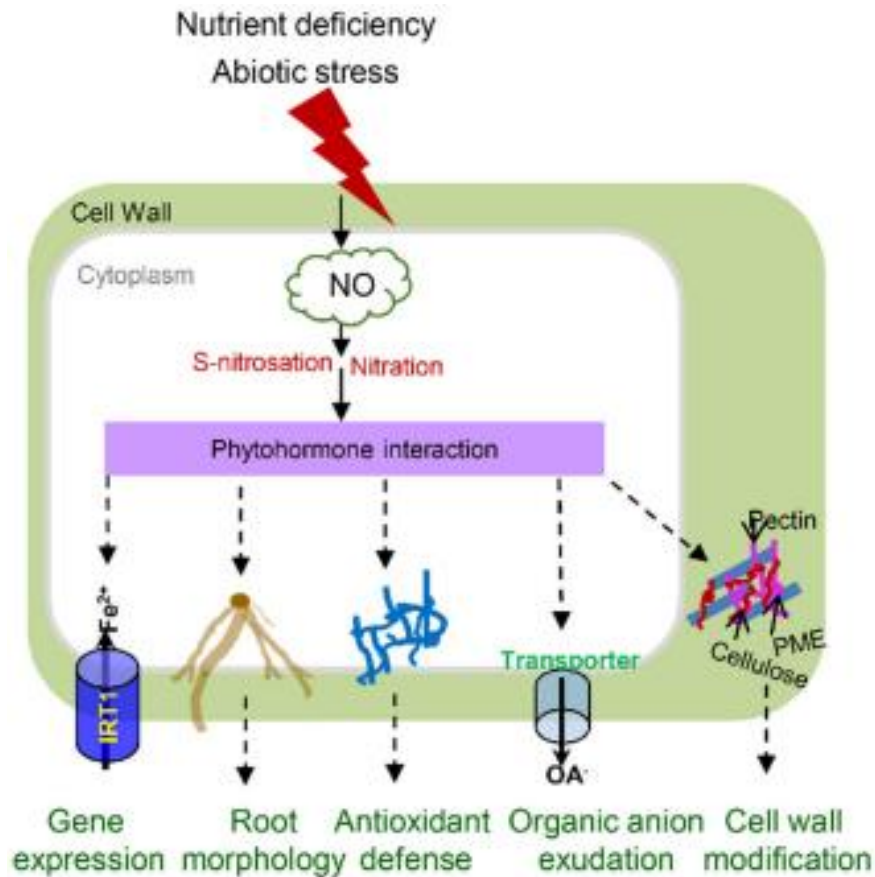
O óxido nítrico (NO) tem relevante importância no meio biotecnológico, pois seu uso tem crescido na produção agrícola para melhorar adaptação das plantas a condições adversas, como seca. O NO é uma molécula sinalizadora de ocorrência natural na planta, que atua no metabolismo vegetal sendo uma espécie reativa de nitrogênio, possuindo um elétron não pareado, fazendo com que seja reativo e instável (Gupta *et al.*, 2022). É um gás incolor de meia-vida extremamente curta, de caráter lipofílico, capaz de aderir à camada lipídica da membrana celular (Thomas *et al.*, 2008).

Um dos maiores desafios da propagação vegetativa e pegamento de mudas a campo é o desenvolvimento das raízes. Segundo Lombardo e Lamattina (2012), o NO interfere na formação das raízes, estimulando crescimento de raízes adventícias, pelos radiciais e raízes principais, aumentando absorção de água e nutrientes. Além disso, aumenta o conteúdo de clorofila e eficiência fotossintética, que consequentemente aumenta biomassa e também estimula crescimento radicular

(Campos *et al.*, 2019). Oliveira *et al.* (2021) aplicaram o doador de NO em *Eucalyptus globulus* e obtiveram 71,2% de enraizamento (a uma concentração de 100 mM), um resultado semelhante à aplicação de AIB (ácido indolbutírico, a uma concentração de 2 mg/L), com 74,6% de enraizamento, indicando que o NO pode atuar de forma substitutiva a auxinas na rizogênese, evidenciando as estratégias bioquímicas que podem ser abordadas na propagação vegetativa.

Por ser uma molécula sinalizadora, é capaz de ativar enzimas eliminadoras de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são tóxicas para as plantas. As EROs são moléculas altamente reativas derivadas de oxigênio com radicais livres, como ânion superóxido e radical hidroxila. São resultado de processos metabólicos celulares, especialmente a cadeia transportadora de elétrons, e exercem papel fundamental como sinalizadores celulares, além de respostas fisiológicas (Figura 3). Porém, com o acúmulo de EROs pode haver o estresse oxidativo, ligado a processos degenerativos, inclusive de lipídeos, proteínas e DNA. Para mitigar os efeitos deletérios existem sistemas antioxidantes nas células, sendo eles enzimáticos ou não enzimáticos, como é o exemplo da glutathione, que atua na neutralização das espécies reativas (Noctor; Foyer, 2016; Ortega *et al.*, 2017; Taiz; Zeiger, 2017).

Figura 3 – Mecanismos envolvendo NO na aclimação das plantas à deficiência nutricional e ao estresse abiótico.



Fonte: Sun *et al.*, 2021.

Notas: *nutrient deficiency*: deficiência nutricional; *abiotic stress*: estresse abiótico; *cell wall*: parede celular; *cytoplasm*: citoplasma; *S-nitrosation*: S-nitrosação; *nitration*: nitração; *phytohormone interaction*: interações fitohormonais; *gene expression*: expressão gênica; *root morphology*: morfologia das raízes; *antioxidant defense*: defesa antioxidante; *organic anion exudation*: exsudação de ânion orgânico; *cell wall modification*: modificação da parede celular; *cellulose*: celulose; *pectin*: pectina; PME: pectina metilesterase.

No metabolismo, há diversas vias de conversão para síntese endógena de NO, sendo elas oxidativas ou redutivas (Gupta *et al.*, 2022). De acordo com Astier *et al.* (2018), essa síntese ocorre em células estressadas. Uma rota redutiva é a conversão de nitrito (NO_2^-) a NO, seja ela enzimática, utilizando a enzima nitrato redutase, ou não enzimática, por meio de soluções ácidas (Astier *et al.*, 2018). O NO está correlacionado também à expressão gênica, modificando a atividade proteica após a fase de tradução do RNA, agindo de forma que o NO faça uma ligação covalente com os grupos tióis da cisteína, um aminoácido gerado na fase pós-traducional, formando S-nitrosotióis (RSNO), processo denominado de S-nitrosação (Astier *et al.*, 2018).

Um dos RSNO mais importantes e o utilizado no presente trabalho é a S-nitrosoglutationa (GSNO). Também por uma ligação covalente, o NO se liga à glutathione reduzida (GSH), formando o GSNO (Gupta *et al.*, 2022; Thomas *et al.*, 2008). A enzima GSNO redutase (GSNOR) controla os níveis de GSNO na planta, convertendo-a em GSH, o que previne o acúmulo de NO nos tecidos, permitindo uma ação adaptativa e responsiva aos estímulos ambientais (Freschi, 2013; Corpas *et al.*, 2011).

O GSNO pode ser incorporado a nanopartículas de quitosana (NPQs), geralmente durante o processo de síntese da molécula. As nanopartículas possuem dimensões na escala nanométrica (1 a 100 nm), sendo utilizadas no meio agrícola para liberação controlada de formulações, otimização de absorção de nutrientes como no caso de nanofertilizantes, ou até nanopesticidas que reduzem impacto ambiental por agirem de forma pontual (Fraceto *et al.*, 2016).

As NPQs podem ser utilizadas no setor silvicultural devido suas propriedades biodegradáveis, biocompatíveis e sua capacidade de atuar como carreadores de liberação controlada de compostos ativos, como é o caso do GSNO. A quitosana é um biopolímero, derivado da quitina, presente no exoesqueleto de artrópodes (Elsabee; Abdou, 2013). A natureza biodegradável da quitosana permite a decomposição segura no solo, sem causar acúmulo de resíduos tóxicos, volatilização ou lixiviação, reduzindo impactos ambientais (Kashyap *et al.*, 2015).

2.7 DESAFIOS E PERSPECTIVAS DO USO DE GSNO

Apesar do seu potencial como doador de NO, o GSNO apresenta desafios técnicos e bioquímicos. A eficácia do GSNO depende da estabilidade da ligação covalente S-NO, que pode ser rompida prematuramente durante o armazenamento, pois sofre decomposição espontânea em contato com luz, umidade e temperaturas elevadas (Broniowska *et al.*, 2013). Quando encapsulado em nanopartículas de quitosana apresenta maior estabilidade, podendo ser armazenado em condições de refrigeração a 4°C e ausência de luz num período de 30 a 60 dias (Seabra *et al.*, 2020).

O desenvolvimento de antioxidantes e coencapsulantes tem sido estudado como forma de prolongar a viabilidade funcional do GSNO após esse período, aumentando sua meia vida (Rahimi *et al.*, 2022). Com essa demanda controlada de armazenamento, há um limite de viabilidade de uso em larga escala. Perspectivas

futuras incluem o desenvolvimento de nanopartículas *core-shell* (“núcleo-casca”, referindo-se a nanopartículas com múltiplas camadas), proporcionando maior estabilidade da molécula.

Além disso, técnicas como liofilização estão sendo estudadas para aumentar o tempo de prateleira e melhorar a logística de armazenamento, fazendo com que seja transformado em uma suspensão em pó, podendo ser reconstituído antes do uso (Stasko *et al.*, 2008). Assim, a integração de avanços em nanotecnologia, química de polímeros e tecnologias de conservação poderá viabilizar a aplicação do GSNO em larga escala no setor agrícola e florestal.

3. OBJETIVOS

Avaliar o enraizamento e o vigor radicial de miniestacas de *A. angustifolia* considerando a aplicação de GSNO. Determinar a concentração ideal de GSNO para promover o enraizamento eficiente em miniestaquia da espécie.

4. HIPÓTESES

- A aplicação de GSNO aumenta a porcentagem de enraizamento de miniestacas de *A. angustifolia* (Bertol.) Kuntze.
- A aplicação de GSNO aumenta o comprimento e quantidade de raízes de miniestacas de *A. angustifolia* (Bertol.) Kuntze

5. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado no dia 24 de setembro de 2024 no Viveiro Florestal da Universidade Estadual de Ponta Grossa, na cidade de Ponta Grossa, estado do Paraná, sob as coordenadas 25°05'43"S e 50°06'29"O, situada no Segundo Planalto Paranaense, com altitude de 900 m.

O minijardim seminal de araucária foi instalado utilizando mudas seminais, com sementes provenientes de uma planta matriz, localizada em Cruz Machado-PR. As mudas foram produzidas em tubetes de 280 cm³, preenchidos com substrato comercial[®] composto por turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizado, com pH de 5,5 e condutividade elétrica de 0,4 mS/cm. O minijardim permaneceu em estufa, com 50% de irradiação e irrigação por microaspersão quatro vezes ao dia, durante 8 minutos, com vazão de 28 L hora⁻¹. A fertirrigação foi realizada semanalmente, com a aplicação de 15 mL de solução nutritiva por minicepa. A solução nutritiva foi composta por 4 gL⁻¹ de MAP (NH₄H₂PO₄), 0,5 gL⁻¹ de Dripsol Micro[®] (contendo 1,2% de Mg, 0,85% de B, 3,4% de Fe, 4,2% de Zn, 3,2% de Mn, 0,5% de Cu e 0,06% de Mo), 2 gL⁻¹ de sulfato de amônio e 4 gL⁻¹ de cloreto de potássio.

O GSNO foi sintetizado e caracterizado conforme a metodologia descrita por Silveira *et al.* (2016). As nanopartículas de quitosana (NP-CS) foram preparadas pela Prof.^a Dra. Amedea Barozzi Seabra, na Universidade Federal do ABC, seguindo o protocolo estabelecido por Pelegriño *et al.* (2017).

Para a síntese do GSNO, o GSH foi dissolvido em solução de ácido clorídrico (1 mol.L⁻¹). Em seguida, uma quantidade equimolar de nitrito de sódio (NaNO₂) foi adicionada à solução de GSH, mantendo a reação sob agitação magnética em banho de gelo por 30 minutos, a fim de promover a nitrosação do GSH. Posteriormente, foi adicionada acetona, e a solução resultante foi filtrada e lavada com água fria para obtenção do GSNO na forma precipitada. O sólido obtido foi então liofilizado por 24 horas e armazenado a -20 °C até sua utilização.

A quitosana (CS) foi dissolvida em solução aquosa de ácido acético a 1% (v/v), e à solução resultante foram adicionados 130 mmol.L⁻¹ de GSH. Após agitação magnética por 90 minutos à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), foi adicionada, gota a gota, uma solução de tripolifosfato de sódio (TPP) na concentração de 0,6 mg.mL⁻¹. A suspensão final foi mantida sob agitação magnética por 90 minutos.

Para a obtenção das nanopartículas de quitosana contendo GSNO (NP-CS/TPP-GSNO), pesou-se em balança analítica 0,0621 g de NaNO_2 , no Laboratório de Biodiversidade, o qual foi adicionada à suspensão de 24 mL de NP-CS/TPP-GSH (nanopartículas de quitosana contendo GSH). A reação foi conduzida no escuro, durante 60 minutos, em um tubo falcon envolto com papel alumínio, em refrigeração. A suspensão final apresentou concentração de 100 mmol.L^{-1} de NP-CS/TPP-GSNO. A partir da solução concentrada foram feitas as diluições necessárias para obter as concentrações de 10 mM e 50 mM (Figura 4A). O volume da solução foi distribuído em copos do tipo Becker graduados de 25 mL, os quais foram previamente revestidos com papel alumínio para proteção contra a luz.

O minijardim seminal estava ativo e com coletas seletivas das minicepas desde 01/12/2023. Para a instalação deste experimento, brotos com aproximadamente 10 ± 1 cm foram coletados do minijardim clonal (Figura 4B). A partir destes, foram confeccionadas miniestacas com 6 ± 1 cm de comprimento com corte basal em bisel, removendo $1/3$ das acículas na base e cerca de $2/3$ das brotações laterais, mantendo-se intacto o meristema apical (Figura 4C). Após, as miniestacas foram distribuídas em 4 tratamentos, sendo esses: 0, 10, 50 e 100 mM de GSNO.

As miniestacas tiveram suas bases imersas nas diferentes concentrações de GSNO, de forma que aproximadamente 2 ± 1 cm do comprimento basal permanecesse submerso por 10 segundos (Figura 4D). O tratamento testemunha (0 mM) consistiu em 15 mL de água destilada. O plantio das miniestacas foi realizado em tubetes de polipropileno de 55 cm^3 , preenchidos com substrato comercial Carolina Soil® Classe LXXXV (Figura 4E), sendo posteriormente acondicionadas em casa de vegetação climatizada, com nebulização intermitente em intervalos de 10 minutos e duração de 30 segundos (Figura 4F).

Figuras 4 – Metodologia e instalação do experimento.



Fonte: a autora, 2024.

Notas: A) Copos do tipo Becker com as diferentes concentrações de GSNO. B) Minijardim clonal utilizado na coleta de propágulos. C) Miniestaca confeccionada com 6 ± 1 cm de comprimento, sem as acúculas da base. D) Imersão das miniestacas em GSNO. E) Instalação da miniestaca no substrato. F) Experimento acondicionado na casa de vegetação.

Transcorridos 120 dias da instalação foram avaliadas a porcentagem de enraizamento (miniestacas vivas com raízes de pelo menos 2 mm de comprimento); número de raízes/miniestaca; comprimento das três maiores raízes/miniestaca (cm); porcentagem de miniestacas com calos (miniestacas vivas, sem raízes, com formação de massa celular indiferenciada na base); porcentagem de miniestacas com raízes e calos (miniestacas vivas, com raízes de pelo menos 2 mm de comprimento e formação de massa celular indiferenciada na base); porcentagem de sobrevivência (miniestacas vivas que não apresentaram indução radicial nem formação de calos); porcentagem de mortalidade (miniestacas que se encontravam com tecidos necrosados); porcentagem de emissão de brotos (emissão de novos brotos de pelo menos 2 mm

de comprimento) e manutenção de acículas originais nas miniestacas (porcentagem de miniestacas que mantiveram as folhas originais).

O experimento foi implantado no delineamento inteiramente casualizado, possuindo quatro concentrações de NO, com 3 repetições de 19 miniestacas por unidade experimental. A homogeneidade das variâncias entre os tratamentos foi avaliada pelo teste de Bartlett ($p < 0,05$), e as variáveis que apresentaram diferenças significativas, de acordo com o teste de F, tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos para nenhuma das variáveis analisadas, uma vez que os valores de probabilidade obtidos foram superiores a 0,05 (Tabela 1).

Tabela 1 – Médias seguidas de $\pm$ erro padrão dos parâmetros de enraizamento de miniestacas de *A. angustifolia* tratadas com diferentes concentrações de GSNO, mensuradas após 120 dias sob condições controladas.

Tratamento (mM)	ENR (%)	NR	C3MR (cm)	MCC (%)	MRC (%)
0	79 $\pm$ 5,44	2,55 $\pm$ 0,23	10,65 $\pm$ 1,17	11 $\pm$ 4,10	79 $\pm$ 5,44
10	75 $\pm$ 5,57	2,40 $\pm$ 0,24	10,36 $\pm$ 1,22	16 $\pm$ 4,87	72 $\pm$ 6,00
50	79 $\pm$ 5,44	3,02 $\pm$ 0,26	10,56 $\pm$ 1,38	11 $\pm$ 4,10	70 $\pm$ 6,11
100	88 $\pm$ 4,39	3,24 $\pm$ 0,31	11,97 $\pm$ 0,57	16 $\pm$ 2,98	82 $\pm$ 5,23
C.V.%	6,89	8,61	11,78	18,63	6,89

Fonte: a autora, 2025.

Notas: ENR: porcentagem de enraizamento; NR: número de raízes por miniestaca; C3MR: média do comprimento das três maiores raízes por miniestaca; MCC: porcentagem de miniestacas com calos; MRC: porcentagem de miniestacas com raízes e calos; C.V.%: coeficiente de variação.

Do ponto de vista fisiológico da espécie, a temperatura e sazonalidade influenciam na rizogênese, já que os efeitos foram distribuídos homogeneamente em todos os tratamentos. Segundo Taiz e Zeiger (2017), a maior síntese de auxinas ocorre entre a primavera e o verão, gerando efeitos sobre o metabolismo, como melhor vigor radicial em épocas mais quentes, além de favorecer a divisão celular nas estacas (Fachinello *et al.*, 1994).

Algumas hipóteses podem ser exploradas sobre o desempenho das miniestacas de *A. angustifolia*, tais como as concentrações aplicadas não serem suficientes para gerar um efeito significativo sobre a rizogênese em miniestacas da espécie, visto que doses baixas podem ser insuficientes para gerar efeito metabólico e desencadear a resposta sinalizadora da molécula de NO, ou a espécie já possuir níveis endógenos adequados, fazendo com que a aplicação exógena não gere efeitos positivos ou negativos.

Não há na literatura estudos de aplicação de GSNO ou demais doadores de NO focados em rizogênese e produção de mudas. Bueno (2014) utilizou GSNO em culturas embriogênicas de *A. angustifolia* para investigar seu efeito na produção de

NO. O GSNO foi incorporado ao meio de cultura em uma concentração de 1 mM, em conjunto com diferentes concentrações de ácido salicílico (0,5 e 2 mM). De acordo com a autora, os objetivos dessa aplicação era aumentar a liberação de NO extra e intracelular, para analisar o impacto do NO na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e na evolução da cultura *in vitro*. Os resultados mostraram que as células mantidas em meio com GSNO apresentaram menor redução de EROs, mas o meio combinado com ácido salicílico e GSNO promoveu diminuição acentuada dos níveis de EROs.

Os resultados de Bueno (2014) reforçam o papel regulador do óxido nítrico (NO) na modulação do equilíbrio redox celular e no controle do desenvolvimento *in vitro* de tecidos vegetais. Conforme demonstrado por Silveira *et al.* (2006), as poliaminas espermidina e espermina favorecem o desenvolvimento de culturas embriogênicas de *Araucaria angustifolia* ao promoverem a redução dos níveis endógenos de NO. Esse efeito também foi relatado por Bueno (2014), que destacou a importância da diminuição do NO intracelular como fator crucial para a progressão da embriogênese somática na espécie. Embora embriogênese e rizogênese constituam processos morfogênicos distintos, compartilham mecanismos iniciais semelhantes, como a ativação de células totipotentes e a regulação por fitohormônios e sinais redox, conforme descrito por Fehér (2015).

Por ser sintetizado principalmente em tecidos de crescimento ativo, o NO já está presente nas células da *A. angustifolia*, e pode induzir o acúmulo de ácido salicílico nas plantas, atuando como antioxidante, minimizando os danos causados pelas EROs (Bai *et al.*, 2011). Assim como o NO, as plantas utilizam o ácido salicílico nas respostas a estresses abióticos (Miura, 2014), pertencendo ao grupo de fenóis vegetais, exercendo papel na regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas (Raskin, 1992).

Outra hipótese a ser considerada refere-se ao tempo de exposição das miniestacas ao GSNO, que possivelmente não foi suficiente para desencadear os efeitos fisiológicos esperados. O GSNO foi aplicado por Silva (2024) em vasos de 190 mL, contendo mudas de espécies nativas em sistema hidropônico, recebendo a solução nutritiva contendo GSNO duas a três vezes por semana. Em *Cecropia pachystachya*, a concentração de 10 µM aumentou significativamente a massa seca das raízes, porém, com 100 µM, os efeitos chegam a ser prejudiciais, sugerindo

estresse nitrosativo. Em *Cariniana estrellensis*, a aplicação de 10 μ M aumentou significativamente o comprimento total das raízes. Esses resultados sugerem que o óxido nítrico (NO) desempenha um papel relevante na indução da rizogênese, e que a duração da exposição do tecido vegetal ao composto pode influenciar diretamente as respostas fisiológicas, resultando em efeitos positivos ou negativos, dependendo da intensidade e do tempo de ação.

As variáveis mortalidade, sobrevivência, emissão de brotações e manutenção foliar apresentaram desempenho homogêneo entre os tratamentos, sem diferenças estatísticas detectáveis (Tabela 2).

Tabela 2 – Médias seguidas de $\pm$ erro padrão da mortalidade, sobrevivência, emissão de brotações e manutenção de acículas em miniestacas de *Araucaria angustifolia* tratadas com diferentes concentrações de GSNO, obtidas após 120 dias.

Tratamento (mM)	MORT (%)	SOBR (%)	BROT (%)	MFO (%)
0	0	0	100	100
10	0	0	100	100
50	2 $\pm$ 1,75	0	98 $\pm$ 1,75	98 $\pm$ 1,75
100	0	0	100	100

Fonte: a autora, 2025.

Notas: MORT: porcentagem de mortalidade; SOBR: porcentagem de sobrevivência; BROT: porcentagem de emissão de brotos e MFO: porcentagem de manutenção de acículas originais.

Esses resultados indicam que a aplicação de GSNO, nas concentrações avaliadas, não comprometeu a viabilidade fisiológica das miniestacas de *Araucaria angustifolia*. No tratamento com 50 mM, foi registrada uma única ocorrência isolada de mortalidade, associada a uma miniestaca que não apresentou enraizamento, brotação ou manutenção foliar. Tal evento pontual sugere um efeito aleatório, sem relação direta com a ação do GSNO. A elevada manutenção das acículas após 120 dias em todos os tratamentos reforça a integridade fisiológica das miniestacas ao longo do experimento, indicando ausência de fitotoxicidade evidente.

Em síntese, esta pesquisa contribui para o avanço do conhecimento sobre os mecanismos fisiológicos envolvidos no enraizamento adventício de *Araucaria angustifolia*. Ao investigar o papel do óxido nítrico (NO) como modulador da rizogênese, os resultados obtidos abrem caminhos para o desenvolvimento de biotecnologias aplicadas à silvicultura clonal. Ainda que não se observem diferenças estatísticas entre os tratamentos, recomenda-se que estudos futuros ampliem a investigação sobre diferentes concentrações, tempos de exposição, modos de

aplicação e sinergias com outros reguladores vegetais, visando aprimorar protocolos de propagação clonal que aliem eficiência técnica à conservação da biodiversidade.

7. CONCLUSÃO

A aplicação de diferentes concentrações de GSNO nas miniestacas de *A. angustifolia* não resultou em diferenças estatisticamente significativas nas variáveis analisadas, conforme indica pelo teste de Tukey. Os resultados indicam que a aplicação de GSNO, nas concentrações avaliadas, não comprometeu a viabilidade fisiológica das miniestacas de *A. angustifolia*.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASTIER, J.; GROSS, I.; DURNER, J. Nitric oxide production in plants: an update. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 69, n. 14, p. 3401–3411, 2018.

AUBREVILLE, A. A floresta de pinho do Brasil. **Anuário Brasileiro de Economia Florestal**, n. 2, 1949.

AZARKOVICH, M. I. Dehydrins in orthodox and recalcitrant seeds. Russ. **Journal of Plant Physiology**, v.67, p.221-230, 2020.

BACARIN, M. A.; BRONDANI, G. E.; BERGONCI, T.; SILVA, A. L. L.; SCHMIDT, D. Propagação vegetativa de araucária em diferentes ambientes e épocas de coleta. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 44, e4402, 2020.

BAI, X.; YANG, L.; TIAN, M.; CHEN, J.; SHI, J.; YANG, Y.; HU, X. (2011) Nitric oxide enhances desiccation tolerance of recalcitrant *Antiaris toxicaria* seeds via protein S-nitrosylation and carbonylation. **PLoS One**, 6(6), e20714.

BERTHOLINO, M. L., *et al.* **MANUAL DE NORMALIZAÇÃO BIBLIOGRÁFICA PARA TRABALHOS CIENTÍFICOS**. 5. ed. [s.l.] Editora UEPG, 2023. p. 157

BITTENCOURT, V. *et al.* Conservation, management and sustainable use of *Araucaria angustifolia* genetic resources in Brazil. In: Vincenti, B. *et al.* **Challenges in managing forest genetic resource for livelihoods: examples from Argentina and Brazil**. Roma: IPGRI. 2004. p. 33-148.

BRASIL. **Decreto-Lei nº 3.124, de 19 de março de 1941**. Dispõe sobre a profissão de engenheiro-agrônomo. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 19 mar. 1941.

BRASIL. Lei nº 11.428, de 22 de dezembro de 2006. **Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do Bioma Mata Atlântica, e dá outras providências**. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 26 dez. 2006. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/l11428.htm. Acesso em: 20 abr. 2025.

BRASIL. **Lei nº 20.223. Estabelece regras para o estímulo, plantio e exploração da espécie *Araucaria angustifolia***. Diário Oficial do Estado do Paraná, 26 maio 2020.

BROCARD, C.R.; PEDROSA, F.; GALETTI, M. Forest fragmentation and selective logging affect the seed survival and recruitment of a relictual conifer. **Forest Ecology and Management**, v.408, p.87–93, 2018.

BRONDANI, G. E.; BACARIN, M. A.; BERGONCI, T.; WENDLING, I. Sistemas de propagação vegetativa aplicados ao melhoramento genético de espécies florestais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 38, e201801043, 2018.

BRONIOWSKA, K. A.; DIERS, A. R.; HOGG, N. S-Nitrosoglutathione. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, [s. l.], v. 1830, n. 5, p. 3173–3181, 2013.

BUENO, C. A. Ácido salicílico como sinalizador durante a embriogênese de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. [s. l.], 2014.

CAMPOS, F. V.; OLIVEIRA, J. A.; PEREIRA, M. G.; FARNESE, F. S. Nitric oxide and phytohormone interactions in the response of *Lactuca sativa* to salinity stress. **Planta**, [s. l.], v. 250, n. 5, p. 1475–1489, 2019.

CAMPOS, J. B. Linhas balizadoras para uma política pública para a araucária e Floresta Ombrófila Mista no estado do Paraná. In: seminário sul-brasileiro sobre a sustentabilidade da araucária, 3., 2018, Passo Fundo. **Anais do 3º Seminário Sul-Brasileiro sobre a Sustentabilidade da Araucária** [online]. Tapera: Lew, 2018. p. 36–39.

CARMO, A. A. O. do *et al.* Morfologia dos órgãos vegetativos e reprodutivos de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze (Araucariaceae). In: Sousa, V. A. *et al.* (ed.). **Araucária: pesquisa e desenvolvimento no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2021. cap. 2, p. 35-45.

CARVALHO, M. M. X. O desmatamento das florestas de araucária e o Médio Vale do Iguaçu: uma história de riqueza madeireira e colonizações. Dissertação (Mestrado em História), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 201 p., 2006.

CARVALHO, M. M. X. Uma grande empresa em meio à floresta: a história da devastação da floresta com araucária e a *Southern Brazil Lumber and Colonization* (1870-1970). 2010. Tese (Doutorado em História) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2010.

CARVALHO, M. M. X.; NODARI, E. S. As origens da indústria madeireira e do desmatamento da floresta de araucária no Médio Vale do Iguaçu (1884-1920). **Revista Cadernos do Ceom**, v. 21, n. 29, p. 63-82, 2008.

CARVALHO, P. E. R. Espécies florestais brasileiras. Colombo: Embrapa-CNPf; Brasília: EMBRAPA-SPI, 2003, 1038 p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 640 p.

COLOMBINI, F. **Araucária jovem**, São Bento do Sapucaí, SP. 2017.

COLOMBINI, F. **Campos de cima da serra com flores, e Matas de Araucárias no Parque Nacional de São Joaquim**, SC. 2023.

CORPAS, F. J. *et al.* Functions of nitric oxide (NO) in roots during development and under stress conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 2, p. 170, 2011.

CORPAS, F. J., CHAKI, M., FERNÁNDEZ-OCAÑA, A., & BARROSO, J. B. (2008). Metabolism of reactive nitrogen species in pea plants under abiotic stress conditions. **Plant and Cell Physiology**, 49(11), 1711–1722.

CURTO, R. A. *et al.* Wood density of *Araucaria angustifolia* from overstocked strand. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 36, n. 85, p. 51-59, 2016.

DOBNER JR, M. Estratégias de manejo para plantios de Araucária: uma abordagem prática. In: seminário sul-brasileiro sobre a sustentabilidade da araucária, 3., 2018, Passo Fundo. **Anais do 3º Seminário Sul-Brasileiro sobre a Sustentabilidade da Araucária** [online]. Tapera: Lew, 2018. p. 19–21.

ELLISON, D. *et al.* Trees, forests and water: Cool insights for a hot world. **Glob Environ Change**. 2017.

ELSABEE, M. Z.; ABDOL, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering C**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 1819–1841, 2013.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E.; FORTES, G.R.L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1994. 179p.

FEHÉR, A. Somatic embryogenesis — Stress-induced remodeling of plant cell fate. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms**, [s. l.], v. 1849, n. 4, p. 385–402, 2015.

FRACETO, LEONARDO F., *et al.* “Nanotechnology in Agriculture: Which Innovation Potential Does It Have?” **Frontiers in Environmental Science**, vol. 4, 22 Mar. 2016,

FRESCHI, L. Nitric oxide and phytohormone interactions: current status and perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 398, 2013.

FRESCHI, L., RODRIGUES, M. Â., DOMINGUES, D. S., PURGATTO, E., MERCIER, H., & MARSCHNER, H. (2013). Nitric oxide signaling and its crosstalk with other plant hormones in plant responses to abiotic stress. **Plant Science**, 215-216, 61–73.

GASPARIN, E. **Aspectos fisiológicos, celulares e moleculares da dessecação e armazenamento de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze**. 2016. 145 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Lavras, 2016.

GUPTA, K. J.; KALADHAR, V. C.; FITZPATRICK, T. B.; FERNIE, A. R.; MØLLER, I. M.; LOAKE, G. J. Nitric oxide regulation of plant metabolism. **Molecular Plant**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 228–242, 2022.

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

IMAGUIRE, N. (1979). Contribuição ao estudo florístico e ecológico da fazenda experimental do setor de ciências agrárias da Universidade Federal do Paraná 1. Ecologia, origem e ecese da vegetação. **Acta Biológica Paranaense**, 8.

IUCN. 2025. Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN. Versão 2025-1. <https://www.iucnredlist.org>. Acessado em 25 de maio de 2025.

KAGEYAMA, P. Y., FERREIRA, M. Propagação vegetativa por enxertia com *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. IPEF.11:95-102, 1975.

KASHYAP, P. L.; XIANG, X.; HEIDEN, P. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 77, p. 36–51, 2015.

KOEVOETS, I. T.; VENEMA, J. H.; ELZENGA, Theo. M.; TESTERINK, C. Roots Withstanding their Environment: Exploiting Root System Architecture Responses to Abiotic Stress to Improve Crop Tolerance. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 07, 2016.

- KOLBERT, Z.; ÖRDÖG, A. Involvement of nitric oxide (NO) in plant responses to metalloids. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 420, p. 126606–126606, 2021.
- LEÃO, R. M. A floresta e o homem. Edusp; IPEF, São Paulo, 448 p, 2000.
- LOMBARDO, M. C.; LAMATTINA, L. Nitric oxide is essential for vesicle formation and trafficking in Arabidopsis root hair growth. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 63, n. 13, p. 4875–4885, 2012.
- MIURA, K.; TADA, Y. (2014). Regulation of water, salinity, and cold stress responses by Isalicylic acid. **Frontiers in plant science**, 5.
- MUR, L. A. J., MANDON, J., CRISTESCU, S. M., HARREN, F. J. M., PRATS, E. (2011). Methods of nitric oxide detection in plants: A commentary. **Plant Science**, 181(5), 509–519.
- NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Intracellular Redox Compartmentation and ROS-Related Communication in Regulation and Signaling. **Plant Physiology**, [s. l.], v. 171, n. 3, p. 1581–1592, 2016.
- NODARI, E. S. Mata Branca: o uso do machado, do fogo e do motosserra na alteração da paisagem no Estado de Santa Catarina. In ES Nodari, J Klug (Org.), História Ambiental e Migrações. Oikos, São Leopoldo, p.35-54, 2012.
- OLIVEIRA, H. C.; SILVA, L. C.; FETT-NETO, A. G. *Comparison of auxin and nitric oxide donor effects on adventitious root formation in Eucalyptus globulus*. **Plant Growth Regulation**, v. 94, p. 123–132, 2021.
- ORTEGA, A. *et al.* Effects of antimony on redox activities and antioxidant defense systems in sunflowers (*Helianthus annuus* L.) plants. **PLoS One**, v. 12, n. 9, 2017.
- PALUDO, G. F.; MANTOVANI, A.; REIS, M. S. Regeneração de uma população natural de *Araucaria angustifolia* (*Araucariaceae*). **Revista Árvore**, [s. l.], v. 35, n. 5, p. 1107–1119, 2011.
- PARANÁ. Lei nº 556, de 29 de junho de 2017. **Dispõe sobre a conservação, o uso e o manejo sustentável da *Araucaria angustifolia* no Estado do Paraná**. *Diário Oficial do Estado do Paraná*, Curitiba, 29 jun. 2017.
- PELEGRINO, M. T.; SILVA, L. C.; WATASHI, C. M.; HADDAD, P. S.; RODRIGUES, T.; SEABRA, A. B. Nitric oxide-releasing nanoparticles: synthesis, characterization, and cytotoxicity to tumorigenic cells. **Journal of Nanoparticle Research**, [s. l.], v. 19, n. 2, 2017.
- RADOMSKI, M. I.; ROSOT, M. A. D.; LACERDA, A. E. B. de. Síntese de resultados do projeto “Uso e conservação da araucária na agricultura familiar”. In: sobre caracterização de sistemas de produção tradicionais e agroecológicos de erva-mate de agricultores familiares nas regiões centro sul e norte catarinense, 2015, União da Vitória. Anais. Colombo: **Embrapa Florestas**, 2016. p. 25-26.
- RAHIMI, G. *et al.* Chitosan nanoparticles: A sustainable nanocarrier for the controlled delivery of agrochemicals. **Journal of Environmental Management**, v. 303, 113786, 2022.
- RASKIN, I. (1992) Salicylate, a new plant hormone. *Plant physiology*, 99(3), 799

REITZ, R.; KLEIN, R.M. *Araucariaceae*. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1966. 29p.

ROLIM, M. B.; FERREIRA, M. Variação da densidade básica da madeira produzida pela *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze em função dos anéis de crescimento. **Revista IPEF**, Piracicaba, n. 9, p. 47-55, 1974.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. DÉFICIT HÍDRICO E OS PROCESSOS MORFOLÓGICO E FISIOLÓGICO DAS PLANTAS. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, n. 3, p. 287–294, dez. 1998.

SEABRA, A. M. E.; *et al.* S-nitrosoglutathione nanoestruturada: potencial aplicação de um doador de óxido nítrico no contexto agrônomo. *Química Nova*, v. 43, n. 3, p. 393–403, 2020. DOI: 10.21577/0100-4042.20170537.

SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em espécies arbóreas tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes... **ResearchGate**, [s. l.], p. 93–138, 2006.

Seminário Sul-Brasileiro sobre a Sustentabilidade da Araucária (3.: 2018: Passo Fundo, RS). Anais [do] 3º Seminário Sul-Brasileiro sobre a Sustentabilidade da Araucária [online] / organizado por Cristiano Roberto Buzatto ... [et al.]. Tapera: Lew, 2018. 268p.:il l;

SHIBATA, M.; COELHO, C. M. M.; STEINER, N. Physiological quality of *Araucaria angustifolia* seeds at different stages of development. **Seed Science & Technology**, v. 41, n. 2, p. 214-224, 2013.

SILVA, R. C. **Fontes inorgânicas de nitrogênio e óxido nítrico alteram a morfologia das raízes de espécies arbóreas neotropicais de diferentes grupos sucessionais**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

SILVEIRA, N. M., FRUNGILLO, L., MARCOS, F. C. C., PELEGRINO, M. T., MIRANDA, M. T., SEABRA, A., SALGADO, I., MACHADO, E. C., RIBEIRO, R. V. Exogenous nitric oxide improves sugarcane growth and photosynthesis under water deficit. **Planta**, 244 (1), 2016.

SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C.; TUN, N.N.; SCHERER, G.F.E.; HANDRO, W.; GUERRA, M.P.; FLOH, E.I.S. (2006) Polyamine effects on the endogenous polyamine contents, nitric oxide release, growth and differentiation of embryogenic suspension cultures of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. *Plant Science*, 171(1), 91-98.

STASKO, N. A.; FISCHER, T. H.; SCHOENFISCH, M. H. S-Nitrosothiol-Modified Dendrimers as Nitric Oxide Delivery Vehicles. **Biomacromolecules**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 834–841, 2008.

STUEPP, C. A. *et al.* Pruning management of mini-stumps for mass propagation of blueberry. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 56, 2021.

STUEPP, C. A. *et al.* Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 9, p. 985–1002, set. 2018.

SUN, C.; ZHANG, Y.; LIU, L.; LIU, X.; LI, B.; JIN, C.; LIN, X. Molecular functions of nitric oxide and its potential applications in horticultural crops. **Horticulture Research**, [s. l.], v. 8, n. 1, 2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

THOMAS, D. D.; RIDNOUR, L. A.; ISENBERG, J. S.; WILMARIE FLORES-SANTANA; SWITZER, C. H.; DONZELLI, S.; HUSSAIN, P.; VECOLI, C.; NAZARENO PAOLOCCI; AMBS, S.; COLTON, C. A.; HARRIS, C. C.; ROBERTS, D. D.; WINK, D. A. The chemical biology of nitric oxide: Implications in cellular signaling. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 18–31, 2008.

URRUTH, L. M. Certificação para o uso sustentável da flora nativa do Rio Grande do Sul. In: seminário sul-brasileiro sobre a sustentabilidade da araucária, 3., 2018, Passo Fundo. **Anais do 3º Seminário Sul-Brasileiro sobre a Sustentabilidade da Araucária** [online]. Tapera: Lew, 2018. p. 30–33.

VIBRANS, A. C., SEVEGNANI, L., GASPER, A. L., & LINGNER, D. V. (2013). **Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina – Espécies da Floresta com Araucária**. Blumenau: Edifurb. ISBN: 978-85-99410-15-5.

WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de *Araucaria angustifolia* para produção de madeira. **Embrapa Florestas**, Colombo, 2015.

WENDLING, I. *et al.* Clonal forestry of *Araucaria angustifolia*: plants produced by grafting and cuttings can be used for wood production. **Revista Árvore**, v. 41, n. 1, 1 nov. 2017.

WENDLING, I. *et al.* Efeito do regulador de crescimento AIB na propagação de clones de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 187-192, 2000.

WENDLING, I. *et al.* Propagação vegetativa de espécies florestais com ênfase na miniestaquia. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 34, n. 80, p. 287–302, 2014.

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

WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Vegetative rescue and cuttings propagation of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Revista Arvore**, v. 39, n. 1, p. 93–104, 1 fev. 2015.

WENDLING, I.; STUEPP, C. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Rooting of *Araucaria angustifolia*: types of cuttings and stock plants sex. *Revista Árvore*, v. 40, p. 1013-1021, 2016a.

WENDLING, I.; TRUZZI, H. F.; GROSSMANN, J. D.; KOHLER, A.; SOUZA, A. V. Propagação vegetativa de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze por miniestaquia. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 29, n. 58, p. 123–130, 2009.

WENDLING, I.; TRUZZI, H. F.; GROSSMANN, J. D.; XAVIER, A. Fatores que afetam a propagação vegetativa por miniestaquia em espécies florestais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 34, n. 80, p. 319–330, 2014.

WENDLING, I.; ZANETTE, F. **Araucária: particularidades, propagação e manejo de plantios**. [s.l.] Brasília, DF: Embrapa, 2017.

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

ZANETTE, F. *et al.* Particularidades e biologia reprodutiva de *Araucaria angustifolia*. In: WENDLING, I.; ZANETTE, F. (eds) **Araucária: particularidades, propagação e manejo de plantios**. Embrapa, Brasília, p.15–39, 2017.