

Competição entre acessos de *Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer
enxertados com atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) 'Thompson':
germinabilidade, fotossíntese e alcaloides

STEPHANE CATARINE ROSA KIM

BOTUCATU - SP
2023



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Competição entre acessos de *Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer enxertados com atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) ‘Thompson’: germinabilidade, fotossíntese e alcaloides

STEPHANE CATARINE ROSA KIM

PROF^a DR^a GISELA FERREIRA

Trabalho de conclusão de curso apresentado como exigência para conclusão do curso de Ciências Biológicas ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

BOTUCATU - SP
2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Kim, Stephane Catarine Rosa.

Competição entre acessos de *Annona emarginata* (Schltdt.)
H. Rainer enxertados com atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.)
'Thompson' : germinabilidade, fotossíntese e alcaloides /
Stephane Catarine Rosa Kim. - Botucatu, 2023

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências
Biológicas - Modalidade Bacharelado) - Universidade Estadual
Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências
de Botucatu

Orientador: Gisela Ferreira

Capes: 20303009

1. Anonácea. 2. Porta-enxertos. 3. Mudas - Qualidade.

Palavras-chave: *Annonaceae*; Porta-enxerto; Seleção de
acessos.



Competição entre acessos de *Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer enxertados com atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) ‘Thompson’: germinabilidade, fotossíntese e alcaloides

Stephane Catarine Rosa Kim ¹, Carolina Ovile Mimi ¹, Patrícia Luciana Carriel Corrêa ¹ and Gisela Ferreira ^{1*}

¹ Department of Biodiversity and Biostatistics, Institute of Biosciences, São Paulo State University (Unesp), Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin Street, 250, Botucatu 18618-689, SP, Brazil

* Correspondence: gisela.ferreira@unesp.br

Abstract: A família Annonaceae possui um considerável papel nas funções evolutiva, ecológica e econômica, além de grande importância devido ao seu potencial frutífero, medicinal e pela presença de constituintes provenientes do metabolismo, como os alcaloides. É conhecida por apresentar como forma de cultivo a enxertia, podendo ser propagada assexuadamente a partir de plantas superiores. A influência de porta-enxertos nas características da copa em annonáceas é bastante notável por promover um rápido crescimento, indução de características de interesse, tais como o vigor e boa produtividade. Deste modo, o objetivo deste estudo foi selecionar acessos de *Annona emarginata* que apresentem maior potencial reprodutivo, fotossintético e de produção de alcaloides visando maior qualidade das mudas enxertadas de atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) ‘Thompson’. Foram analisadas avaliações de germinação, teste de tetrazólio, trocas gasosas, fluorescência de clorofila *a* e quantificação de alcaloides. Os testes de germinação permitiram selecionar acessos 4 e 9, com maior germinabilidade. Através do teste de tetrazólio o acesso 6 se destacou com maior viabilidade. Nas análises de trocas gasosas o acesso 9 se destacou por apresentar maior taxa de assimilação de carbono, condutância estomática e taxa de respiração. Na fluorescência da clorofila *a* se destacaram os acessos 5 e 9. Os acessos com maior concentração de alcaloides totais nas raízes foram 4 e 5. A partir dos resultados podemos concluir que 4 é o candidato mais promissor para a enxertia de Atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) ‘Thompson’.

Keywords: *Annona*, seleção de acessos, porta-enxerto

Citation: To be added by editorial staff during production.

Academic Editor: Firstname Last-name

Received: date

Revised: date

Accepted: date

Published: date



Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

A família Annonaceae possui espécies de reconhecida importância devido a seu potencial frutífero como a atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.), e graviola (*Annona muricata* L.) [1] e medicinal, pela presença de compostos bioativos, como os alcaloides [2]. Os alcaloides são compostos nitrogenados produzidos no metabolismo especializado do vegetal, apresentam atividade antifúngica, antimicrobiana, antiprotozoaria, antiviral, entre outras [3,4]. Eles podem estar presentes em sementes, frutos, cascas e raízes. Deste modo, enquanto o metabolismo primário é fundamental a todos os vegetais, o metabolismo secundário ou especializado é restrito a espécies ou grupos de espécies, e com funções distintas, como defesa química ao ataque de patógenos, atração de polinizações, e proteção contra estresses abióticos [5,6].

A bioprospecção é importante tanto na busca de moléculas para a composição de fármacos, como ferramenta para encontrar porta-enxertos com maior tolerância a estresses bióticos e abióticos. Para a produção de mudas das Anonáceas comerciais é realizada a enxertia [7], e o grande desafio é encontrar porta-enxertos que apresentem características

fisiológicas que garantam a compatibilidade e produtividade da copa e, que sejam tolerantes aos estresses. Neste contexto, o araticum-de-terra-fria ([*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer' var. terra fria]), variedade terra-fria tem sido utilizada como porta-enxerto para atemoia devido a relatos de tolerância a podridão radicular, broca do tronco, solos secos e encharcados [8–10], além de se adaptar em diversas regiões do Brasil [11,12].

Estudos têm comprovado as hipóteses de que a *A. emarginata* apresenta características desejáveis como porta-enxerto, tais como o ajuste fotossintético durante a reidratação após estresse hídrico severo por seca [10], compatibilidade com a copa atemoia [13] e a produção de alcaloides e voláteis foliares [14]. Além disso, BARON et al. [13] relatam que as trocas gasosas de mudas de atemoia enxertadas em *A. emarginata* (terra-ria e mirim) e *A. mucosa* apresentaram efeito dos porta-enxertos, com alteração do vigor e da produtividade da copa, o que foi evidenciado pela eficiência dos fotossistemas I e II. Os resultados de Baron et al. [13] sugerem que uma das formas de seleção de espécies como porta-enxerto é avaliar a atividade fotossintética nas mudas enxertadas.

Cabe observar que no processo de produção de mudas de qualidade há necessidade de matrizes de elevada produtividade e capacidade de produção de sementes (quantidade e vigor), a fim de garantir tanto a qualidade dos porta-enxertos, como elevado número de plantas a serem enxertadas no viveiro. No entanto, em relação a produção de mudas de atemoia, a principal área do Estado de São Paulo possui cerca de 250 plantas de *A. emarginata* usadas como matrizes e que apresentam heterogeneidade principalmente em relação a germinabilidade das sementes, desenvolvimento e em relação às respostas ao ataque de patógenos. As sementes de *A. emarginata* apresentam dormência característica da família Annonaceae [15] que pode ser superada com reguladores [16], além de possuírem tolerância à dessecação, mas não ao armazenamento, o que impede o escalonamento da produção de mudas ao longo do ano.

Com base no exposto, a novidade deste trabalho está em avaliar nove acessos de *Annona emarginata* (selecionados empiricamente durante 10 anos pelos produtores) a fim de detectar aqueles com maior potencial reprodutivo (maior número de sementes e maior germinabilidade) e que sejam capazes de impactar a produtividade primária (fotossíntese) e a produção de alcalóides (diversidade e abundância) em mudas enxertadas com atemoia 'Thompson', visando indicar maior qualidade e substâncias relacionadas a tolerância a patógenos.

2. Materials and Methods

2.1. Material vegetal

As sementes foram obtidas de frutos de 10 (dez) acessos de *A. emarginata*, do Núcleo de Produção de Mudanças da CATI de São Bento do Sapucaí – SP. Estas foram extraídas manualmente da polpa, lavadas em água corrente e secas em temperatura ambiente e armazenadas em refrigerador a 4°C. As mudas de atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) 'Thompson' enxertadas em araticum de terra fria ([*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer' var. terra fria]), também foram obtidas na CATI de São Bento do Sapucaí – SP.

2.2. Teste de germinação

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 4 (quatro) repetições de 20 (vinte) sementes por tratamento. Os tratamentos serão constituídos pela imersão das sementes dos 10 (dez) acessos em duas soluções de embebição (500mg L⁻¹ de ácido giberélico GA3 e água deionizada) durante 36 horas [17]. Posteriormente as sementes serão imersas em solução de hipoclorito a 1% por cinco minutos para desinfestação. A semeadura será feita em rolos de papel de germinação, umedecidos com 2,5 vezes o peso em água destilada, sendo distribuídas sob duas folhas de papel e cobertas por mais uma folha de papel para germinação. Os rolos serão mantidos acondicionados em sacos plásticos transparentes em germinadores em condições alternadas de temperatura 20–30°C (claro/escuro) [18].

A cada dois dias, a partir do dia de instalação do experimento, foram realizadas as avaliações que mensuraram o índice de velocidade da germinação, o tempo médio de germinação, a frequência de germinação e a sincronicidade de germinação. Foram consideradas as sementes germinadas quando houve raiz primária em torno de 2mm de comprimento [19].

2.3. Teste de tetrazólio

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com o uso de 4 (quatro) repetições de 10 (dez) sementes por parcela para cada tratamento. As sementes foram embebidas em água por 24 horas, posteriormente cortadas longitudinalmente e imersas em solução de tetrazólio a 1% e posteriormente acondicionadas em gerbox (10 x 10 x 2cm), durante 6 horas sob temperatura de $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após o período de exposição, as sementes foram lavadas e mantidas submersas em água deionizada até o momento da análise, com auxílio de lupa para observação da cor e da integridade dos tecidos [20].

2.4. Trocas gasosas e fluorescência de clorofila a

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 (quatro) repetições de 5 (cinco) plantas por parcela para cada acesso. As trocas gasosas e a fluorescência da clorofila a foram avaliadas com equipamento de sistema aberto de fotossíntese e transpiração com analisador de gás CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha (Infra Red Gas Analyser, IRGA, modelo LI-6400, LI-COR), em dia ensolarado das 9:00 às 11:00h. O aparelho IRGA foi conduzido até a planta para o ajuste da "garra" ao limbo foliar possibilitando as medições de todas as repetições. O aparelho foi configurado para realizar avaliações das trocas gasosas na face abaxial do limbo foliar devido a maior presença de estômatos presentes [13].

Foram analisadas as seguintes variáveis: taxa de assimilação líquida de carbono (Anet, $\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$), taxa transpiratória (E, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{ s}^{-1}$), condutância estomática (gs, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{ s}^{-1}$) e concentração de carbono interno na câmara sub-estomática (Ci, $\mu\text{mol CO}_2\text{ mol de ar}^{-1}$). A taxa transpiratória (E), e a eficiência aparente de carboxilação (Anet/Ci), determinada pela relação entre taxa de assimilação líquida de carbono (Anet) e a concentração de carbono interno na câmara sub-estomática (Ci) [21].

A fluorescência de clorofila a foi mensurada utilizando o fluorômetro (LED-Array/PAM-Module3055-FL). usando o fluorômetro (LED-Array/PAM-Module3055-FL) foi fornecido um pulso de luz actínica de $4500\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ aplicado para a obtenção da Fm (fluorescência máxima adaptada ao escuro) e valores da Fo (fluorescência mínima adaptada ao escuro).

Por meio da Fm e Fo foram calculados o rendimento quântico máximo (Fv/Fm) [22], rendimento quântico efetivo do PSII [23], "quenching" fotoquímico (qL) [24], taxa de transporte de elétrons (ETR), considerando que 84% da luz seja absorvida pela clorofila, com 50% dos fótons ativando a clorofila do fotossistema II e 50% o fotossistema I, energia do fotossistema II que não pode ser dissipada (Ex) e energia dissipada na forma de calor (D) [25].

2.5. Quantificação de alcaloides totais

Foram avaliados extratos obtidos através de raiz e folhas de 4 (quatro) repetições de 5 (cinco) plantas de atemoia enxertada em 9 acessos de araticum-de-terra-fria. Para obtenção dos extratos dos alcaloides as raízes e folhas foram secas em estufa de aeração constante e temperatura de 30°C até obtenção de massa seca, e extraídas pelo método ácido-base. O conteúdo total de alcaloides será determinado por espectrofotometria a 254 nm, utilizando o alcaloide liriodenina para elaboração da curva padrão ($y = 0.0881x - 0.0112$, $R^2 = 0.9949$), visto que é um alcaloide majoritário em *A. emarginata* [4,14]

3. Results

3.1. Teste de germinação

Foi possível observar que a porcentagem (% G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Annona emarginata*, sob fatores de embebição em H₂O e GA₃ obtiveram uma variação significativa entre os acessos em função da embebição. Os acessos 4 e 9 apresentaram maior germinabilidade e menor tempo médio quando as sementes foram embebidas em GA₃, favorecendo a superação de dormência em semente de anonas.

Dentre as sementes obtidas pelos 10 acessos de *A. emarginata*, o teste de germinação demonstrou melhor resposta quando observamos os resultados dos acessos 4 e 9, atingindo valores de 33,75% e 11,75%, respectivamente, quando embebidas em H₂O e 45% e 23,75%, respectivamente, quando embebidas em GA₃ (Tabela 1). Diferindo do acesso 5, que obteve menor porcentagem de germinação (1,25%) nas duas condições de embebição e do acesso 6 que não obteve germinação (Tabela 1).

Tabela 1. Germinabilidade (Porcentagem de germinação (%G), Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de diferentes acessos de *Annona emarginata*, embebidas por 36 horas (H₂O ou GA₃) em temperatura alternada (20-30°C), com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

	% G		IVG	
	0 mg/L-1	500 mg/L-1	0 mg/L-1	500 mg/L-1
Acesso 1	3.750 ± 4.787 Ab ¹	5 ± 5.774 Ac	0.032 ± 0.041 Ab	0.047 ± 0.054 Ac
Acesso 2	11.250 ± 4.787 Ab	11.250 ± 6.292 Ac	0.087 ± 0.027 Ab	0.100 ± 0.060 Ac
Acesso 3	11.250 ± 2.500 Ab	10 ± 4.082 Ac	0.126 ± 0.077 Ab	0.119 ± 0.051 Ac
Acesso 4	33.750 ± 7.500 Ba	45 ± 6.292 Aa	0.320 ± 0.061 Ba	0.554 ± 0.056 Aa
Acesso 5	1.250 ± 2.500 Ab	1.250 ± 2.500 Ac	0.006 ± 0.014 Ab	0.036 ± 0.071 Ac
Acesso 6	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Ac	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Ac
Acesso 7	5 ± 0 Ab	7,500 ± 6.455 Ac	0.043 ± 0.016 Ab	0.082 ± 0.075 Ac
Acesso 8	2,500 ± 2.887 Ab	6,250 ± 6.292 Ac	0.015 ± 0.030 Ab	0.097 ± 0.101 Ac
Acesso 9	11,250 ± 2.500 Bb	23,750 ± 10.308 Ab	0.094 ± 0.044 Bb	0.292 ± 0.114 Ab
Acesso 10	8,750 ± 4.787 Ab	11,250 ± 9.465 Ac	0.089 ± 0.081 Ab	0.138 ± 0.115 Ac
Acesso	p < 0.001 ** ; F: 38.482		p < 0.001 ** ; F: 31.333	
GA ₃	p < 0.001 ** ; F: 7.800		p < 0.001 ** ; F: 20.753	
Acesso x GA ₃	p 0.1095 n.s ; F: 1.697		p < 0.001 ** ; F: 3.452	

¹ Os resultados são apresentados como valor médio ± desvio padrão. Os valores foram testados estatisticamente usando uma ANOVA de dois fatores. Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas comparando solução de embebição em cada acesso (linha), e minúsculas comparando os acessos em cada em cada solução de embebição (coluna), não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores de p e F (ANOVA) são indicados. Analisou a interação entre GA₃ x Sementes de diferentes acessos de *Annona emarginata*. n.s: não significativo (valor de p > 0,05); ** Significância de 1% (p-valor ≤ 0,01).

Em relação a Frequência e Sincronização, observa-se que as sementes dos acessos 4, apresentaram padrão de germinação semelhante nos dois tratamentos, com a maior % de germinação e menor sincronicidade. (Tabela 2). Em oposição ao acesso 1 sob fator de embebição em H₂O e o acesso 5 em GA₃. Por outro lado, os demais acessos apresentaram a germinação mais sincronizada, mais concentrada ao longo do tempo, e com o processo germinativo ocorrendo em menor velocidade. (Figura 1 e 2).

Tabela 2. Tempo médio de germinação – dias (TMG) e Sincronização (U) de sementes de diferentes acessos de *Annona emarginata*, embebidas por 36 horas (H₂O ou GA₃) em temperatura alternada (20-30°C), com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

	<u>TMG</u>		<u>U</u>	
	0 mg/L-1	500 mg/L-1	0 mg/L-1	500 mg/L-1
Acesso 1	11.625 ± 13.425 Aab ¹	10.875 ± 12.572 Aab	0.0526 ± 0.026 Aa	0.013 ± 0.026 Aa
Acesso 2	26 ± 5.256 Aa	25 ± 4.546 Aa	0.054 ± 0.039 Aab	0.039 ± 0.050 Aab
Acesso 3	23.625 ± 5.437 Aa	18.75 ± 4.924 Aab	0.026 ± 0.030 Aa	0.013 ± 0.027 Aa
Acesso 4	23,402 ± 0.452 Aa	17.204 ± 1.320 Aab	0.118 ± 0.016 Ab	0.107 ± 0,013 Ac
Acesso 5	9.250 ± 18.500 Aab	1.750 ± 3.500 Ab	0.013 ± 0.027 Aa	0 ± 0 Aa
Acesso 6	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Aa	0 ± 0 Aa
Acesso 7	25.750 ± 8.617 Aab	15.791 ± 11.375 Aab	0.013 ± 0.026 Aa	0.020 ± 0,025 Aab
Acesso 8	14 ± 18.903 Aab	14.250 ± 14.104 Aab	0 ± 0 Aa	0.026 ± 0.031 Aab
Acesso 9	27.041 ± 5.755 Aa	16.857 ± 3.073 Aab	0.046 ± 0.034 Aa	0.083 ± 0.049 Abc
Acesso 10	25.750 ± 7.632 Aa	16.700 ± 1.701 Aab	0.034 ± 0.041 Aa	0.020 ± 0.040 Aab
Acesso	p < 0.001 ** ; F: 0.434		p < 0.001 ** ; F: 11.601	
GA ₃	p 0.0187 ^{n.s} ; F: 5.846		p 0.8457 ^{n.s} ; F: 0.038	
Acesso x GA ₃	p 0.914 ^{n.s} ; F: 0.434		p 0.6066 ^{n.s} ; F: 0.813	

¹ Os resultados são apresentados como valor médio ± desvio padrão. Os valores foram testados estatisticamente usando uma ANOVA de dois fatores. Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas comparando solução de embebição em cada acesso (linha), e minúsculas comparando os acessos em cada em cada solução de embebição (coluna), não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores de p e F (ANOVA) são indicados. Analisou a interação entre Acesso x GA₃ de diferentes acessos de *Annona emarginata*. n.s: não significativo (valor de p > 0,05); ** Significância de 1% (p-valor ≤ 0,01).

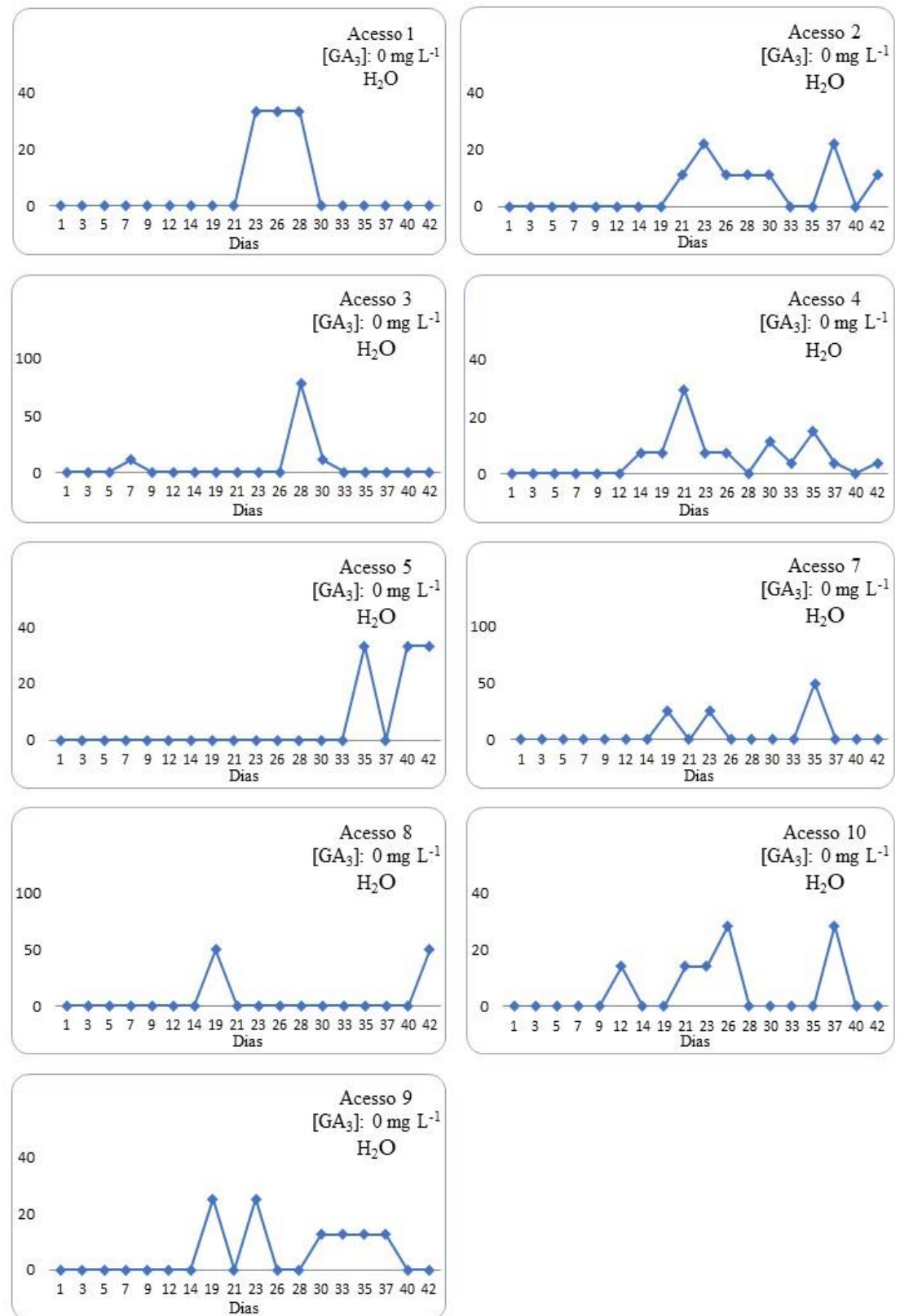


Figure 1. Frequência de sementes de diferentes acessos de *Annona emarginata*, embebidas por 36 horas (H₂O) em temperatura alternada (20-30°C), com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

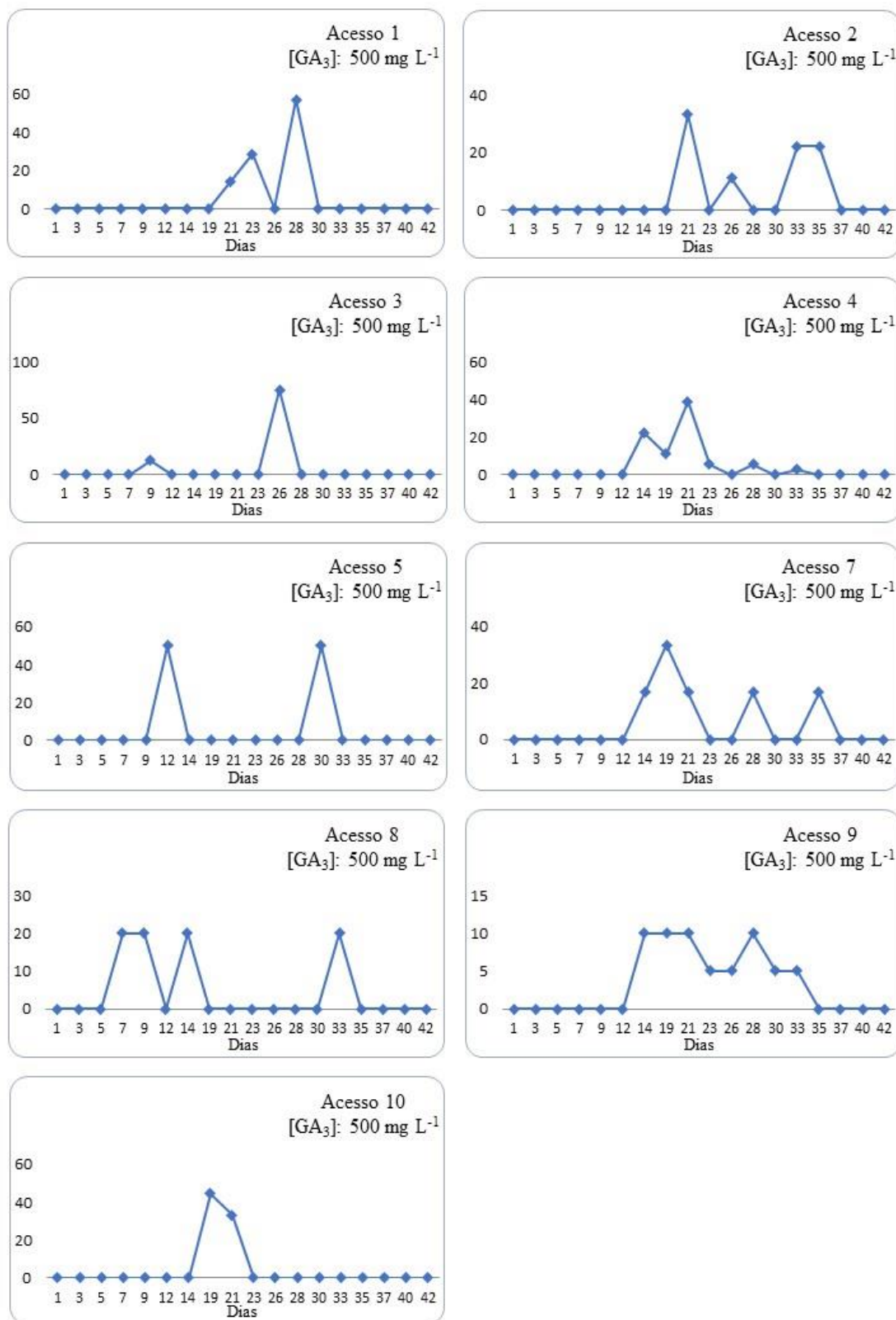


Figure 1. Frequência de sementes de diferentes acessos de *Annona emarginata*, embebidas por 36 horas (GA_3) em temperatura alternada ($20\text{-}30^\circ\text{C}$), com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro

3.2. Teste de tetrazólio

Em relação as sementes viáveis de sementes de *Annona emarginata*, sob fatores de embebição em H₂O não houve diferença significativa entre os acessos, mas em relação ao tratamento o acesso 6 obteve uma melhor resposta com 20,417% e o acesso 10 com a menor, com 1,316% (Tabela 3). Em contraste com a embebição de GA₃, o acesso 1 apresentou diferença significativa com os demais, entre o tratamento não houve variação.

Tabela 3. Média das percentagens de sementes viáveis e inviáveis, embebidas (H₂O e GA₃) por 36 horas e posteriormente, imersas em solução de tetrazólio a 1% durante 6 horas

	Viáveis		Inviáveis	
	0 mg/L-1	500 mg/L-1	0 mg/L-1	500 mg/L-1
Acesso 1	17,917 ± 5, 907 Aab ¹	2,859 ± 1,652 Ba	82,083 ± 5,907 Bb	97,141 ± 1,652 Aa
Acesso 2	9,666 ± 1,489 Aabc	3,056 ± 1,779 Aa	90,334 ± 1,489 Ab	96,944 ± 1,779 Aa
Acesso 3	11,250 ± 3,750 Aabc	5,637 ± 2,270 Aa	88,750 ± 3,750 Aab	94,363 ± 2,270 Aa
Acesso 4	9,776 ± 4,821 Aabc	1,923 ± 1,923 Aa	90,224 ± 4,821 Aab	98,077 ± 1,923 Aa
Acesso 5	10, 687 ± 4,060 Aabc	1,250 ± 1,250 Aa	89,313 ± 4,060 Aab	98,750 ± 1,250 Aa
Acesso 6	20,417 ± 1,718 Aa	8,750 ± 4,270 Ba	79,583 ± 1,718 Bab	91,250 ± 4,270 Aa
Acesso 7	6,579 ± 2,520 Aabc	8,073 ± 2,716 Aa	93,421 ± 2,520 Aab	90,677 ± 3,248 Aa
Acesso 8	3,955 ± 1,323 bc	6,944 ± 3,495 Aa	96,045 ± 1,323 Aab	93,056 ± 3,495 Aa
Acesso 9	10,819 ± 5,022 Aabc	9,896 ± 7,950 Aa	89,181 ± 5,022 Aab	90,104 ± 7,950 Aa
Acesso 10	1,316 ± 1,316 Ac	8,611 ± 1,461 Aa	98,684 ± 1,316 Aa	91,389 ± 1,461 Aa
Acesso	<i>p</i> 0.1783 ^{n.s} ; F: 1.475		<i>p</i> 0.1886 ^{n.s} ; F: 1.448	
GA ₃	<i>p</i> 0.0055 ^{n.s} ; F: 8.291		<i>p</i> 0.0072 ^{n.s} ; F: 7.742	
Acesso x GA ₃	<i>p</i> 0.0543 ^{n.s} ; F: 2.004		<i>p</i> 0.0486 ^{n.s} ; F: 2.052	

¹ Os resultados são apresentados como valor médio ± desvio padrão. Os valores foram testados estatisticamente usando uma ANOVA de dois fatores. Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas comparando solução de embebição em cada acesso (linha), e minúsculas comparando os acessos em cada em cada solução de embebição (coluna), não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores de *p* e F (ANOVA) são indicados. Analisou a interação entre Acesso x GA₃ de diferentes acessos de *Annona emarginata*. n.s: não significativo (valor de *p* > 0,05); ** Significância de 1% (*p*-valor ≤ 0,01).

As sementes inviáveis quando embebidas em H₂O apresentaram diferença significativa entre os acessos, demonstrando que o acesso 1 obteve uma menor resposta. Já quando observamos com uso do regulador GA₃, o acesso 10 obteve um maior percentual de semente inviáveis com valor de 98,684%. Os resultados referentes as sementes inviáveis em GA₃ entre os acessos não obtiveram diferença significativa.

3.3. Trocas gasosas

Ao analisar os resultados, verificou-se que os acesso 9 apresentou a maior taxa de assimilação de carbono (*A_{net}*), condutância estomática (gs) e taxa de transpiração (E) (Figura 3). O acesso 3 demonstrou possuir uma maior eficiência de concentração intercelular

de CO₂ (*C_i*) e menor eficiência no uso d'água (EUA) (Figura 3). Não houve diferença significativa em relação a carboxilação da enzima Rubisco entre os acessos.

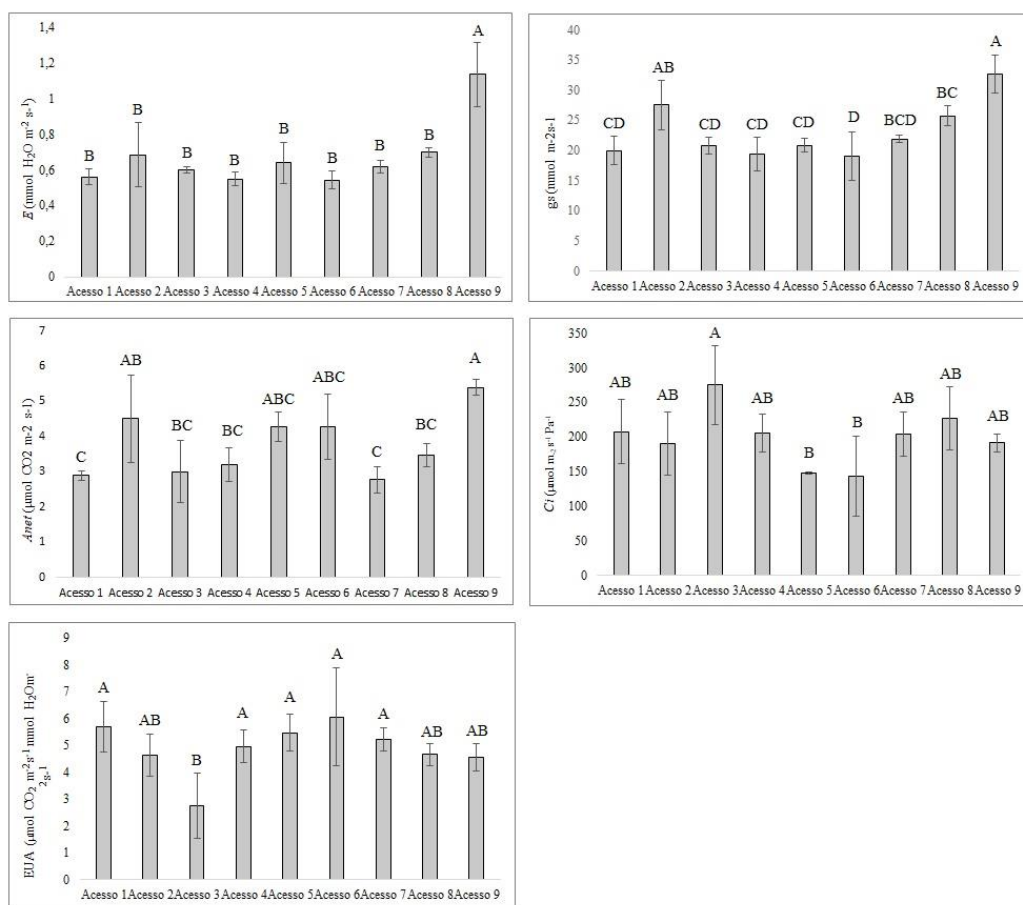


Figura 3. Taxa de assimilação de carbono (A_{net}), concentração intercelular de CO₂ (C_i), eficiência do uso da água (EUA), condutância estomática (gs) e transpiração (E) em plantas de *Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer enxertados com atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) ‘Thompson’. Taxa de assimilação de carbono (A_{net}): Tratamento $p < 0.001/f = 7.209$. Repetição $p = 0.574/f = 0.678$. Concentração intercelular de CO₂ (C_i): Tratamento $p = 0.055/f = 6.346$. Repetição $p = 0.572/f = 0.681$. Eficiência do uso da água (EUA): Tratamento $p = 0.001/f = 4.902$. Repetição $p = 0.094/f = 2.392$. Condutância estomática (gs): Tratamento $p < 0.001/f = 11.920$. Repetição $p = 0,550/f = 0,719$. Transpiração: $p < 0.001/f = 13.607$. Repetição $p = 4.77/f = 0.856$. Médias seguidas de letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (acessos) ($p < 0,05$).

Em relação a fluorescência foliar adaptada a condição de escuro (F_m) e a fluorescência mínima da folha adaptada ao escuro (F_o) apresentaram maiores valores para o acesso 1 e 2, ainda na primeira variável inclui o acesso 8 (Figura 4). Não houve diferença significativa no rendimento quântico máximo (F_v/F_m) entre os tratamentos (acessos).

Considerando os valores da taxa de transporte de elétrons, os acessos 4, 5 e 9, se destacaram. O acesso 5 obteve maiores resultados em rendimento quântico efetivo (Φ_{FSII}), seguidos dos acessos 9 e 4. Os dados de “quenching” não fotoquímico (q_L), (Ex) e (D) não diferiram estatisticamente entre os tratamentos (acessos).

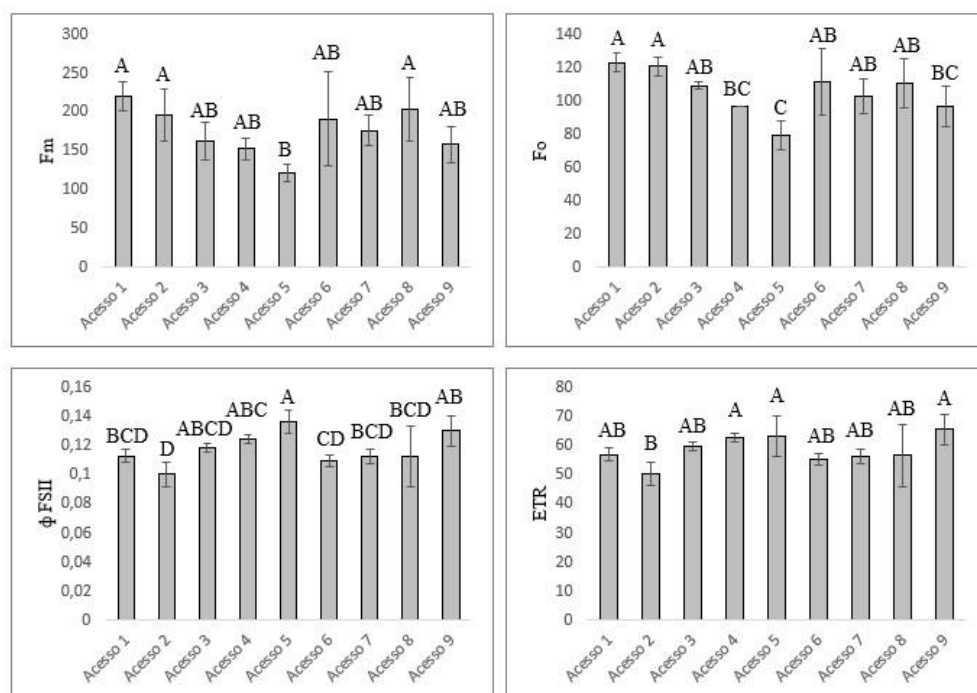


Figura 4. Fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_m), Fluorescência mínima adaptada ao escuro (F_o), Rendimento quântico efetivo (φFSII), Taxa de elétrons (ETR) em plantas de *Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer enxertados com atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) ‘Thompson’. Fluorescência máxima adaptada ao escuro (F_m): Tratamento p = 0.003/f = 4.152. Repetição p = 0.200/ f = 1.671. Fluorescência mínima adaptada ao escuro (F_o): Tratamento p < 0.001/f = 7.889. Repetição p = 0.071/ f = 2.659 F_v/F_m: Tratamento p = 0.099 /f = 1.946. Repetição p = 0.737/ f = 0.425. Rendimento quântico efetivo (φFSII), Tratamento p < 0.001/f = 7.535. Repetição p = 0.033/ f = 3.424. Taxa de elétrons (ETR): Tratamento p = 0.002/f = 4.656. Repetição p = 0.022/ f = 3.859. (qL): Tratamento p = 0.062/f = 2.230. Repetição p = 0.538/ f = 0.741. (Ex): Tratamento p = 0.079/f = 2.079. Repetição p = 0.570/ f = 0.684. (D): Tratamento p = 0,332/f = 1,215. Repetição p = 0.778/ f = 0.336. Médias seguidas de letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (acessos) (p < 0,05).

3.3. Quantificação de alcaloides

Os resultados demonstram que as raízes apresentaram valores significativos em relação a quantificação dos alcaloides totais entre os acessos. Raízes dos acessos 4 e 5, atingindo valores de 955.480 e 961.393 respectivamente, apresentaram maiores concentrações de alcaloides totais, enquanto os acessos 1, 6 e 8 apresentaram menor concentração (Tabela 4). Os dados referentes aos alcaloides totais de folhas entre os acessos não obtiveram diferença significativa (Tabela 4).

Tabela 4. Concentração de alcaloides totais (µg g⁻¹ massa seca) em folhas e raízes de diferentes acessos de *Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer morfotipo ‘terra-fria’ enxertados com atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) ‘Thompson’.

Extratos Alcaloídicos	Concentração de Alcaloides Totais	
	Folha	Raíz
Acesso 1	31.025 ± 6.692 Ba ¹	587.022 ± 14.328 Ac
Acesso 2	24.3301 ± 4.815 Ba	671.640 ± 44.596 Abc

Acesso 3	30.930 ± 5.921 Ba	847.454 ± 294.326 Aab
Acesso 4	34.113 ± 5.030 Ba	955.480 ± 42.448 Aa
Acesso 5	42.816 ± 7.844 Ba	961.393 ± 99.663 Aa
Acesso 6	37.304 ± 4.786 Ba	603.560 ± 40.761 Ac
Acesso 7	41.490 ± 9.261 Ba	753.035 ± 190.424 Aabc
Acesso 8	30.540 ± 2.464 Ba	549.183 ± 96.253 Ac
Acesso 9	30.058 ± 5.952 Ba	652.994 ± 53.434 Abc
Acesso $p < 0.001$ **, F: 6.111	Orgão $p < 0.001$ **, F: 1048.819	Acesso x Orgão $p < 0.001$ **, F: 5.706

¹ Os resultados são apresentados como valor médio ± desvio padrão. Os valores foram testados estatisticamente usando uma ANOVA de dois fatores. Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas comparando concentração de alcaloides totais em cada órgão (linha), e minúsculas comparando a concentração de alcaloides totais em cada órgão (coluna), não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores de p e F (ANOVA) são indicados. Analisou a interação entre Acesso x Orgão de diferentes acessos de *Annona emarginata*. n.s: não significativo (valor de $p > 0,05$); ** Significância de 1% (p -valor $\leq 0,01$). Os resultados são apresentados como valor médio ± desvio padrão.

4. Discussion

O uso de giberelina na família Annonaceae é comum para superação de dormência fisiológica [26] e alteração do balanço hormonal entre o ácido abscísico e as giberelinas, degradando as reservas que liberam energia ao embrião e paredes celulares do endosperma [27], propiciando o desenvolvimento e a germinação do embrião [28].

O efeito promotor da giberelina em sementes de *A. emarginata* estão de acordo com o observado para outras espécies da família Annonaceae, tais como os trabalhos de Braga et al. [26] com atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L) e Mimi et al. [29] com sementes de atemoia 'Thompson' (*Annona* x *atemoya* Mabb.). O efeito se deve a alteração do balanço hormonal entre o ácido abscísico e as giberelinas, há degradação de reservas e liberação de energia ao embrião e paredes celulares do endosperma [27], propiciando o desenvolvimento e a germinação [28].

No entanto, este lote de sementes de *A. emarginata* apresentou baixa germinação em relação ao observado em outros experimentos. A máxima porcentagem de germinação deste experimento foi de 45% com uso de GA₃ em 500 mg L⁻¹, diferindo do resultado avaliado por Mimi et al. [29] atingindo 75,75% e Braga et al. [26], com 58,5%, ambas com sementes de atemoia nas mesmas condições de tratamento.

Embora com baixa porcentagem de germinação, foi possível verificar que alguns acessos ainda apresentaram maior germinabilidade que os demais. Dessa forma, podemos relatar que os acessos 4 e 9, com uso de regulador demonstraram maior germinabilidade, o que pode favorecer a escolha das plantas matrizes para a extração de sementes e produção dos porta-enxertos para copa de *Annona* x *atemoya* Mabb.

A avaliação de tetrazólio é eficiente para analisar sementes vivas de um lote, pois os tratamentos para superação de dormência, podem não ser eficientes para todas as sementes [30] Dados viabilidade foram demonstrados em estudo realizado por Gimenez et al. [20] e nas mesmas condições utilizadas atingiram 27% de sementes inviáveis em atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.)

No entanto, os valores de sementes inviáveis nas duas condições de embebição foram altos, chegando a 98,684 em H₂O e 98,750 em GA₃, o que pode estar associado com a baixa taxa de germinação. Dessa forma, novos testes deverão ser feitos com esses acessos as fim

de encontrar as razões pelas quais estas sementes apresentaram tão baixa germinabilidade e elevada porcentagem de sementes inviáveis.

As trocas gasosas em plantas enxertadas apresentam influência pelo porta-enxerto [31,32], podendo modificar produtividade, vigor e a eficiência do fotossistema II [33,34]. As análises das trocas gasosas nesse estudo demonstram que o acesso 9 apresentou alto gs, tal condição é alta dependendo do uso do carbono interno (Ci), permitindo a abertura estomática e o acesso do gradiente químico de CO₂ se mantenha, assegurando a entrada na folha e por sua vez, afetando A_{net} , gs e E [13].

Um estudo semelhante realizado por Baron et al. 2018 com atemóia enxertados em porta-enxertos de *Annona* demonstrou que a enxertia influencia o metabolismo fotossintético, resultando em maior afinidade ao substrato (CO₂), aumentando a sua assimilação.

A assimilação de carbono encontrada neste estudo variou de 2,74 a 5,38 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, possuindo menores taxas fotossintéticas, típicas de plantas com metabolismo 'C3', (DOUBNEROVÁ; RYSLAVÁ, 2011). Os A observados foram semelhantes aos mostrados por Sousa et al. [35] em *Annona emarginata* com uso de reguladores de crescimento vegetal, que apresentaram valores entre 3,36 a 6 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Em relação a taxa de transporte de elétrons (ETR) os resultados correspondem a indicativo de fotossíntese, demonstrados nos acessos 5 e 9, seguido do acesso 4. Estes estão sendo refletidos nos valores do rendimento quântico efetivo o que correspondem a fração de energia que é fotoquimicamente convertida [36].

No estudo de Honório et al 2021, foi observado maiores valores no rendimento quântico efetivo nas condições de capacidade de campo e seca. No entanto, quanto a produção de alcaloides a condição de seca apresentou maior síntese, em relação a alagadas e capacidade de campo.

A quantificação de alcaloides totais demonstrou que as raízes apresentaram maiores valores do que as folhas em relação a quantificação dos alcaloides totais entre os acessos. Estes dados estão de acordo com o observado na literatura, as raízes são o principal órgão de produção de alcaloides em plantas do gênero *Annona* [4,37] esses se destacam por possuir múltiplas atividades biológicas [38].

As raízes das plantas enxertadas apresentaram concentrações de alcaloides maiores do que as plantas de *Annona emarginata* morfotipo 'terra fria' sem enxertia com concentração em 490.56 $\mu\text{g g}^{-1}$ coletadas em São José dos Campos e 458.94 $\mu\text{g g}^{-1}$ coletadas em São Bento do Sapucaí, avaliadas por Mimi et al. [14], assim como de outras espécies também sem enxertos, como *Annona purpurea* com concentração de 859.3 $\mu\text{g g}^{-1}$ considerada por De la Cruz-Chacón et al. [4].

Cabe ressaltar que as folhas são de atemoia, copa enxertada nos diferentes acessos. E, se não houve diferença na concentração de alcaloides nas folhas, o que denota que as diferentes concentrações produzidas pelas raízes dos acessos não foram translocadas para a parte aérea.

Em resumo, os testes de germinação obtiveram melhores repostas com os acessos 4 e 9, obtendo maiores percentuais de germinabilidade. Nas análises de trocas gasosas o acesso 9 se destacou por apresentar maior taxa de assimilação de carbono, condutância estomática e taxa de respiração, devido ao uso do carbono interno. Em relação a fluorescência da clorofila *a* se destacaram os acessos 5 e 9, seguido do acesso 4 como intermediário, correspondendo a um indicativo de fotossíntese. Os acessos com maior concentração de alcaloides totais nas raízes foram 4 e 5.

5. Conclusions

Dessa forma, podemos concluir que 4 apesar de não ter demonstrado melhores resultados como potencial fotossintético, apresentou um melhor potencial germinativo e na produção de alcaloides. Demonstrando-se o acesso mais desejável como uma ferramenta estratégica em função das exigências do mercado consumidor por sementes com maior desempenho germinativo. Além de apresentar alta concentração de alcaloides totais,

promovendo tolerância a estresses bióticos e abióticos. Portanto, é o candidato mais promissor para a enxertia de Atemoia (*Annona x atemoya* Mabb.) ‘Thompson’.

Author Contributions:

S.C.R.K.: Conceptualization, data collection, data curation, formal analysis, investigation, methodology, writing—original draft, writing—review and editing. C.O.M.: Data collection, data curation, formal analysis, investigation, methodology. P.L.C.C.: Investigation, methodology. G.F.: Conceptualization, data curation, validation, investigation, methodology, resources, writing—original draft, writing—review and editing, supervision. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (140073/2022-1)

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Takahashi, L. M. Identificação de Colletotrichum Gloeosporioides de Atemóia (Annona Cherimola x Annona Squamosa), Por Meio de Caracterização Patogênica, Cultural e Morfológica., Universidade Estadual Paulista (Unesp), 2008.
2. Carvalho Dos Santos R.; Alves Chagas E.; Melo Filho A.A.; Takahashi J.A.; Montero Fernandez I.; Cardoso Chagas P.; Estevam Ribeiro P.R.; Goncalves Reis De Melo A.C. Bioactive Extracts from Annona Hypoglauca. *Chemical Engineering Transactions* **2018**, *64*, 289–294, doi:10.3303/CET1864049.
3. Lúcio, A.S.S.C.; Almeida, J.R.G. da S.; da-Cunha, E.V.L.; Tavares, J.F.; Barbosa Filho, J.M. Chapter Five - Alkaloids of the Annonaceae: Occurrence and a Compilation of Their Biological Activities. In *The Alkaloids: Chemistry and Biology*; Knölker, H.-J., Ed.; Academic Press, 2015; Vol. 74, pp. 233–409.
4. De-la-Cruz-Chacón, I.; González-Esquinca, A.R. Liriodenine Alkaloid in Annona Diversifolia during Early Development. *Nat Prod Res* **2012**, *26*, 42–49, doi:10.1080/14786419.2010.533373.
5. Stevenson, P.C.; Nicolson, S.W.; Wright, G.A. Plant Secondary Metabolites in Nectar: Impacts on Pollinators and Ecological Functions. *Functional Ecology* **2017**, *31*, 65–75, doi:10.1111/1365-2435.12761.
6. Verpoorte, R *Secondary Metabolism. In: Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*;
7. Ferreira, G.; De-La-Cruz-Chacón, I.; Boaro, C.S.F.; Baron, D.; Lemos, E.E.P. de Propagation of Annonaceous Plants. *Rev. Bras. Frutic.* **2019**, *41*, e, doi:10.1590/0100-29452019500.
8. Tokunaga, T. *A Cultura Da Atemóia.*; (CATI. Boletim Técnico, 233).; 2000;
9. Scaloppi Junior, Erivaldo José Propagação de Espécies de Annonaceae Com Estacas Caulinares., Universidade Estadual Paulista (Unesp), 2007.
10. Mantoan, L.P.B.; Rolim de Almeida, L.F.; Macedo, A.C.; Ferreira, G.; Boaro, C.S.F. Photosynthetic Adjustment after Rehydration in Annona Emarginata. *Acta Physiol Plant* **2016**, *38*, 157, doi:10.1007/s11738-016-2171-1.
11. Yamada, M.; Hidaka, T.; Fukamachi, H. Heat Tolerance in Leaves of Tropical Fruit Crops as Measured by Chlorophyll Fluorescence. *Scientia Horticulturae* **1996**, *67*, 39–48, doi:10.1016/S0304-4238(96)00931-4.
12. NÚÑEZ-ELISEA, R.; SCHAFFER, B.; FISHER, J.B.; COLLS, A.M.; CRANE, J.H. Influence of Flooding on Net CO₂ Assimilation, Growth and Stem Anatomy of Annona Species. *Annals of Botany* **1999**, *84*, 771–780, doi:10.1006/anbo.1999.0977.
13. Baron, D.; Ferreira, G.; Rodrigues, J.D.; Macedo, A.C.; Amaro, A.C.E. Gas Exchanges in Annonaceae Species under Different Crop Protections. *Rev. Bras. Frutic.* **2014**, *36*, 243–250, doi:10.1590/S0100-29452014000500028.
14. Ovíle Mimi, C.; De-la-Cruz-Chacón, I.; Caixeta Sousa, M.; Aparecida Ribeiro Vieira, M.; Ortiz Mayo Marques, M.; Ferreira, G.; Silvia Fernandes Boaro, C. Chemophenetics as a Tool for Distinguishing Morphotypes of Annona Emarginata (Schltdl.) H. Rainer. *Chemistry & Biodiversity* **2021**, *18*, e2100544, doi:10.1002/cbdv.202100544.
15. De Smet, S.; Van Damme, P.; Scheldeman, X.; Romero, J. SEED STRUCTURE AND GERMINATION OF CHERIMOYA (ANNONA CHERIMOLA MILL.). *Acta Hort.* **1999**, 269–288, doi:10.17660/ActaHortic.1999.497.14.
16. Costa, P.N.; Bueno, S.S.C.; Ferreira, G. Fases da germinação de sementes de Annona emarginata (Schltdl.) H. Rainer em diferentes temperaturas. *Rev. Bras. Frutic.* **2011**, *33*, 253–260, doi:10.1590/S0100-29452011005000025.
17. Oliveira, M.C. de; Ferreira, G.; Guimarães, V.F.; Dias, G.B. Germinação de sementes de atemoia (Annona Cherimola Mill. x A. squamosa L.) cv “Gefner” submetidas a tratamentos com ácido Giberélico (GA₃) e ethephon. *Rev. Bras. Frutic.* **2010**, *32*, 544–554, doi:10.1590/S0100-29452010005000062.
18. Popinigis, F. *Fisiologia Da Semente*; AGIPLAN: Brasília, 1977;
19. Hadas, A. Water Uptake and Germination of Leguminous Seeds Under Changing External Water Potential in Osmotic Solutions. *Journal of Experimental Botany* **1976**, *27*, 480–489.
20. Gimenez, J.I.; Ferreira, G.; Cavariani, C. Tetrazolium Test for Assessment of Seed Viability of Atemoya (Annona Cherimola Mill. x A. Squamosa L.). *J. Seed Sci.* **2014**, *36*, 357–361, doi:10.1590/2317-1545v36n31004.

21. Farquhar, G.D.; Sharkey, T.D. Stomatal Conductance and Photosynthesis. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* **1982**, *33*, 317–345, doi:10.1146/annurev.pp.33.060182.001533. 437
438
22. Kitajima, M.; Butler, W.L. Quenching of Chlorophyll Fluorescence and Primary Photochemistry in Chloroplasts by Dibromothymoquinone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1975**, *376*, 105–115, doi:10.1016/0005-2728(75)90209-1. 439
440
23. Genty, B.; Briantais, J.-M.; Baker, N.R. The Relationship between the Quantum Yield of Photosynthetic Electron Transport and Quenching of Chlorophyll Fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **1989**, *990*, 87–92, doi:10.1016/S0304-4165(89)80016-9. 441
442
443
24. Schreiber, U.; Schliwa, U.; Bilger, W. Continuous Recording of Photochemical and Non-Photochemical Chlorophyll Fluorescence Quenching with a New Type of Modulation Fluorometer. *Photosynth Res* **1986**, *10*, 51–62, doi:10.1007/BF00024185. 444
445
25. Demmig-Adams, B.; Adams III, W.W.; Barker, D.H.; Logan, B.A.; Bowling, D.R.; Verhoeven, A.S. Using Chlorophyll Fluorescence to Assess the Fraction of Absorbed Light Allocated to Thermal Dissipation of Excess Excitation. *Physiologia Plantarum* **1996**, *98*, 253–264, doi:10.1034/j.1399-3054.1996.980206.x. 446
447
448
26. Braga, J.F.; Ferreira, G.; Pinho, S.Z.D.; Braga, L.; Sousa, M.P. GERMINATION OF ATEMOYA (*Annona Cherimola* Mill. x *A. Squamosa* L.) CV. GEFNER SEEDS SUBJECTED TO TREATMENTS WITH PLANT GROWTH REGULATORS.; 2010. 449
450
27. Nonogaki, H.; Bassel, G.W.; Bewley, J.D. Germination—Still a Mystery. *Plant Science* **2010**, *179*, 574–581, doi:10.1016/j.plantsci.2010.02.010. 451
452
28. Ferreira, G.; De-la-Cruz-Chacón, I.; González-Esquinca, A.R. Changes in Hormonal Balance as Key to Reserve Degradation after Dormancy Overcoming in *Annona Macrophyllata* and *Annona Purpurea* Seeds. *Rev. Bras. Frutic.* **2020**, *42*, e, doi:10.1590/0100-29452020664. 453
454
455
29. Mimi, C.O.; Sousa, M.C.; Corrêa, P.L.C.; De-la-Cruz-Chacón, I.; Boaro, C.S.F.; Ferreira, G. Impact of GA₃ on Sugar and Lipid Degradation during *Annona* x *Atemoya* Mabb. Seed Germination. *Horticulturae* **2023**, *9*, 388, doi:10.3390/horticulturae9030388. 456
457
30. França-Neto, J. de B.; Krzyzanowski, F.C. Tetrazolium: An Important Test for Physiological Seed Quality Evaluation. *J. Seed Sci.* **2019**, *41*, 359–366, doi:10.1590/2317-1545v41n3223104. 458
459
31. Grafting Cucumber Plants Enhance Tolerance to Sodium Chloride and Sulfate Salinization. *Scientia Horticulturae* **2012**, *135*, 177–185, doi:10.1016/j.scienta.2011.11.023. 460
461
32. Initial Vegetative Growth and Graft Region Anatomy of Yellow Passion Fruit on *Passiflora* Spp. Rootstocks. *Scientia Horticulturae* **2017**, *215*, 134–141, doi:10.1016/j.scienta.2016.12.001. 462
463
33. N, Z.; Mi, W.; Ht, W.; Xz, A. [Effects of Grafting on Photosynthesis of Sweet Pepper Seedlings under Low Temperature and Weak Light Intensity]. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao* **2009**, *20*, 591–596. 464
465
34. Effects of Rootstock and Scion on Graft Success and Vegetative Parameters of Pomegranate. *Scientia Horticulturae* **2017**, *214*, 280–287, doi:10.1016/j.scienta.2016.11.047. 466
467
35. Sousa, M.C.; De-la-Cruz-Chacón, I.; Campos, F.G.; Vieira, M.A.R.; Corrêa, P.L.C.; Marques, M.O.M.; Boaro, C.S.F.; Ferreira, G. Plant Growth Regulators Induce Differential Responses on Primary and Specialized Metabolism of *Annona Emarginata* (*Annonaceae*). *Industrial Crops and Products* **2022**, *189*, 115789, doi:10.1016/j.indcrop.2022.115789. 468
469
470
36. Azevedo Neto, A.D. de; Pereira, P.P.A.; Costa, D.P.; Santos, A.C.C. dos Fluorescência da clorofila como uma ferramenta possível para seleção de tolerância à salinidade em girassol. *Rev. Ciênc. Agron.* **2011**, *42*, 893–897, doi:10.1590/S1806-66902011000400010. 471
472
37. GHORBANPOUR, M.; HATAMI, M.; KHAVAZI, K. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Antioxidant Enzyme Activities and Tropane Alkaloid Production of *Hyoscyamus Niger* under Water Deficit Stress. *Turkish Journal of Biology* **2013**, *37*, 350–360, doi:10.3906/biy-1209-12. 473
474
475
38. Debnath, B.; Singh, W.S.; Das, M.; Goswami, S.; Singh, M.K.; Maiti, D.; Manna, K. Role of Plant Alkaloids on Human Health: A Review of Biological Activities. *Materials Today Chemistry* **2018**, *9*, 56–72, doi:10.1016/j.mtchem.2018.05.001. 476
477
478