

LEONEL NEVES DO CANTO MELLO

**MICROPROPAGAÇÃO DE *Dalbergia nigra* (Fr. Allem)
A PARTIR DE SEMENTES GERMINADAS "IN VITRO"**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau e título de Mestre em Ciências Florestais.

CURITIBA
1996

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

P A R E C E R

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado, apresentada pelo candidato **LEONEL NEVES DO CANTO MELLO**, sob o título "**MICROPROPAGAÇÃO DE *Dalbergia nigra* (Fr. Allem) A PARTIR DE SEMENTES GERMINADAS "IN VITRO"**", para obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Florestais, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Área de Concentração **SILVICULTURA**.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido o candidato são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Dissertação, com média final: (*8,5*), correspondente ao conceito: (*A*).

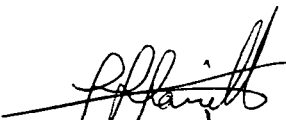
Curitiba, 19 de abril de 1996



Pesq. Dr. Ricardo Penchel
Primeiro Examinador
ARACRUZ



Pesq^a. Dr^a. Maria Elisa Cortezzi Graça
Segunda Examinadora
EMBRAPA



Prof. Dr. Flávio Zanette
Orientador e Presidente da Banca
UFPR



AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Flavio Zanette, pela orientação e valiosas sugestões na realização deste trabalho.

À pesquisadora do CNPF/EMBRAPA, Dra. Maria Elisa Cortezzi Graça, pela inestimável contribuição, co-orientação e estímulo.

Ao pesquisador da Aracruz Florestal S.A., Dr. Ricardo Penchel pela indispensável colaboração, co-orientação.

Ao curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Florestas (CNPQ/EMBRAPA), pelo apoio técnico prestado.

Ao Departamento de Filotecnia e Fitossanitarismo da UFPR, na pessoa do Prof. Dr. Flavio Zanette, pela cessão do Laboratório e de materiais para realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão de bolsa de estudo.

A Empresa Aracruz Florestal pelo apoio técnico, colaboração e doação das sementes de Jacarandá da Bahia.

À minha esposa pela incrível companhia nos difíceis momentos que aconteceram durante a realização desse trabalho.

À meus pais pela atenção dedicada.

A meu avô pelo apoio, financeiro, sem o qual seria impossível realizar o trabalho.

Aos amigos Luciana, Maurício, Joel pela companhia e apoio.

Aos funcionários do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR.

Às bibliotecárias do setor de Ciências Agrárias da UFPR, da EMBRAPA e do Dr. Ricardo Penchel pela disponibilidade na busca de material bibliográfico.

À meu filho Matheus que trouxe mais estímulo e esperança para a conclusão do trabalho.

À Pratic Informática, na pessoa de Lena, pela ajuda prestada.

À todos que de alguma forma apoiaram na realização deste trabalho.

A Luz sublime que vem do alto iluminando os meus caminhos e me dando força para trabalhar com dignidade e humildade, fazendo da inteligência que me foi concedida um instrumento para crescer, aprender e ensinar.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	x
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 RESULTADOS DE ESTUDOS SILVICULTURAIS COM <i>Dalbergia nigra</i>	6
2.2 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA	7
2.2.1 Morfogênese	7
2.2.2 Reguladores de Crescimento	8
2.2.3 Cultura "in vitro" e organogênese	9
2.2.4 Micropropagação	10
2.3 CULTIVO "IN VITRO" DO GÊNERO <i>Dalbergia sp.</i>	14
2.3.1 Micropropagação em <i>Dalbergia sp.</i>	14
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 MATERIAL VEGETAL	19
3.2 FONTE DE EXPLANTES	19
3.2.1 Plântulas Obtidas de Sementes Germinadas "in vitro" ..	20
3.2.2 Mudras de 10 Meses Mantidas em Casa de Vegetação Medindo Aproximadamente 80 cm de Comprimento	20
3.3 DESINFESTAÇÃO	20
3.3.1 Sementes	20
3.3.2 Segmentos Nodais Provindos da Casa de Vegetação ..	20
3.4 MEIOS DE CULTURA, CONDIÇÕES AMBIENTAIS E RECIPIENTES	21
3.4.1 Germinação	21
3.4.2 Isolamento dos Explantes Provindos da Casa de Vegetação	21
3.4.3 Multiplicação	22
3.4.4 Alongamento	22
3.4.5 Enraizamento	23
3.4.6 Transferência Para o Solo	24
3.5 AVALIAÇÃO	24
3.5.1 Germinação	24
3.5.2 Multiplicação	25
3.5.3 Alongamento, enraizamento e transferência para o solo .	26
3.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	26
3.6.1 Desinfestação das Sementes e material vegetal provindo da casa de vegetação	26
3.6.2 Multiplicação, alongamento e enraizamento	27

4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1	GERMINAÇÃO E DESINFESTAÇÃO DAS SEMENTES	28
4.2.	ESTERILIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL PROVINDO DA CASA DE VEGETAÇÃO	31
4.3.	MULTIPLICAÇÃO DE BROTAÇÕES DOS 3 TIPOS DE EXPLANTE NA 1ª SUBCULTURA	34
4.4.	COMPRIMENTO DAS BROTAÇÕES DOS 3 TIPOS DE EXPLANTE NA 1ª SUBCULTURA	39
4.5.	INCREMENTO FOLIAR DOS TRÊS TIPOS DE EXPLANTE NA 1ª SUBCULTURA	43
4.6.	MULTIPLICAÇÃO DAS BROTAÇÕES EM SETE TRATAMENTOS AO LONGO DE TRÊS SUBCULTURAS.	47
4.7.	COMPRIMENTO DAS BROTAÇÕES NAS SUBCULTURAS 1, 2 E 3.	54
4.8.	EXPERIMENTO DE ALONGAMENTO	58
4.9.	ENRAIZAMENTO DAS BROTAÇÕES	64
4.10.	EXPERIMENTO DE ACLIMATAÇÃO	69
5.	CONCLUSÕES	71
6.	CONSIDERAÇÕES	71
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
	APÊNDICE	77

LISTA DE TABELAS

TABELA 1A - TRATAMENTOS E RESULTADOS DO EXPERIMENTO DE GERMINAÇÃO.	30
TABELA 1B - RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA E COMPARAÇÃO DE MÉDIAS PARA CONTRASTES ORTOGONAIS PARA GERMINAÇÃO.	31
TABELA 2 A - ANÁLISE DE VARIANCA DO EXPERIMENTO DESINFETAÇÃO DOS SEGMENTOS NODAIS	75
TABELA 2 B - RESULTADOS DA VARIÂNCIA E COMPARAÇÃO DE MÉDIAS PARA CONTRASTE ORTOGONAL PARA A DESINFESTAÇÃO DOS SEGMENTOS NODAIS PROVINDOS DA CASA DE VEGETAÇÃO	75
TABELA 2 C - TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ASSEPSIA DOS SEGMENTOS NODAIS	75
TABELA 3 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO CONTROLE DA FIGURA 2	75
TABELA 3 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO CONTROLE	75
TABELA 4 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2uM BAP DA FIGURA 2A.	75
TABELA 4 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 uM BAP	76
TABELA 5 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 5uM BAP DA FIGURA 2A.	76
TABELA 5 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 5 uM BAP	76
TABELA 6 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10uM BAP DA FIGURA 2A.	76
TABELA 6 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 uM BAP	76
TABELA 7 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2uM BAPx1uM ANA DA FIGURA 3.	76
TABELA 7 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 uM BAP x 1 uM ANA	77
TABELA 8 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2uM BAP x 2,5 uM ANA DA FIGURA 3.	77
TABELA 8 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 uM BAP x 2,5 uM ANA	77

TABELA 9 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2μM BAPx 5μM ANA DA FIGURA 3.	77
TABELA 9 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 μM BAP x 5 μM ANA	77
TABELA 10 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO CONTROLE DA FIGURA 4	77
TABELA 10 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO CONTROLE	78
TABELA 11 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 UM BAP DA FIGURA 4	78
TABELA 11 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 BAP	78
TABELA 12 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 5 UM BAP DA FIGURA 4	78
TABELA 12 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 5 BAP	78
TABELA 13 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 UM BAP DA FIGURA 4	78
TABELA 13 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP	79
TABELA 14 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 μM BAP X 1μM DA FIGURA 5	79
TABELA 14 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP x 1 ANA	79
TABELA 15 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 μM BAP X 2,5 μM ANA DA FIGURA 5	79
TABELA 15 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP x 2,5 ANA	79
TABELA 16 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 μM BAP 5 μM ANA DA FIGURA 5	79
TABELA 16 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP X 5 ANA	80
TABELA 17 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO CONTROLE DA FIGURA 6	80
TABELA 17 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO CONTROLE	80

TABELA 18 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP DA FIGURA 6	80
TABELA 18 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 BAP	80
TABELA 19 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 5 μ M BAP DA FIGURA 6	80
TABELA 19 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 5 BAP	81
TABELA 20 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 μ M BAP DA FIGURA 6	81
TABELA 20 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP	81
TABELA 21 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP X 1 μ M ANA DA FIGURA 7	81
TABELA 21 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 BAP x 1 ANA	81
TABELA 22 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP X 2,5 μ M ANA DA FIGURA 7	81
TABELA 22 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2BAP x 2,5 ANA	82
TABELA 23 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP X 5 μ M DA FIGURA 7	82
TABELA 23 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 μ M BAP x 5 μ M DE ANA	82
TABELA 24 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO CONTROLE DA FIGURA 8	82
TABELA 24 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO CONTROLE	82
TABELA 25 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP DA FIGURA 8	82
TABELA 25 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP	83
TABELA 26 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 5 UM BAP DA FIGURA 8	83
TABELA 26 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 5 μ M BAP	83
TABELA 27 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 UM BAP DA FIGURA 8	83

TABELA 27 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 10 μ M BAP	83
TABELA 28 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2UM BAP +1 UM ANA DA FIGURA 9	83
TABELA 28 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP + 1 μ M ANA	84
TABELA 29 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2UM BAP + 2,5 UM ANA DA FIGURA 9	84
TABELA 29 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP + 2,5 μ M ANA	84
TABELA 30 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2UM BAP + 5 UM ANA DA FIGURA 9	84
TABELA 30 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP + 5 μ M ANA	84
TABELA 31 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE CONTROLE DA FIGURA 10	84
TABELA 31 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO CONTROLE	85
TABELA 32 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 2UM BAP DA FIGURA 10	85
TABELA 32 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP	85
TABELA 33 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 5 UM BAP DA FIGURA 10	85
TABELA 33 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 5 μ M BAP	85
TABELA 34 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 10 UM BAP DA FIGURA 10	85
TABELA 34 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 10 μ M BAP	86
TABELA 35 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 10 UM BAP + 1 UM ANA DA FIGURA 11	86
TABELA 35 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 10 μ M BAP + 1 μ M ANA	86
TABELA 36 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 10 UM BAP + 2,5 UM ANA DA FIGURA 11	86
TABELA 36 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 10 μ M BAP + 2,5 μ M ANA	86

TABELA 37 A -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 10 UM BAP + 5 UM ANA DA FIGURA 11	87
TABELA 37 B -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 10 uM BAP + 5 uM ANA	87
TABELA 38 A -	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DE MEIO DO EXPERIMENTO DE ALONGAMENTO	87
TABELA 38 B -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EXPERIMENTO DE ALONGAMENTO FIGURA 12	87
TABELA 39 -	RESULTADO DO EXPERIMENTO DE ENRAIZAMENTO 1	63
TABELA 39 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DOS TRATAMENTOS DO EXPERIMENTO 1 DE ENRAIZAMENTO	87
TABELA 39 C -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA	88
TABELA 40 -	RESULTADO DO EXPERIMENTO DE ENRAIZAMENTO 2	63
TABELA 40 B -	TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DOS TRATAMENTOS DO EXPERIMENTO 2 DE ENRAIZAMENTO	88
TABELA 40 C -	QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA	88

LISTA DE FIGURAS

Figura A - GERMINAÇÃO "IN VITRO" DE <i>DALBERGIA NIGRA</i> (FR. ALLEN).	32
Figura 1 - EFEITO DO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO AO HIPOCLORÍTO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE GEMAS AXILARES EM SEGMENTOS NODAIS DE <i>DALBERGIA NIGRA</i> , APÓS 30 DIAS DE INCUBAÇÃO.	33
Figura B - MULTIPLICAÇÃO DE BROTAÇÕES DE <i>DALBERGIA NIGRA</i> (FR. ALLEN) APÓS 30 DIAS DE CULTIVO.	36
Figura 2 - EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP NA MULTIPLICAÇÃO DAS BROTAÇÕES DERIVADAS DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO.	37
Figura 3 - EFEITO COMBINADO DAS CONCENTRAÇÕES DE ANA E BAP A 2,0 UM NA MULTIPLICAÇÃO DAS BROTAÇÕES DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO.	38
Figura 4 - EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP NO COMPRIMENTO DOS BROTOS DERIVADOS DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO DE <i>DALBERGIA NIGRA</i>	41
Figura 5 - EFEITO COMBINADO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP E ANA NO COMPRIMENTO DOS BROTOS DERIVADOS DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO.	42
Figura 6 - EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP NO INCREMENTO FOLIAR DOS BROTOS DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO.	45
Figura 7 - EFEITO COMBINADO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP E ANA NO INCREMENTO FOLIAR DOS BROTOS DERIVADOS DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO.	47
Figura C - MULTIPLICAÇÃO DAS BROTAÇÕES DE <i>DALBERGIA NIGRA</i> (FR. ALLEN) APÓS 3 SUBCULTURAS	51
Figura 8 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BAP NO NÚMERO DE BROTAÇÕES APÓS TRÊS SUBCULTURAS (105 DIAS).	52
Figura 9 - EFEITO COMBINADO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP E ANA NO DESENVOLVIMENTO DE BROTOS APÓS TRÊS SUBCULTURAS (105 DIAS).	53
Figura 10 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BAP NO COMPRIMENTO DAS BROTAÇÕES APÓS TRÊS SUBCULTURAS (105 DIAS).	56

Figura 11 - EFEITO COMBINADO DAS CONCENTRAÇÕES DE ANA E DE BAP À 10 UM NO COMPRIMENTO DAS BROTAÇÕES APÓS TRÊS SUBCULTURAS (105 DIAS).	57
Figura 12 - EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE BAP E COMBINAÇÃO DE SAIS MINERAIS NO ELONGAMENTO DOS BROTOS APÓS 30 DIAS. . . .	59
Figura D - ENRAIZAMENTO "IN VITRO" DE <i>DALBERGIA NIGRA</i> (FR. ALLEN). . . .	64

RESUMO

A micropropagação de *Dalbergia nigra* (Fr. Allem) foi estabelecido a partir de plântulas originadas de sementes germinadas "in vitro". A germinação consistiu de tratamentos onde foram testados agentes antioxidantes no meio de cultura, agentes desinfestantes, presença ou ausência do tegumento da semente. A maior taxa de germinação (73,3%) foi obtida quando a semente foi embebida em água (8 horas), desinfestada em peróxido de hidrogênio 40% (v/v) e inoculada sem tegumento em meio MS suplementado com PVP 25 (1g/l). As plântulas forneceram tres tipos de explantes para a primeira fase de multiplicação (ápice, centro caulinar e nó cotiledonar). Nesta fase foram analisados número de brotações, comprimento de brotações e incremento foliar dos tres tipos de explante em 12 meios de cultura. A maior taxa de multiplicação foi obtida pelo nó cotiledonar no meio MS suplementado com 2,0 uM BAP (2,7 brotações). O maior comprimento de brotações foi alcançado pelo ápice caulinar (1,54 cm) quando submetido ao meio MS suplementado com 10 uM BAP. O maior incremento foliar foi obtido pelo nó cotiledonar (4,2 folhas) quando submetido ao meio MS suplementado com 2,0 uM BAP. Após tres subculturas de 35 dias foram analisados o comprimento das brotações e a taxa de multiplicação em 12 meios de cultura. Para o comprimento das brotações o meio que produziu maior resposta (1,3 cm) foi o MS suplementado com 10 uM BAP, enquanto para multiplicação foi o MS adicionado de 2,0 uM BAP (3,1 brotações). Explantes mais alongados foram obtidos em meio MS/2 sem suplementação de reguladores de crescimento. O enraizamento de 93.3 % das brotações foi alcançado com MS/2 suplementado com 4,0 uM de ANA. A aclimação garantiu 62,5% de sobrevivência das plântulas quando estas foram mantidas durante 30 dias em tubo de ensaio contidos de vermiculita e MS líquido antes de serem transplantados para o solo em casa de vegetação.

ABSTRACT

Micropropagation of *Dalbergia nigra* (Fr. Allem) has been achieved from "in vitro" germinated seedlings. Three types of explants (apical shoots, cotyledonary nodes and stem segments) were used up to the first subculture during multiplication stage. Germination was studied by using anti-oxidation substances, culture medium, desinfestation solutions and with presence or absence of seed coat. Higher germination (73,3%) was obtained when seeds were kept in water for 8 hours, desinfested with hydrogen peroxide (40 % V/V) and inoculated on MS + PVP 25 (1g/l) without the seed coat. Higher shoot length (1,5 cm) was obtained by apical shoots when incubated in MS supplemented with 10 uM BAP. Higher multiplication rate (2,7 shoots) was obtained by cotyledonar nodes on MS supplemented with 2,0 uM BAP. Whereas leaf increment (4,2) was obtained by cotyledonar nodes on 2,0 uM BAP added. Multiplication rates and shoot length were also measured after 3 subcultures (35 days each). Higher shoot length (1,3) was achieved on MS with 10 uM BAP. Whereas multiplication rate (3,1) was obtained on MS supplemented with 2,0 uM BAP. Shoots were elongated on MS/2 without growth regulators. Rooting (93,3%) was achieved when plantlets were mantained 30 days in MS/2 with 4,0 uM ANA. Transfer to soil was optimized when rooted plantlets were kept 30 days in test tubes with vermiculite and liquid MS.

1 INTRODUÇÃO

No clássico tratado descritivo (SOUZA, 1964) do Brasil, é descrita uma árvore com madeira escura, de fragância acentuada e excepcional dureza e que apesar de seu peso e densidade é facilmente trabalhada e resiste ao apodrecimento mesmo nas quentes e úmidas condições tropicais. A descrição de SOUZA (1964) certamente se refere a uma espécie de *Dalbergia*, e baseado nas características referidas para a madeira, mais precisamente a *Dalbergia nigra* (Vell) Fr. All. ex Benth. Das espécies vulgarmente denominadas Jacarandá, *Dalbergia nigra*, o famoso Jacarandá da Bahia, é a mais amplamente conhecida e, a mais valiosa das madeiras nacionais (RIZZINI 1978).

Pela sua beleza e propriedades de sua valiosa madeira, a *Dalbergia nigra* se populariza desde o tempo colonial, não apenas em Território Nacional, mas no comércio exterior de madeiras.

A madeira dessa importante espécie tem sido um valioso artigo de exportação por pelo menos 300 anos (RECORD e MELL, 1924)¹ citado por Carvalho (1990). As décadas de 60 e 70 representaram dois períodos de maior exportação do Jacarandá. Primeiro em toras depois árvores serradas.

¹ RECORD, S.J.; MELL C.D. Timbers of tropical America, New Haven, CT, USA Yale University. 610p. 1924.

A árvore ocorria de maneira abundante no ecossistema da Mata Atlântica, desde o sul da Bahia até o norte de São Paulo, área reconhecida como as primeiras terras exploradas pelos colonizadores após o descobrimento do país. Na Bahia, segundo LEÃO e VINHA (1975), a espécie era encontrada em estado nativo em quase todo o Sul do estado, porém era mais freqüente em uma faixa de terrenos de relevo ondulado e montanhoso desde o rio Itanhém, ao sul, até o rio Jequiricá, ao norte. Para leste, a espécie raramente atingia o litoral e, para oeste, chegava até as escarpas do planalto sul bahiano, principalmente nos Vales do Rio Cachoeira, de Contas e das Almas.

A madeira é geralmente pardo escuro violácea com estrias ou manchas negras, podendo apresentar-se mais clara, bege rosada com reflexos alaranjados, e mais raramente muito clara e sem grande valor comercial. Raras são as toras grossas e perfeitas pois a planta é muito susceptível a broca. Possui uma peculiar textura oleosa, de agradável sensação ao tato e, alguns exemplares são por vezes muito oleosos. A superfície polida é irregularmente lustrosa e lisa. O cheiro é agradável e pouco intenso, daí provavelmente, o nome popular inglês para a espécie - Brazilian Rosewood.

Esta espécie possui altura de 15 a 25 metros, com tronco de 40 - 80 cm de diâmetro. Folhas compostas pinadas de 5 - 8 cm de comprimento, com 11 - 17 folíolos glabrescentes de 12 - 15 mm de comprimento. É uma planta decídua heliófita, seletiva xerófita, característica de floresta pluvial de encosta atlântica. Ocorre principalmente nas encostas bem drenadas sendo encontrada tanto no interior da mata primária densa como nas formações secundárias; apresenta caráter

pioneiro, ocorrendo inclusive em cortes de barranco. Produz anualmente grande quantidade de sementes viáveis e é capaz de regenerar também a partir de raízes. Floresce durante os meses de setembro - novembro e a maturação dos frutos ocorre nos meses de agosto - setembro. Um quilograma de frutos contém, aproximadamente, 10.000 sementes. A emergência das sementes ocorre em 10 - 20 dias e, a germinação é superior a 80%. O desenvolvimento das mudas é lento, ficando prontas para plantio no local definitivo somente após 6 - 7 meses. Possui madeira com densidade de 0,87 g/cm (LORENZI, 1992).

Os usos do Jacarandá da Bahia são numerosos, contudo o mais freqüente emprego para sua madeira é na confecção de móveis finos e na carpintaria decorativa. A madeira de *Dalbergia nigra* foi bem conhecida no século passado e sua popularidade na Inglaterra é decorrente do seu uso para a fabricação de móveis de escritório naquele país. A madeira também é usada em laminados em grande escala, objetos decorativos, cabos para facas e escovas, puxadores de gaveta, etc. A madeira também é utilizada, em uma menor escala, na fabricação de instrumentos musicais, como pianos, sendo o material ideal para a fabricação de parafusos para afinar instrumentos de corda (PEARSON e WEBSTER citado por CARVALHO, 1990)².

O extrativismo intenso, a abertura de estradas e a pecuária contribuíram para a devastação do estoque genético dessa espécie. Hoje, sua ocorrência em estado natural se restringe a 5.000 indivíduos encontrados no município de Linhares, ES

² PEARSON, F.G.O; WEBSTER, C. Timber used in the musical instruments industry. London, p.47, 1956.

na reserva florestal Vale do Rio Doce.

Apesar da quase total extinção da espécie, pouco tem sido feito para a multiplicação das reservas naturais existentes. Não há plantios comerciais e as pesquisas sobre as possibilidades do seu cultivo são incipientes (GALVÃO et alli, 1979). A micropropagação é um método alternativo de propagação vegetativa. A cultura de células, órgãos e tecidos apresenta um potencial econômico considerável para se propagar genótipos selecionados de forma rápida. A micropropagação oferece como vantagens sobre a estaquia uma taxa mais elevada de multiplicação, menor necessidade de espaço físico, ausência de pragas e doenças durante a incubação, além de oferecer técnicas mais seguras, a medida que se obtenha um maior controle dos fatores envolvidos (HARTNEY, 1982).

A regeneração de árvores adultas apresenta a vantagem de se trabalhar com genótipos comprovadamente superiores (BENNETT, COMB, 1982). Entretanto, a regeneração de plantas adultas tem sido difícil, não só devido a maior contaminação inicial da cultura, mais também ao baixo potencial de diferenciação e crescimento de material adulto na propagação vegetativa.

Esses problemas tem sido menores com a micropropagação de material juvenil, embora não se conheça inicialmente o potencial genético de clones de mudas oriundas de sementes, a micropropagação de progenies valiosas de cruzamentos controlados ou de área de produção de sementes de elite, pode ser de grande interesse ao se obter um número ilimitado de plantas a partir de uma quantidade limitada de sementes (DE FOSSARD el alli, 1977). Segundo esses autores, tais clones podem ser testados para algumas características de interesse

ou sítio específico e mais tarde um grande número de plantas pode ser obtido a partir de um banco clonal de micropropagação.

O objetivo desse trabalho foi estabelecer um método eficiente de propagação vegetativa "in vitro" da *Dalbergia nigra*, partindo de explantes juvenis originados de sementes selecionadas germinadas "in vitro" e mudas crescidas em casa de vegetação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RESULTADOS DE ESTUDOS SILVICULTURAIS COM Dalbergia nigra

Os resultados de pesquisas encontrados limitam-se a alguns estudos realizados em parcelas experimentais plantadas no norte e sudeste do Brasil, que mostraram grande variação quanto a forma do fuste, pois foram encontradas plantas desde o tipo arbustivo, com ramificações iniciando na base, até aquelas com fustes relativamente retos.

GALVÃO et alli (1981), ao analisarem os dados obtidos em talhões experimentais de indivíduos com 57 meses de idade na região de Manaus - AM, concluíram que a espécie apresenta potencialidade para plantios puros na região. O crescimento médio, em altura e diâmetro, aos cinco anos de idade, em Manaus, foi de 11,40m e 10,55cm respectivamente. Por outro lado, a espécie apresentou alta taxa de mortalidade e muitas ramificações indesejáveis em plantios puros na reserva vale do rio doce. Entretanto, GALVÃO et alli (1981,) sugerem que sejam realizados estudos de técnicas silviculturais, como espaçamentos mais estreitos e a seleção de material genético de melhor forma de tronco, para eliminar ramificações que com a

idade passam a ser fustes adicionais indesejáveis.

Em um estudo de propagação vegetativa através de estaquia como apoio a um programa de melhoramento genético da espécie, concluiu-se que com a utilização do material adulto não havia enraizamento. No entanto com a utilização do material juvenil submetido a diferentes concentrações de AIB houve enraizamento entre 9% a 75% (DA FONSECA, et all 1984).

2.2 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA

2.2.1 Morfogênese

A morfogênese é um resultado de um padrão controlado de expressão genética de células indiferenciadas. O mecanismo de morfogênese é fundamental para o entendimento do crescimento e desenvolvimento das plantas (ROBERTS, 1988).

A formação de novas células, tecidos e órgãos através da atividade meristemática envolve divisões celulares. As células que se auto-perpetuam podem ser denominadas iniciais e as resultantes das divisões derivadas. As iniciais e suas derivadas compõe os meristemas apicais. Em outras palavras, o crescimento no sentido de divisão celular, não está limitado ao ápice da raiz e do caule, estendendo-se a regiões consideravelmente afastadas da área normalmente chamada de meristema apical (ESSAU, 1988).

A mudança progressiva dos tecidos meristemáticos de estrutura relativamente simples para as combinações de tecidos complexos e variáveis do corpo vegetal

adulto é denominada diferenciação. A passagem do estado indiferenciado para o estágio diferenciado, envolve a constituição química da célula, bem como suas características morfológicas (ESSAU, 1988).

Os primeiros trabalhos em morfogênese foram feitos em sistemas de células animais. A partir desses estudos dois princípios básicos surgiram. Primeiramente, algum mecanismo deve existir para fornecer informação a célula sobre sua posição relativa a tecidos adjacentes. Segundo, a célula deve ser capaz de interpretar esse sinal e diferenciar-se de forma específica. Como o mecanismo de interpretação é bem diferente do mecanismo que fornece a informação sobre a posição da célula, duas células em diferentes posições em um gradiente de concentração de um gradiente morfogênico podem diferenciar-se da mesma maneira (ROBERTS, 1988).

Segundo ROBERTS (1988), os reguladores de crescimento tem capacidade de modificar a maneira de como as células interpretam sua posição na planta. Se essa hipótese for correta, então os reguladores de crescimento tem o poder de alterar o padrão de diferenciação celular.

2.2.2 Reguladores de Crescimento

A diferenciação de brotos em cultura de tecidos é conhecida desde as primeiras publicações no campo do cultivo "in vitro". WHITE, em 1939, obteve o desenvolvimento de brotos de fumo em tecidos cultivados em meio líquido. No entanto, a indução "in vitro" de brotos e raízes só foi sistematizada depois quando demonstrou a diferenciação de raízes ou brotos de fumo pôde ser manipulada pelo

balanço de AIA (ácido indolacético) e adenina ou cinetina. O conceito de que existem substâncias específicas na formação de órgãos (WENT, 1938) foi então rejeitado por SKOOG e MILLER, (1957). SKOOG atribuiu a formação de órgãos a interação de substâncias que participam na formação dos mesmos. Em tabaco, a presença de adenina ou cinetina no meio de cultura promove a diferenciação e o desenvolvimento de brotos. O efeito da cinetina ou adenina é modificado por outros componentes do meio, principalmente, AIA (Ácido indoolacético) e ANA (Ácido naftalacético). Quando uma auxina é combinada com uma citocinina uma concentração relativamente alta de auxina favorece a proliferação celular e a diferenciação de raízes, enquanto uma concentração relativamente alta de citocinina promove a diferenciação de brotos. Portanto, a diferenciação de brotos e raízes é resultado de uma interação quantitativa entre esses reguladores de crescimento (BHOJWANI, 1983).

2.2.3 Cultura "in vitro" e organogênese

Uma das respostas mais comuns de um tecido cultivado "*in vitro*" é a formação de um calo, ou seja de uma massa de células de proliferação contínua e mais ou menos desordenada (CALDAS, 1990).

Qualquer tipo de órgão (raízes, caule, folha, etc) ou tecido pode ser utilizado para a formação de calo. Deve ser levado em consideração que o tipo de explante, isto é, sua posição na planta parental e juvenilidade, pois este refletem o nível hormonal endógeno desse tecido em processos importantes como divisão celular e formação de novos órgãos (PIERIK, 1987).

A partir de regiões de atividade meristemática as divisões celulares e o padrão de diferenciação podem ocorrer de maneira a conduzir um grau de diferenciação morfoanatômica peculiar, que no caso de caracterizar um órgão definido, constitui-se no processo denominado organogênese.

Assim, num explante ou tecido de calo, pode ocorrer novamente a formação (neoformação) de gemas caulinares que evoluem para eixos caulinares (brotações) ou raízes.

A diferenciação organogênica tem sido explorada há muito tempo na propagação vegetativa de várias espécies. Estudos "*in vitro*" mostram que essa potencialidade não é restrita a poucas espécies. Essa propriedade é denominada totipotência da célula vegetal.

2.2.4 Micropropagação

A propagação de plantas pode ser conduzida através do desenvolvimento sexuado ou assexuado. No ciclo sexuado, novas plantas são produzidas depois da fusão dos gametas parentais que desenvolvem sementes. Na maioria dos casos as novas plantas são geneticamente variáveis, e cada uma delas representará uma nova combinação de gens produzida na meiose. Por outro lado, na propagação pelo ciclo vegetativo ou assexuado, as características da planta parental (ramet) são perpetuados pelo crescimento e multiplicação mitótica de células, onde os gens representam uma cópia fiel da célula de origem. Cada nova planta (ortet) produzida por esse método pode ser considerada uma extensão do ciclo de multiplicação de

células somáticas de um indivíduo. O grupo de plantas produzidas assexuadamente é denominada clone (GEORGE, SHERINGTON, 1984).

A propagação clonal "in vitro" é denominada micropropagação. Algumas vantagens deste método são:

- 1 - Grande quantidade de plantas que podem ser produzidas a partir de um único indivíduo, em uma área reduzida e em um curto espaço de tempo.
- 2 - É possível propagar algumas espécies "in vitro" que são impossíveis de serem propagadas por outras técnicas de propagação vegetativa. Isto, em alguns casos, acontece graças ao processo de rejuvenescimento que ocorre mais facilmente "in vitro" do que "in vivo".
- 3 - O transporte de plantas "in vitro", livre de doenças, facilita a troca de germoplasma.
- 4 - Uma vez que pouca quantidade de material é necessário para o início da cultura, a propagação "in vitro" pode ser iniciada após alta seleção.
- 5 - Um novo clone pode se tornar economicamente viável mais rápido.
- 6 - Melhoristas vegetais podem obter mutantes durante a indução de brotações adventícias.
- 7 - A cultura "in vitro" é importante para o estabelecimento e manutenção de bancos genéticos, para preservação de germoplasma selvagens que se encontram sobre ameaça de extinção.

Algumas desvantagens do sistema de micropropagação "in vitro" são:

- 1 - Em alguns sistemas a estabilidade genética é fraca.

- 2 - Em algumas espécies a indução de enraizamento é muito difícil. Em outros casos as raízes formadas "in vitro" não são funcionais, e devem ser substituídas por novas raízes "in vivo".
- 3 - Em alguns casos o isolamento estéril do material é extremamente difícil.
- 4 - A transferência do tubo de ensaio para o solo, em certas espécies, exige cuidados especiais.
- 5 - O custo da técnica em alguns casos é mais alto do que a propagação por semente ou estaquia.

MURASHIGE (1962), citado por PIERIK (1987), definiu 5 estágios na propagação "in vitro" de plantas. Estes estágios tem sido amplamente utilizados por laboratórios comerciais e de pesquisa, não só porque descrevem procedimentos no processo de micropropagação, mas também porque representam momentos quando o meio de cultura deve ser alterado.

Os requerimentos para a complementação de cada fase variam de acordo com o método de propagação "in vitro" aplicado. No entanto, os procedimentos descritos nesses estágios servem de guia geral no processo de micropropagação.

- | | | |
|-----------|---|---|
| Estágio 0 | - | Seleção e preparação da planta parental. |
| Estágio 1 | - | Estabelecimento de cultura asséptica. |
| Estágio 2 | - | Produção de propágulos (fase de propagação). |
| Estágio 3 | - | Preparação para crescimento em ambiente natural (solo). |
| Estágio 4 | - | Transferência para o ambiente natural. |

Conforme o explante utilizado e sua subsequente manipulação, a micropropagação pode ser conduzida em uma dessas duas maneiras:

- 1 - Multiplicação através da proliferação de gemas axilares apicais.
- 2 - Multiplicação através da indução de gemas adventícias por organogênese direta ou indireta.

O primeiro caso abrange a maioria dos sistemas de micropropagação, envolvendo o isolamento de órgãos meristemáticos pré-formados, a quebra da dominância apical e a multiplicação das partes aéreas com a aplicação de citocinina exógena. As gemas axilares que naturalmente se formam nas inserções das folhas são estimulados a crescer, dando origem a novas partes aéreas que por sua vez repetem o mesmo processo (CALDAS, 1990). O segundo caso representa um processo de diferenciação dos tecidos, onde pelo balanço hormonal no meio de cultura há formação nódulos meristemáticos. Essa indução pode ser alcançada diretamente a partir do tecido parental, organogênese direta, ou pela de formação de calo e posterior neo formação de células meristemática, organogênese indireta.

O sucesso da propagação por via da cultura de tecidos é enormemente influenciada pela natureza do meio de cultura. Para crescimento vigoroso e saudável, as plantas necessitam retirar do solo grandes quantidades de certos íons inorgânicos (macronutrientes), e pequenas quantidades de outros íons (micronutrientes). Os meios de cultura para plantas, não só fornecem os macro e micronutrientes, mas também os carboidratos, geralmente a sacarose, como fonte de carbono. Resultados melhores são obtidos pela adição de compostos orgânicos

como vitaminas, aminoácidos, e reguladores de crescimento.

Além do meio de cultura os estágios da micropropagação também são afetados por fatores físicos como temperatura, umidade, intensidade luminosa e fotoperíodo. (GEORGE e SHERINGTON, 1984).

2.3 CULTIVO “IN VITRO” DO GÊNERO *Dalbergia sp.*

2.3.1 Micropropagação em *Dalbergia sp.*

A cultura de brotos pela ativação de meristemas axilares de mudas ou material adulto é a técnica mais bem sucedida nas espécies herbáceas e lenhosas. Ao contrário da cultura de calo, a cultura de brotos retém durante muito tempo a capacidade de regeneração. Eles são de particular interesse para estoque e propagação clonal de árvores, plantas ornamentais e agrícolas, uma vez que possuem uma alta taxa de multiplicação e estabilidade genética.

Em *Dalbergia sissoo (Roxb)* segmentos nodais com uma única gema axilar foram extraídos de mudas provenientes de estaquia desinfestadas com 0,1% de bicloreto de mercúrio por 15 minutos lavadas em água por 3 a 4 vezes e inoculados em meio M&S (MURASHIGE e SKOOG, 1962), B5 (GAMBORG et alli, 1968) com quantidade de macro elementos reduzida a metade e WPM (Wood Plant Medium, de FOSSARD et alli, 1977) suplementados com BAP (Belzilaminopurina) (0,44 uM ou 20 uM), BAP e baixa concentração de ANA, AIA e AIB (ácido indolbutírico) (0,05 uM ou 5 uM), combinações de BAP e CIN (cinetina) (2,0 uM ou 20 uM) e BAP com

Z (zeatina) (2 uM ou 20 uM). O melhor resultado foi obtido com BAP (4,0 uM) + ANA (0,26 uM) onde houve 100% de iniciação de brotos a partir do quarto dia. Na segunda passagem, a substituição da auxina pela de Citocinina (BAP e CIN 40 uM cada) produziu de 6 a 8 brotos cada explante (SITA e SWAMY, 1992).

A multiplicação clonal a partir de gemas axilares em *Dalbergia sissoo* também foi bem sucedida com a cultura dos explantes extraídos de árvores maduras (30 a 50 anos). As gemas foram desinfestadas com etanol 95% por 2 a 3 segundos e esterilizadas em bicloreto de mercúrio a 0,1% por 5 a 7 minutos e inoculadas no meio MS + NaH₂PO₄.2H₂O (1,25 uM) + tiamina HCL (1,0 mg/l) + mioinositol (100 mg/l) + sacarose 3% + carvão ativado e diferentes concentrações de BAP, AIA, ANA, CIN. A melhor resposta foi obtida com meio MS modificado suplementado com ANA (2,6 uM) + BAP (40 uM), onde a maioria dos explantes demonstrou crescimento sustentável e 55% formaram raízes (SHARMA e CHOWDHURY, 1984).

Cotiledones, segmentos de hipocotilo (10 mm de comprimento), gemas apicais e segmentos de raiz extraídos de plantas originadas de sementes germinadas "in vitro" foram testadas para a avaliação do potencial de multiplicação. A melhor resposta foi obtida com segmentos de hipocótilo em meio MS semi-sólido suplementado com pantotenato de cálcio, biotina, ácido fólico (1,0 mg/l cada) + sacarose 3% e BAP (40 uM). Os brotos também se desenvolveram a partir de gemas apicais em meio MS suplementado com BAP (40 uM ou 13 uM), mas o número de brotos desenvolvido foi menor do que aquele alcançado com hipocótilos. Os hipocótilos podiam ser subcultivados de 2 a 3 vezes com formação de novos brotos adventícios. Após essa passagem a produção tendeu a cair. Os brotos formados a

partir do hipocótilo também podiam ser segmentados de 6 a 7 mm e subcultivados em meio MS modificado + BAP (40 uM ou 13 uM) para obtenção de mais brotações (4 a 5 brotações). A rizogenese dos brotos foi obtida mantendo os explantes em meio MS/2 líquido + sacarose 1% suplementado com ANA, AIB, AIA (5,0 uM) por 72 horas e posterior transferência para meio MS/2 líquido sem reguladores de crescimento (RAI e CHANDRA, 1989).

Em *Dalbergia latifolia* (Roxb.) calos foram iniciados com sucesso a partir de segmentos internodais (5-8mm). Um calo compacto e clorofilado foi obtido em meio MS suplementado com 2,4-D (ácido 2,4-Diclorofenoxienolacético), BAP, ANA e água de côco. Pedacos desse calo foram cortados e subcultivados em meio MS suplementado com BAP (40 uM ou 20 uM) e ANA (0,5 uM ou 2,6 uM). Para produção de brotos, entre as várias combinações testadas, o melhor resultado foi alcançado com BAP (20 uM) e ANA (2,6 uM) com formação de 20 brotos em um único calo. Esses brotos foram enraizados em meio MS suplementado com AIA (ácido indolacético) (5,0 uM ou 24 uM) ou ANA (5,0 uM ou 26 uM). Observações mostraram que a diferenciação desses brotos não foi a partir de meristemas pré-existentes e sim induzidos "in vitro" pela ação de reguladores de crescimento no meio de cultura (SITA e SWAMY, 1992).

Calos também foram produzidos em *Dalbergia latifolia* (roxb.) a partir de brotos jovens de árvores maduras (50 a 60 anos) desinfestados com bicloreto de mercúrio 0,2% por 15 minutos. Os explantes foram inoculados em meio MS com várias combinações de 2,4-D, ANA, BAP. O melhor resultado obtido com maior intensidade na produção de calo e maior porcentagem de calo produzindo brotos foi

com ANA (5,0 uM) + BAP (4,0 uM) e posterior transferência para BAP (20 uM) + ANA (5,0 uM). Para enraizamento os brotos originados dos calos foram transferidos para o meio MS/2 líquido ou meio White (WHITE, 1963) suplementado com AIA (5,0 uM) + AIB (ácido indolbutírico) (5,0 uM) + ANA (5,0 uM) por 48 ou 72 horas. Decorridos 30 dias, aproximadamente, as plântulas de *Dalbergia Latifolia* produzidas foram transferidas para meio MS/2 líquido sem reguladores de crescimento onde as raízes foram induzidas em 25 a 30 dias. (RAI e CHANDRA, 1989).

Hipocótilos extraídos de sementes de *Dalbergia Latifolia* (Roxb.) descontaminados com 0,1% (peso/volume) de bicloreto de mercúrio por 5 minutos e germinadas "in vitro", também serviram de explante para produção de calo e posterior diferenciação de brotos e raízes. Os explantes com 15 a 20 dias (0,2 cm de diâmetro) foram transferidos para meio MS com 2% de sacarose e várias combinações de 2,4-D, BAP, ANA, AIA. Os melhores resultados obtidos foram com BAP (4,0 uM) ou (8,0 uM). Nesta combinação, os explantes desenvolveram calo verde que possuía muitas estruturas nodulares em 2 semanas de cultura. Essas estruturas nodulares se diferenciaram em brotos em 50 e 60% das culturas com BAP (8,0 uM) e (4,0 uM), respectivamente. Na transferência para meio fresco esses brotos serviram para a produção contínua de calo com novas brotações. O enraizamento dos brotos foi obtido em meio MS + 2% de sacarose + ANA (5,0 uM) ou (1,0 uM) (SUDHADEVI e NATARAJA, 1987).

Em um outro estudo com *Dalbergia latifolia* (Roxb.), calos se diferenciaram a partir segmentos de caule. Esses segmentos (1,0 cm de comprimento e 0,2 cm de diâmetro) foram obtidos de plântulas originadas de sementes germinadas "in

vitro". A maior taxa de multiplicação foi obtida com meio MS suplementado com BAP (8,0 uM). Para enraizamento MS + ANA (5,0 uM) ou (1,0 uM) mostrou ser o meio mais eficiente.

A produção de brotos a partir de raízes é um fenômeno natural e constitui parte integral do desenvolvimento de uma grande variedade de espécies. Muitas investigações tem sido feitas "in vitro" para entender os fatores que regulam a diferenciação dos brotos a partir de raiz. Apesar do grande número de estudos feitos com o crescimento de calo a partir de raiz, evidências para a diferenciação de plântulas originadas de cultura de raiz de leguminosas são quase inexistentes.

Raízes de *Dalbergia sisso* (Roxb.) com aproximadamente 1,0 cm de comprimento obtidas de sementes, e desinfestadas com hipoclorito de sódio por 10 minutos, germinadas "in vitro", produziram calo em 6 a 8 dias quando transferidas para meio B5 suplementado com ANA, AIA, e BAP nas concentrações de 10 uM, 5 uM, 1 uM, 0,5 uM em várias combinações ou individualmente. O meio MS + ANA (0,1 uM) mostrou ser o mais eficiente na produção de calo e posterior diferenciação em brotos (67% das culturas depois de 16 a 20 dias) (MUKHOPADHYAY e RAM, 1981).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal utilizado foram sementes e mudas originados de uma única procedência (município de Aracruz, ES) e coletadas apenas de 5 árvores adultas com pequena variabilidade fenotípica. As mudas foram produzidas do mesmo lote de sementes e mantidas em casa de vegetação com aplicações quinzenais de 1 g/l do fungicida Benlate (metil-1(butilcarbonoil)-2-benzimidazol carbamato).

3.2 FONTE DE EXPLANTES

3.2.1 Plântulas obtidas de sementes germinadas "in vitro".

Essas plântulas forneceram 3 segmentos para as fases subsequentes (nó cotiliedonar, segmento caulinar mediano e ápice caulinar).

3.2.2 Mudanças de 10 meses mantidas em casa de vegetação medindo aproximadamente 80 cm de comprimento.

Essas mudas forneceram segmentos nodais com uma, duas ou três gemas axilares para as fases subsequentes "in vitro".

3.3 DESINFESTAÇÃO

3.3.1 Sementes

As sementes foram primeiramente desinfestadas com álcool etílico 70% volume/volume (v/v) durante 1 minuto e hipoclorito de sódio (Reagen) a 0,1% de cloro livre durante 5 minutos ou peróxido de hidrogênio (Vetec) 40% (v/v) durante 5 min. Os pré-tratamentos (embebição) foram feitos com água ou Benlate a 1 mg/ml durante 8 horas. Nos tratamentos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, da TABELA 1a, o tegumento da semente foi removido depois da lavagem e desinfestação. Após todos os tratamentos, as sementes foram lavadas por 3 vezes durante 5 minutos em água deionizada esterilizada, depois enxugadas em papel esterilizado e inoculadas em meio de cultura.

3.3.2 Segmentos Nodais Provindos da Casa de Vegetação

Os segmentos nodais foram extraídos das mudas da casa de vegetação e colocados imediatamente em água corrente por 20 min. Posteriormente os explantes foram levados para a câmara de fluxo laminar onde sofreram os tratamentos de desinfestação.

Foram feitos três tratamentos que consistiram da combinação de álcool etílico 70% com três períodos de exposição: 7, 10 ou 13 min. em solução de hipoclorito de sódio 0,1% de cloro livre e posteriormente lavadas em água esterilizada.

3.4 MEIOS DE CULTURA, CONDIÇÕES AMBIENTAIS E RECIPIENTES

3.4.1 Germinação

O meio básico utilizado foi o MURASHIGE e SKOOG (1962) (MS) suplementado com polivinilpirrolidona (PVP) 25 (Reagen) (1 g/l) ou com PVP 25 (250 mg/l), ácido ascórbico (150 mg/l) e ácido cítrico (100 mg/l). Nesta fase, os agentes antioxidantes (ácido ascórbico e ácido cítrico) foram esterelizados por filtração em membrana de milipore (0,2 µm de diâmetro) e adicionados ao meio previamente autoclavado. A concentração de sacarose foi de 30 g/l. Alíquotas de 10 ml do meio foram distribuídas em tubos de ensaio (18 x 150 mm).

Os experimentos de germinação foram conduzidos no escuro a $25 \pm 10^\circ \text{C}$.

3.4.2 Isolamento dos Explantes Provenientes da Casa de Vegetação

O meio utilizado foi o MS suplementado de PVP 25 a 500 mg/l e de sacarose a 30 g/l.

Os experimentos de estabelecimento da cultura foram conduzidos sob um fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro, fornecido por lâmpadas branca fria GroLux F 40/12. Antes da autoclavagem dos meios, alíquotas de 10 ml foram distribuídas em tubos de ensaio (18 X 150 mm). Os tubos foram mantidos em prateleiras a 60 cm das lâmpadas sob intensidade luminosa de 3000 LUX.

3.4.3 Multiplicação

O meio básico utilizado foi o MS suplementado de PVP 25 (500 mg/l) e dos seguintes reguladores de crescimento: BAP e ANA.

Essa fase consistiu de um experimento cujos tratamentos foram originados de uma combinação fatorial de BAP (2,0 - 5,0 ou 10 μM) com ANA (0,0 - 1,0 - 2,5 ou 5,0 μM). A concentração de sacarose foi de 30 g/l. Antes da autoclavagem dos meios, alíquotas de 15 ml foram distribuídas em frascos com capacidade para 110 ml.

3.4.4 Alongamento

O meio utilizado foi o MS ou MS/2. Foram testados os seguintes meios: MS com suplementação de 2,5 μM de BAP, MS básico, MS/2 sem suplementação de BAP e MS com suplementação de 1,25 μM de BAP.

Tanto para multiplicação como para o alongamento as condições de luminosidade e fotoperíodo foram similares aos utilizados na etapa de isolamento.

3.4.5 Enraizamento

O meio utilizado para a indução do enraizamento foi o MS/2 (micro e macronutrientes) e sacarose a 10 g/l. Esta fase consistiu de 2 experimentos. No primeiro, os tratamentos foram originados da combinação fatorial de AIB (0,0 - 2,0 ou 4,0 μM) com ANA (0,0 - 2,0 ou 4,0 μM). No outro experimento foi testado um meio com combinações de concentrações iguais de ANA, AIB e AIA a 5,0 ou 8,0 μM . Os explantes foram mantidos durante 15 ou 30 dias no meio de indução ao enraizamento e transferidos para meio MS/2 sem reguladores de crescimento.

O primeiro experimento foi conduzido sob condições normais de fotoperíodo e intensidade luminosa (ídem etapas anteriores). O segundo experimento foi conduzido no escuro por 15 dias e posteriormente os frascos foram colocados sob fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro.

Os frascos utilizados nessa etapa, as lâmpadas e a distancia entre os frascos e as lâmpadas foram os mesmos utilizados na etapa de multiplicação.

OBS: Todos os meios foram solidificados com ágar (6 g/l). Em todas as etapas os meios foram preparados a partir de soluções estoque e autoclavados por 20 min. sob pressão constante de 1,06 atm a 120°C. Após preparo e antes da autoclavagem, o pH dos meios foi ajustado em 5,8 com solução 1N de NaOH e/ou solução 1N de HCl.

3.4.6 Transferência Para o Solo

As plântulas regeneradas foram transferidas para recipientes de isopor contendo uma mistura de solo e vermiculita (1:1) v/v ou mantidas por 30 dias em tubos de ensaio preenchidos com vermiculita e MS liquido antes de serem levadas ao solo.

Na sala de incubação, os experimentos foram conduzidos sob as mesmas condições de fotoperíodo e intensidade luminosa do experimento de multiplicação. Os recipientes utilizados foram tubos de ensaio com as mesmas dimensões dos utilizados na etapa de germinação "in vitro".

Após transplante, as plântulas foram mantidas a 50% de intensidade luminosa providas por um sombrite. A umidade foi mantida por nebulização intermitente, sendo pulverizadas em ciclo de uma hora. A temperatura foi mantida em torno de 25°C.

3.5 AVALIAÇÃO

3.5.1 Germinação

As sementes foram avaliadas após 30 dias quanto a porcentagem de sementes que produziram plântulas normais (10 a 15 cm) .

Os explantes isolados da casa de vegetação foram avaliados quanto a porcentagem de sobrevivência após 30 dias.

3.5.2 Multiplicação

Foram realizadas 3 subculturas de 35 dias cada uma (P1, P2, P3).

Na primeira subcultura foram avaliados o número de brotações, comprimento das brotações e incremento foliar para os diferentes tipos de explante (ápice caulinar 1 a 2cm, segmento caulinar mediano entre 2 a 5 cm abaixo do ápice ou nó cotiledonar). O critério utilizado para seleção do melhor explante a ser transferido para a segunda subcultura foi o que resultasse em um maior número de brotações.

O desempenho dos tratamentos na primeira, segunda e terceira subcultura foi avaliado segundo critérios de número de brotações e comprimento das brotações. Os tratamentos constituídos de meios suplementados apenas com BAP foram analisados separadamente, com base nestes resultados a concentração de BAP que apresentou melhor resposta para

cada variável, foi então combinada com 3 concentrações de ANA. Para o tratamento 1 (0 uM ANA + 2 uM de BAP) foi feita uma análise comparativa entre os clones nas subculturas 2 e 3 com o objetivo de se detectar possível superioridade genética de determinados genótipos para as características avaliadas.

3.5.3 Alongamento, enraizamento e transferência para o solo

No alongamento foi determinado o comprimento das brotações. No enraizamento a porcentagem de raízes e o número de raízes enquanto que na transferência para o solo a porcentagem de plântulas transferidas.

3.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

3.6.1 Desinfestação das Sementes e material vegetal provindo da casa de vegetação

Para a desinfestação das sementes foi feita uma análise de variância e comparação de médias por contrastes ortogonais de 17 tratamentos com 3 repetições de 10 amostras.

Para o material vegetal provindo da casa de vegetação foi feita análise de variância e comparação de média por contraste ortogonal entre as médias do controle e dos tratamentos (3) e posteriormente um teste de Tukey entre as médias dos tratamentos com 3 repetições de 15 amostras.

3.6.2 Multiplicação, alongamento e enraizamento

Para multiplicação foram feitas análises de variância em tratamentos que consistiam da combinação fatorial de 3x4 com número de repetições entre 20 e 25 e comparação de médias pelo teste de Tukey.

Para o alongamento foi feita análise de variância em 4 tratamentos com 45 repetições com comparação de médias pelo teste de Tukey.

Para o enraizamento foi feita análise de variância em tratamentos que consistiam de combinação fatorial de 3x3 com 15 repetições e comparação de médias pelo teste de Tukey.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 GERMINAÇÃO E DESINFESTAÇÃO DAS SEMENTES

Os tratamentos que apresentaram as maiores médias de germinação (55%) foram aqueles em que se utilizou o peróxido de hidrogênio como agente desinfestante com sementes sem tegumento. Houve diferença significativa entre os tratamentos com hipoclorito de sódio ou peróxido de hidrogênio, entre os tratamentos onde as sementes foram inoculadas com ou sem tegumento e entre a testemunha e os tratamentos (Tabela 1a). O tratamento que apresentou o maior número de sementes germinadas (73,3%) foi o que utilizou primeiramente embebição em água seguido por desinfestação em peróxido de hidrogênio e, finalmente, as sementes tiveram seus tegumentos removidos e foram inoculadas em meio com PVP.

Um dos fatores limitantes a obtenção de plantas saudáveis foi a oxidação. Com a utilização de hipoclorito de sódio a 0,1% de cloro livre por 7 minutos a oxidação do meio diminuiu, mas a taxa de germinação não ultrapassou 15% mesmo quando as sementes eram inoculadas sem tegumento. A utilização de peróxido de hidrogênio 40% (v/v) (vetec) por 5 minutos diminuiu a oxidação e aumentou

significativamente a taxa de germinação. Mesmo utilizando outros agentes desinfestantes em experimentos anteriores como bicloreto de mercúrio houve oxidação intensa do meio. Resultados de testes preliminares revelaram que a utilização de bicloreto de mercúrio como agente desinfestante causa uma oxidação extremamente intensa do meio de cultura impossibilitando a germinação. Isto indica a toxidez causada por esse metal pesado nos tecidos, que por sua vez liberaram níveis excessivos de compostos fenólicos no meio. Além de compostos fenólicos os tecidos danificados também dispararam outros eventos metabólicos complexos que incluem, aumento da taxa de respiração, síntese de ácidos nucleicos e proteínas, síntese de etileno e liberação de outros metabólitos do vacúolo das células afetadas. As enzimas que oxidam esses fenóis produzem radicais livres fenólicos (quinonas) que se poligamizam entre eles ou outros compostos formando pigmentos. Muitas quinonas são fitotóxicas como são também radicais livres $O^{\cdot-}$, moléculas que são produzidas na reação (RHODES e WOOLTOR, 1978).

A germinação não foi afetada significativamente pelos tratamentos de embebição em água ou em solução de benlate da mesma forma em que os resultados do contraste entre os tratamentos que utilizaram somente PVP no meio de cultura ou o coquetel com PVP, ácido ascórbico e ácido cítrico também não foram significativos (Tabela 1a). Isto é indicativo que os compostos fenólicos exudados pelos tecidos da semente são suficientemente adsorvidos pelo PVP impedindo a oxidação do meio.

Quando as sementes foram inoculadas com tegumento os níveis de oxidação encontrados no meio foram significativamente superiores a oxidação dos meios com

sementes inoculadas sem tegumento. A presença de compostos fenólicos em altas concentrações no tegumento da semente pode ser um mecanismo de defesa dessa espécie para combater agentes patógenos. Embora as sementes sem tegumento também exudem fenóis, os níveis são insuficientes para impedir o processo germinativo "in vitro". Portanto o tegumento é fator limitante na germinação "in vitro" de *Dalbergia nigra*.

A germinação das sementes em meio de cultura sem suplementação de reguladores de crescimento sugere que os hormônios de crescimento se encontram em concentrações ideais para o desencadeamento do processo de germinação. "Sementes são uma rica fonte não só de giberilinas mas também de auxinas. Interações devem ocorrer, uma vez que auxinas, giberilinas ácido abscísico e citocininas estão presentes simultaneamente na semente" (DAVIES, 1988).

TABELA 1A - TRATAMENTOS E RESULTADOS DO EXPERIMENTO DE GERMINAÇÃO.

Pré-Tratamento	Agente Desinfestante	Meio de Cultura	Estado Morfológico da Semente	Número do Tratamento	Porcentagem Germinação
Água	Hipoclorito de sódio	ms + pvp	c/ tegumento	1	0
			s/ tegumento	2	3,33
		ms + coquetel	c/ tegumento	3	6,66
			s/ tegumento	4	30
	Peroxido hidrogenio	ms + pvp	c/ tegumento	5	33,33
			s/ tegumento	6	73,33
		ms + coquetel	c/ tegumento	7	23,33
			s/ tegumento	8	46,66
Benlate	Hipoclorito de sódio	ms + pvp	c/ tegumento	9	0
			s/ tegumento	10	16
		ms + coquetel	c/ tegumento	11	6,66
			s/ tegumento	12	33,33
	Peroxido hidrogenio	ms + pvp	c/ tegumento	13	23,33
			s/ tegumento	14	50
		ms + coquetel	c/ tegumento	15	30
			s/ tegumento	16	50

TABELA 1B - RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA E COMPARAÇÃO DE MÉDIAS PARA CONTRASTES ORTOGONAIS PARA GERMINAÇÃO.

F. V	G.L	S.Q	Q.M	F
TRATAMENTOS	16	15209,179	950,573	7,76*
ÁGUA x BENLATE	1	0,0054	0,0054	0,000044 N.S.
HIPOCL. x H ₂ O ₂	1	7739,634	7739,634	63,24*
PVP x COQUETEL	1	269,753	269,753	2,20 N.S.
C/TES x S/TES	1	3340,14	3340,14	27,29*
TRATAM x TEST.	1	1921,29	1921,29	15,69*
ERRO	34	4161,164	122,38	

F Tabelar	TRATAMENTOS (16,34)
	2,01
	CONTRASTE (1,34)
	4,17

4.2. ESTERILIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL PROVINDO DA CASA DE VEGETAÇÃO

Os testes preliminares efetuados com peróxido de hidrogênio a 40% (v/v) ou bicloreto de mercúrio (1 g/l) apresentaram os seguintes resultados: 100% de mortalidade (seja por contaminação ou oxidação) para ambos os tratamentos. Este resultado não está de acordo como encontrado por SITA e SWAMY (1992) na desinfestação de segmentos nodais de *Dalbergia sisso*, onde foi utilizado 0,1% de bicloreto de mercúrio por 15 minutos.

O tratamento que apresentou melhor efeito sobre a desinfestação dos explantas (39,6%) foi o que combinou o uso de álcool etílico 70% durante 1 min. com hipoclorito de sódio à 0,1% (v/v) de cloro livre por 10 min. de exposição dos tecidos a solução (Figura 1). Quando comparado os tempos de exposição ao hipoclorito, verificou-se que o tratamento 7 minutos de exposição apresentou alta

taxa de contaminação enquanto o tratamento com 13 minutos de exposição apresentou alta taxa de oxidação. Houve significância nos resultados da análise de variância do contraste ortogonal efetuado entre a testemunha e os tratamentos com diferentes períodos de exposição dos segmentos nodais ao agente desinfestante (Tabela 2b).

Experimento similar realizado em outra época do ano, no qual não se efetuou controle fitossanitário nas mudas da casa de vegetação antes da coleta dos explantes, mostrou uma maior mortalidade dos mesmos em relação a este experimento. Isto pode ser indicativo da importância da época do ano e do estado fisiológico da planta e o controle fitossanitário por ocasião da coleta e isolamento dos segmentos nodais (dados não publicados).

Figura A. GERMINAÇÃO "IN VITRO" DE *DALBERGIA NIGRA* (FR. ALLEM)

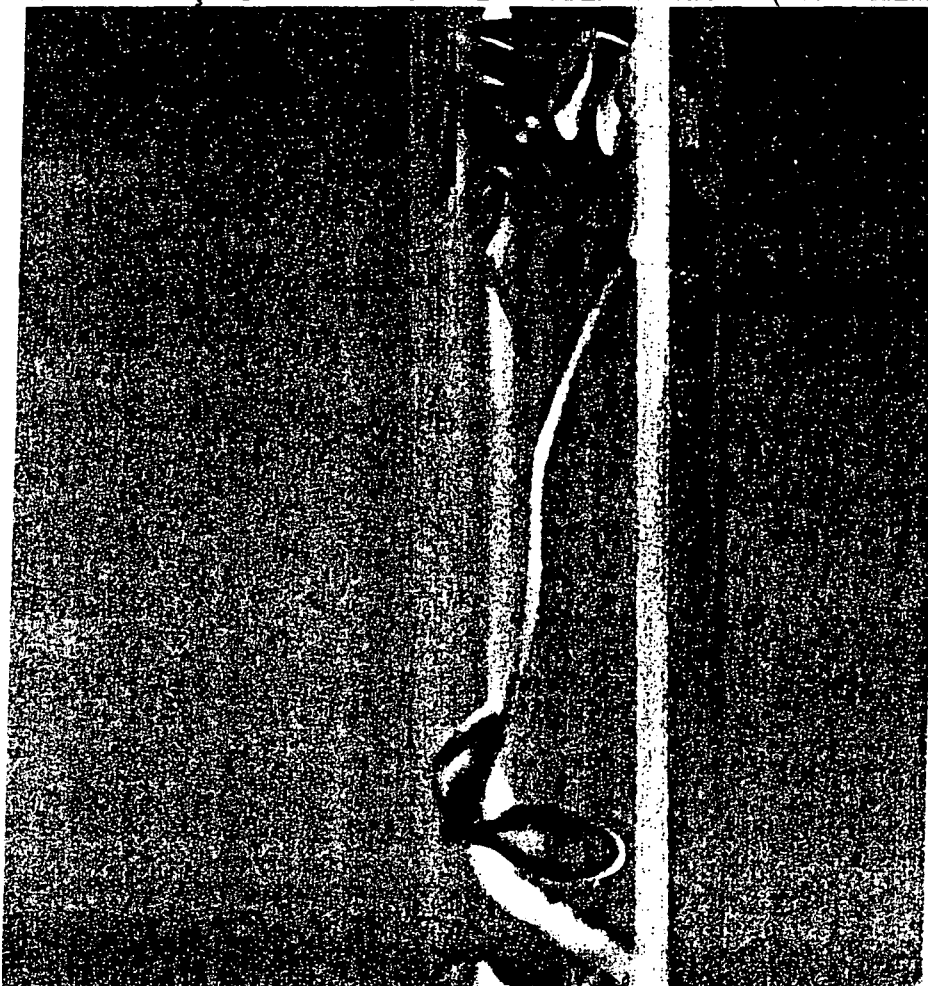
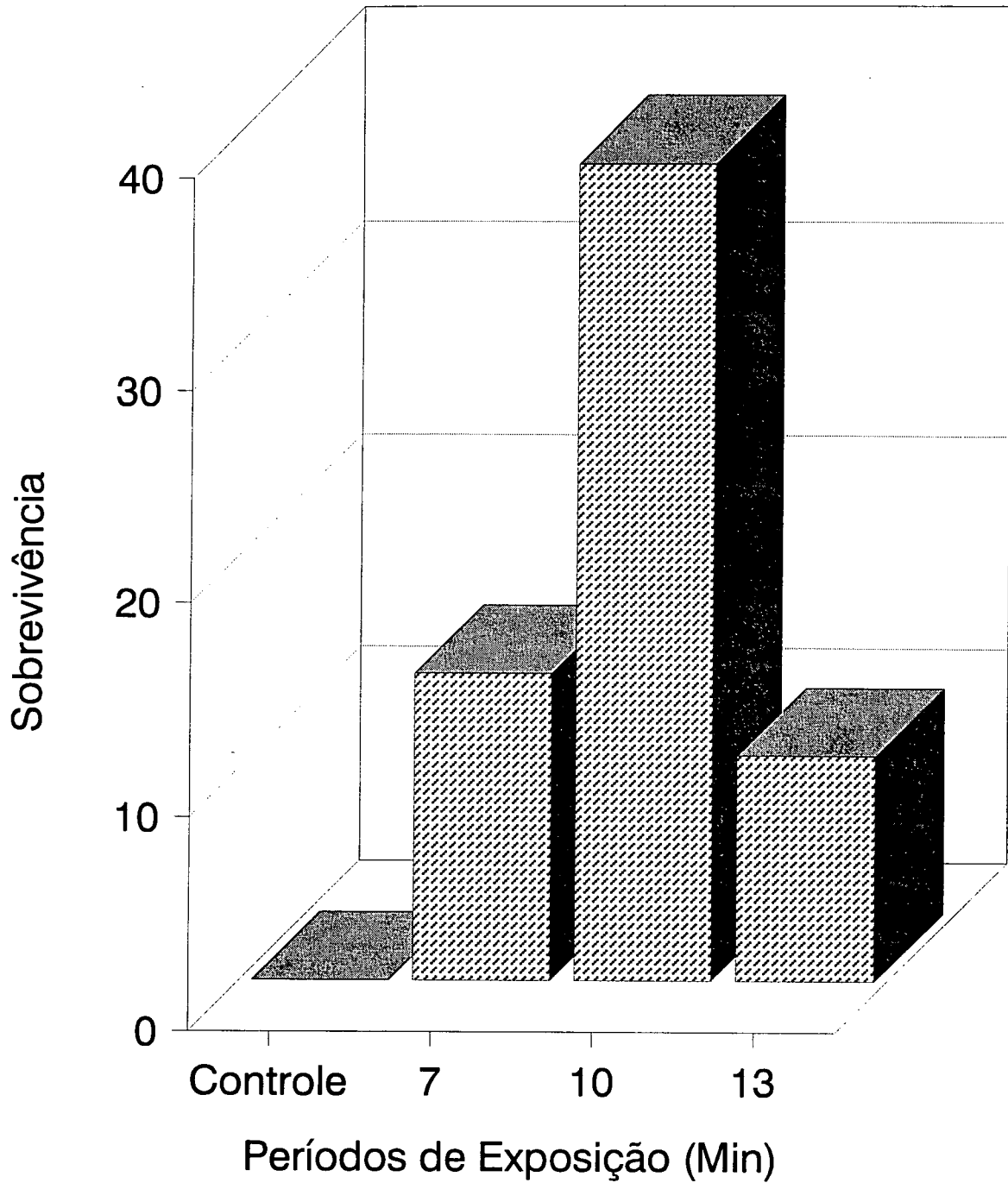


Figura 1. EFEITO DO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO AO HIPOCLORÍTO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE GEMAS AXILARES EM SEGMENTOS NODAIS DE *DALBERGIA NIGRA*, APÓS 30 DIAS DE INCUBAÇÃO.



4.3. MULTIPLICAÇÃO DE BROTAÇÕES DOS 3 TIPOS DE EXPLANTE NA 1ª SUBCULTURA

A presença de citocinina nas concentrações 2,0 - 5,0 e 10 uM aumentaram a taxa de multiplicação do ápice caulinar e do nó cotiledonar quando comparada ao controle. Para o ápice caulinar a concentração de 2,0 uM foi a que produziu a maior resposta, com 2,17 brotações por explante. Da mesma forma que para o ápice caulinar, o nó cotiledonar, produziu maior média de brotações (2,65 brotações por explante) quando submetido a uma concentração de 2,0 uM de BAP. A concentração de 5,0 uM também produziu uma média alta (2,32 brotações por explante) quando comparada aos outros tratamentos. Ao contrário da resposta que foi encontrada para o ápice caulinar e nó cotiledonar, a presença de citocinina nas concentrações de 2,0 e 5,0 uM não induziram o aumento do número de brotações do centro caulinar sendo observado um decréscimo da média do número de brotações quando comparada ao controle. Na concentração de 10 uM de BAP a taxa de multiplicação do ápice caulinar aumentou até níveis semelhantes aos alcançados pelo centro caulinar (Figura 2).

Pode ser sugerido que o segmento do nó cotiledonar está, entre os 3 tipos de explante testados, localizado o mais próximo da área de produção de citocinina endógena, o ápice da raiz (DAVIES, 1982), e portanto as células desse segmento são mais sensíveis a esse regulador. Ao contrário das auxinas, existem poucas evidências de que o transporte intercelular seja regulado de maneira coordenada. Isto leva a crer que as células que sintetizam esse regulador de crescimento são as mesmas sensíveis a ele, ou separadas da área de produção por um pequeno espaço

(ROBERTS, 1988).

Além disso a gema axilar das folhas cotiledonares tem um potencial de multiplicação superior ao das gemas axilares que estão localizadas mais acima no caule, por que estas estão sujeitas a uma inibição mais intensa da auxina produzida no ápice caulinar. A aplicação de citocinina pode causar a liberação das gemas laterais da dominância apical (DAVIES, 1988).

A adição de auxina ao meio de cultura nas três concentrações testadas foi prejudicial para a taxa de multiplicação do ápice caulinar e nó cotiledonar (Figura 3).

Com relação ao centro caulinar, pode ser sugerido que o potencial morfogênético desse setor do seedling, seja inferior ao potencial morfogênético dos outros tipos de explantes testados. A presença da potencialidade meristemática está relacionada com o grau de diferenciação e especialização entre as células do mesmo corpo vegetal. Pode-se dizer que algumas células são mais induzidas do que outras, se comparar suas potencialidades de crescimento e diferenciação (ESSAU, 1988).

No comportamento do ápice caulinar, sob as diferentes concentrações de reguladores de crescimento, é importante ressaltar que foi o único tipo de explante que produziu alguma multiplicação quando submetido a altas concentrações de auxina. Isto é indicativo que este segmento do seedling é o mais tolerável a altas concentrações de auxina (Figura 3). Como o sítio de biossíntese de auxina são os primórdios foliares pode ser que a concentração endógena desse regulador seja maior nesse setor e portanto as células que aí se encontram são mais adaptadas a estas condições. Talvez essa tolerância seja devida a um maior número disponível de receptores ou também através de um mecanismo de "turn over" das proteínas de

membrana reconhecedoras de auxina (DAVIES, 1982).

Figura B. MULTIPLICAÇÃO DE BROTAÇÕES DE *DALBERGIA NIGRA* (Fr. Allem)
APOS 30 DIAS DE CULTIVO

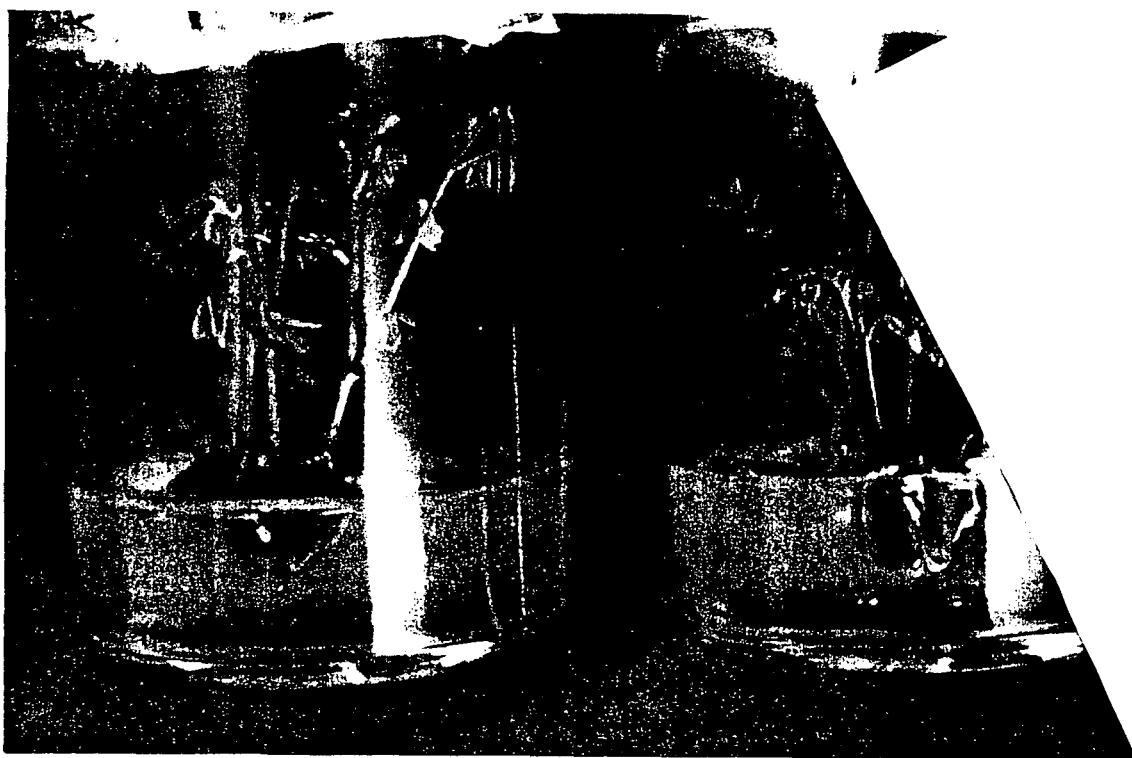


Figura 2 - EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP NA MULTIPLICAÇÃO DAS BROTAÇÕES DERIVADAS DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO.

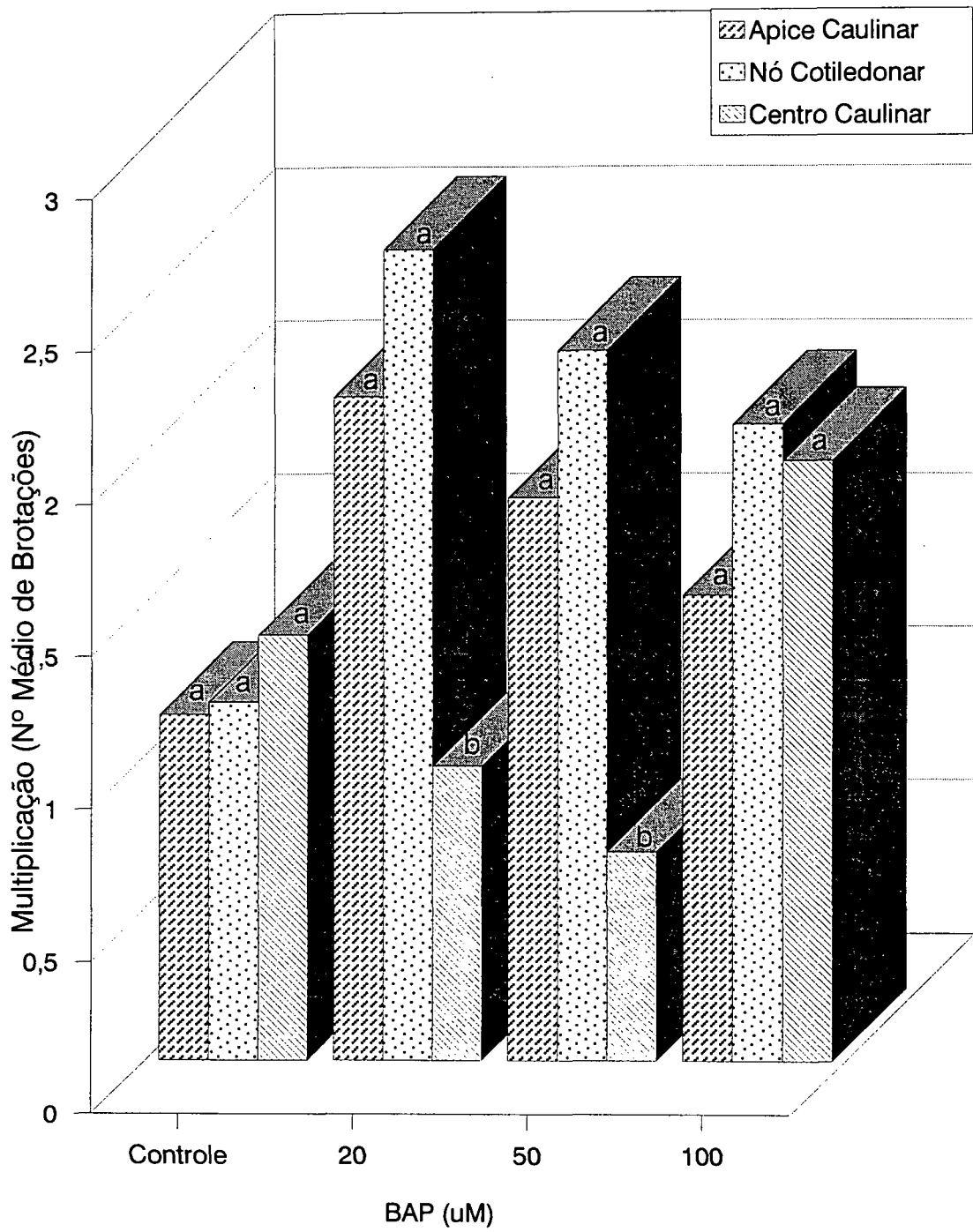
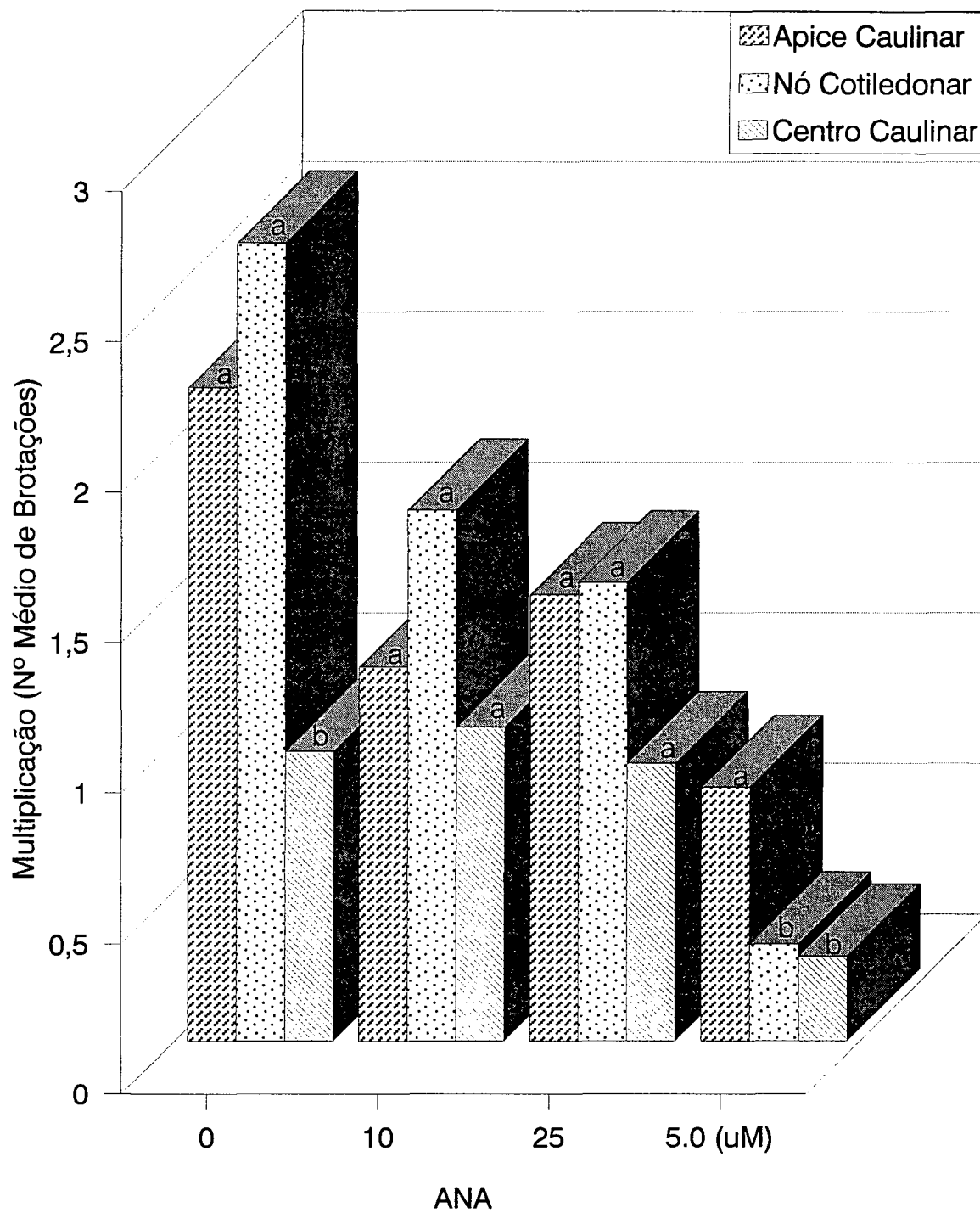


Figura 3 - EFEITO COMBINADO DAS CONCENTRAÇÕES DE ANA E BAP A 2,0 μ M NA MULTIPLICAÇÃO DAS BROTAÇÕES DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO.



4.4. COMPRIMENTO DAS BROTAÇÕES DOS 3 TIPOS DE EXPLANTE NA 1ª SUBCULTURA

A concentração mais alta de citocinina (10 μM) foi a que produziu maior média de comprimento de brotações nos três tipos de explante. Para o centro caulinar, assim como para os outros explantes, as concentrações mais baixas de citocinina testadas reduziram a média do comprimento de brotações (Figura 4). A presença de auxina influenciou negativamente a média do comprimento das brotações do nó cotiledonar e do centro caulinar, mas por outro lado, não produziu um efeito substancial na média dos comprimentos do ápice caulinar (Figura 5).

É importante ressaltar que o ápice caulinar foi o tipo de explante que apresentou maior média de comprimento e além disso foi o explante com comportamento menos variável quando submetido a diferentes concentrações de reguladores de crescimento nos diferentes tratamentos (Figuras 4 e 5).

A maior média de comprimento de brotações encontrada no ápice caulinar e nó cotiledonar com altas concentrações de citocinina pode estar associada ao aumento das taxas de divisão celular. "As citocininas parecem ter participação direta na regulação das divisões celulares, pois este regulador promove a divisão celular em cultura de tecidos vegetais" (SCOTT, 1984). Esse aumento da média do comprimento pode estar associado a estimulação de alongamento pela citocinina. "O efeito mais comum da citocinina, etileno e ácido abscísico no alongamento de caules é inibitório. As citocininas inibem ambos alongamentos promovidos pela auxina ou pelo GA_3 . Entretanto, em alguns casos, esses inibidores estimulam o

alongamento celular.

A resposta mais homogênea do ápice caulinar quando submetido a diferentes concentrações de auxina pode ser indicativo de que os níveis endógenos desse regulador nesse segmento são altos. "A maioria das teorias e hipóteses contemporâneas que se propõe a explicar a função dos fitohormônios na morfogênese das plantas, relacionam seu modo de ação a mudanças espaciais e temporais na concentração molecular. Essas explicações geralmente estão de acordo com a clássica teoria de gradiente de concentração (CHILD, 1941) que postula que a diferenciação da célula é consequência da posição da célula dentro de gradientes de concentração de substâncias morfogeneticamente ativas .

Figura 4 - EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP NO COMPRIMENTO DOS BROTOS DERIVADOS DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO DE *DALBERGIA NIGRA*.

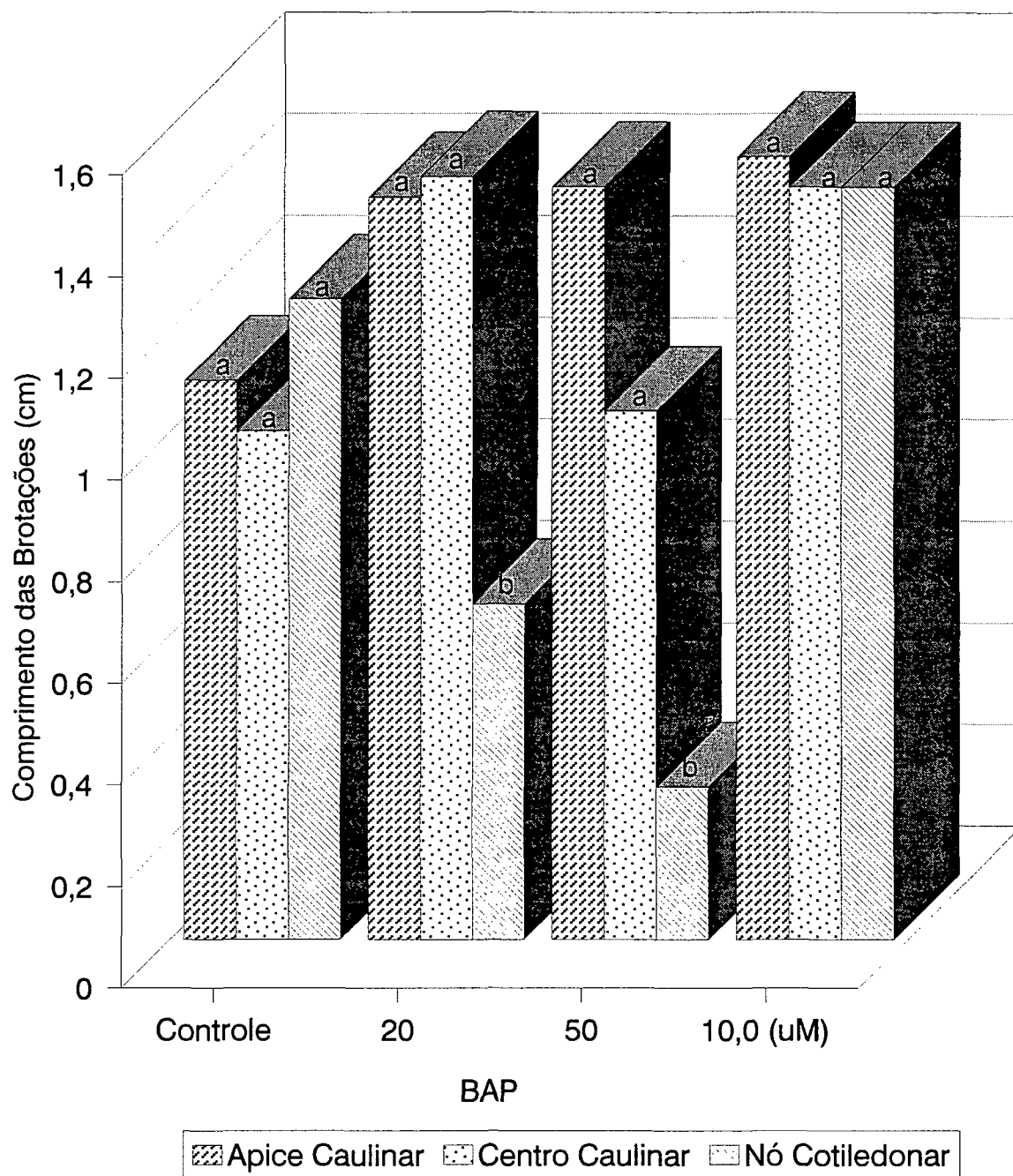
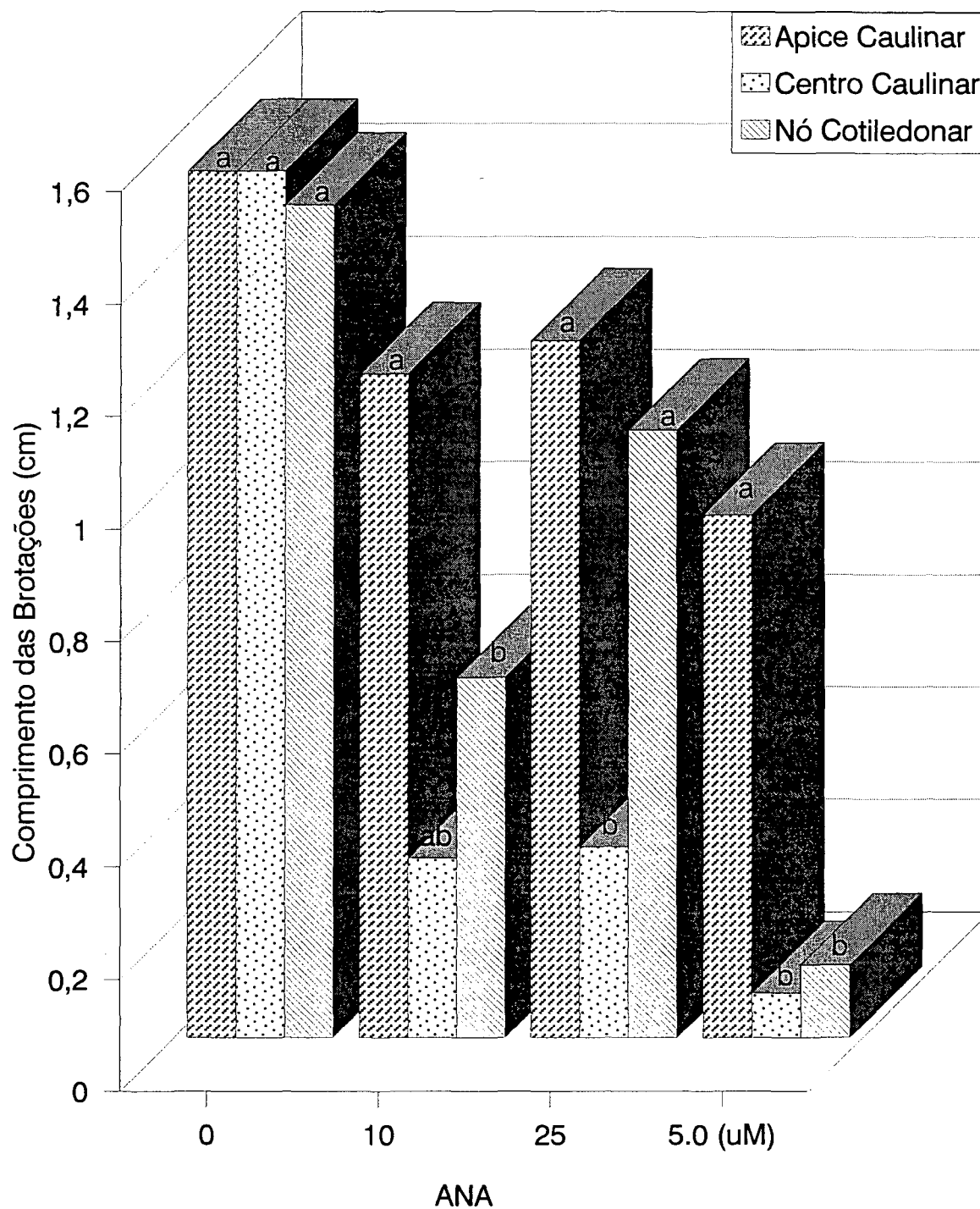


Figura 5 - EFEITO COMBINADO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP E ANA NO COMPRIMENTO DOS BROTOS DERIVADOS DE VÁRIOS EXPLENTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO.



4.5. INCREMENTO FOLIAR DOS TRÊS TIPOS DE EXPLANTE NA 1ª SUBCULTURA

A presença de citocinina nas três concentrações testadas aumentou significativamente o número de folhas do nó cotiledonar. A concentração de 5,0 uM de BAP foi a que apresentou maior média com 4,24 novas folhas formadas após 35 dias de cultivo (Figura 6). Por outro lado, os tratamentos suplementados com citocinina não influenciaram no número de folhas do ápice caulinar e do centro caulinar (Figura 6).

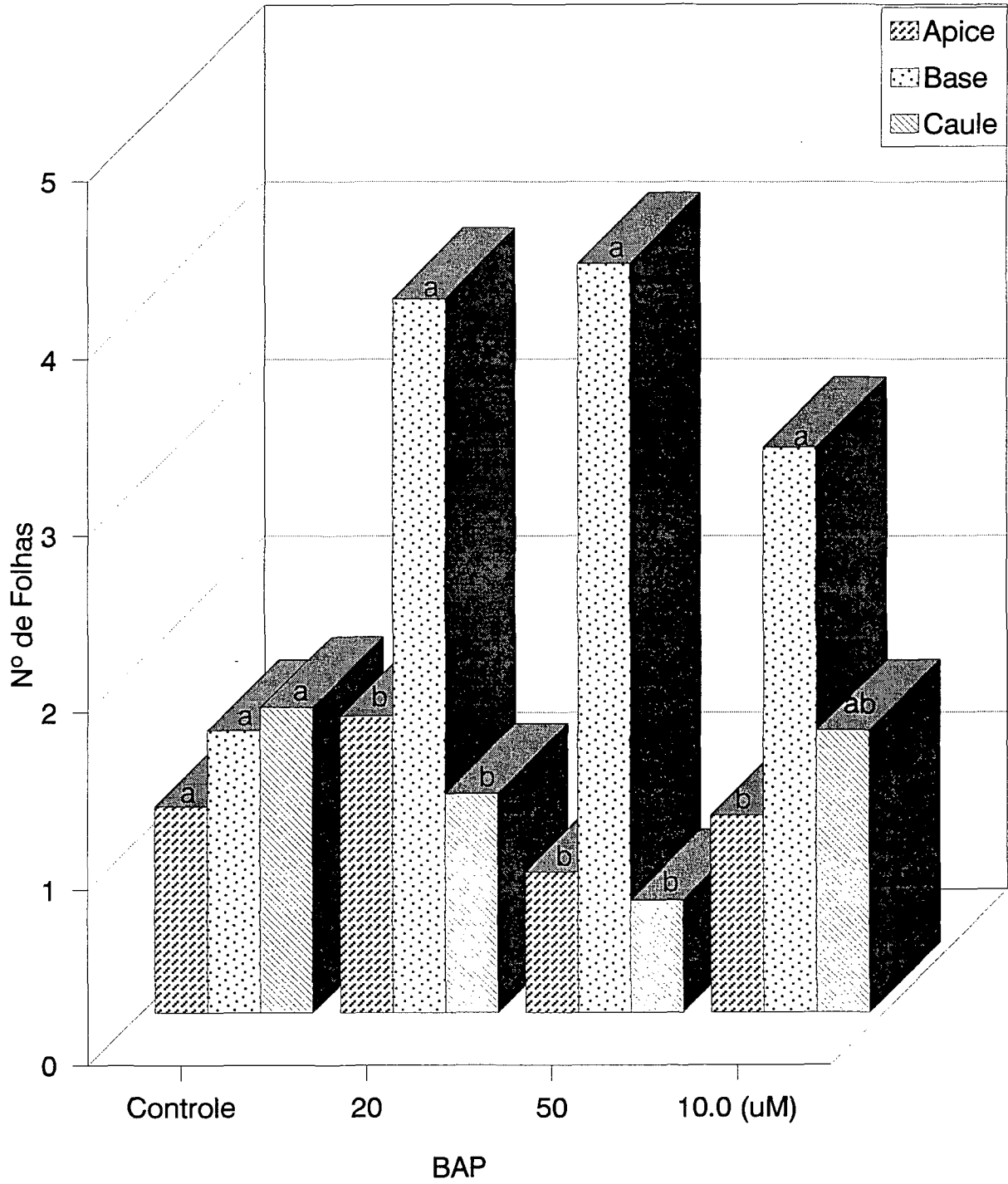
A adição de auxina aos meios de cultura não apresentou algum aumento no incremento foliar nos três tipos de explante (Figura 7).

"Citocininas estimulam a expansão celular em uma variedade de dicotiledôneas, mantidas na luz ou no escuro (GOODWIN e MERCER, 1983). As citocininas também aumentam a expansão de folhas jovens de feijão (GOODWIN e EL MERCER, 1983) e em outros tipos de folhas em parte por divisão celular (SCOTT, 1984). O aumento do número de folhas do ápice caulinar e do centro caulinar não foram afetados pela adição de reguladores, provavelmente, pelo fato de que as células desses explantes já estão diferenciadas não sendo influenciadas pela auxina que é sintetizada no ápice. "Existem publicações de efeitos inibitórios e estimulatórios da áuxina na expansão foliar. A imersão temporária de plântulas de aveia em AIA, suprime o crescimento de folhas primárias (SCOTT, 1983).

Segundo MOORE (1979), a inibição do crescimento que ocorre nesses tecidos quando a concentração de auxina está em excesso e é devida ao efeito inibitório do

etileno que se sobrepõe ao efeito estimulatório da auxina. Ainda segundo MOORE (1979) a resposta dos tecidos vegetais a auxina varia com a concentração de auxina aplicada. Na maioria dos casos, as concentrações baixas são promotoras e as concentrações altas inibitórias. A razão para a inibição foi por muito tempo desconhecida. Mas, em 1966, BURG mostrou que em alguns sistemas a auxina somente produz crescimento, e que a auxina por si nunca é inibitória. O que acontece é que para certas concentrações críticas de auxina, que é diferente para cada tecido, a produção de etileno é induzida, esse etileno é, por sua vez, inibidor de crescimento (MOORE, 1979).

Figura 6 - EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP NO INCREMENTO FOLIAR DOS BROTOS DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO.



TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO = BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	2.017198	a	A
2	1	ÁPICE	25	1.384158	b	B
3	3	CAULE	25	1.174758	b	B

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significância indicado

D.M.S. 5%=0.40226 - D.M.S. 1% = 0.50531

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO CONTROLE

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	ÁPICE	23	0.707107	a	A
2	2	CAULE	23	0.707107	a	A
3	3	BASE	23	0.707107	a	A

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significância indicado

D.M.S. 5%=0.00032 - D.M.S. 1% = 0.00040

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 5 BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	2.070456	a	A
2	1	ÁPICE	25	1.060047	b	B
3	3	CAULE	25	0.954789	b	B

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significância indicado

D.M.S. 5%=0.33356 - D.M.S. 1% = 0.41901

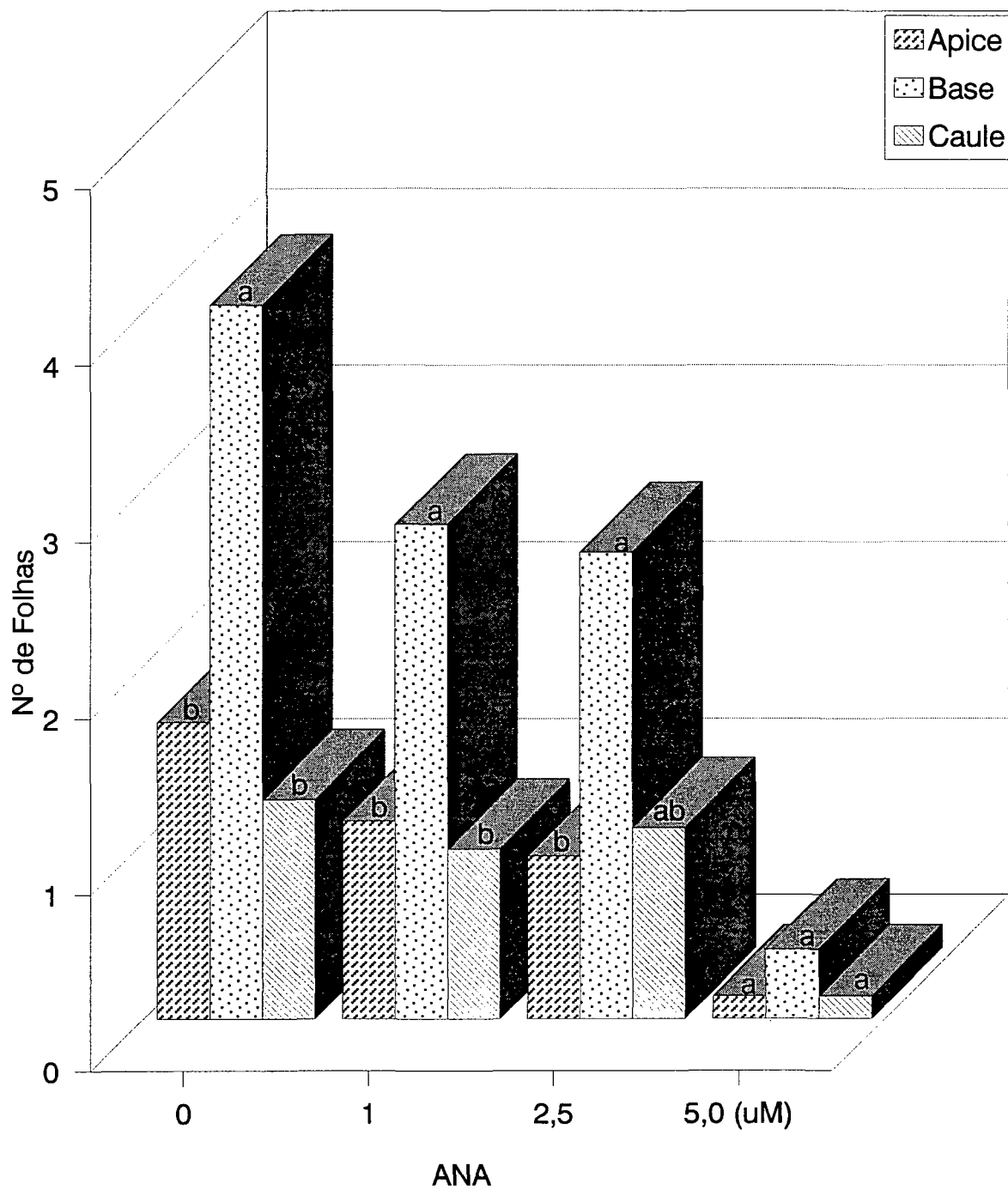
TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	1.815242	a	A
2	3	CAULE	25	1.335534	b	AB
3	1	ÁPICE	25	1.173638	b	B

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significância indicado

D.M.S. 5%=0.39199 - D.M.S. 1% = 0.49242

Figura 7 - EFEITO COMBINADO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP E ANA NO INCREMENTO FOLIAR DOS BROTOS DERIVADOS DE VÁRIOS EXPLANTES APÓS 35 DIAS DE CULTIVO.



TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 BAP x 1 ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	1.727759	a	A
2	1	ÁPICE	25	1.177420	b	B
3	3	CAULE	25	1.131163	b	B

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significância indicado
D.M.S. 5%=0.35913 - D.M.S. 1% = 0.45114

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 BAP x 2,5 ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	1.638763	a	A
2	1	CAULE	25	1.150675	b	AB
3	3	ÁPICE	25	1.106542	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	0.864989	a	A
2	1	ÁPICE	25	0.769223	a	A
3	3	CAULE	25	0.762774	a	A

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significância indicado
D.M.S. 5%=0.16858 - D.M.S. 1% = 0.21177

4.6. MULTIPLICAÇÃO DAS BROTAÇÕES EM SETE TRATAMENTOS AO LONGO DE TRÊS SUBCULTURAS.

A 1ª subcultura foi a que apresentou a maior média de número de brotações para todos os tratamentos, exceto para o controle. A adição de BAP nas três concentrações testadas (2,0, 5,0 ou 10 µM) aumentou significativamente a média do número de brotações nas subculturas 1, 2 e 3 em relação ao controle. Entretanto, a subcultura 3 foi a que apresentou menor média de multiplicação de brotações (Figura 8).

A adição de auxina (1,0, 2,5 ou 5,0 μM) nos meios de cultura influenciou negativamente a multiplicação dos explantes nas subculturas 1, 2 e 3. É importante salientar que a presença de auxina estabilizou as médias de brotações produzidas no decorrer das subculturas, somente no tratamento onde foi suplementado 2 BAP 5,0 ANA. Ou seja, as taxas de multiplicação das subculturas 2 e 3 não foram diferentes estatisticamente às taxas de multiplicação da subcultura 1 nos tratamentos em que foi suplementado 5,0 μM ANA (Figura 9).

Isto pode ser indicativo de que as células em presença de auxina se habituaram ao mecanismo de ação dos reguladores de crescimento e portanto não apresentaram resposta drástica ao longo das subculturas. "Existem evidências de que pelo menos em algum momento o declínio do potencial morfogênético pode ser devido a alteração do balanço hormonal nas células ou tecidos, ou a sensibilidade das células as substâncias de crescimento exógenas. Em alguns casos é possível o restabelecimento da potencialidade das células pela modificação dos tratamentos exógenos (BHOJWANI e RAZDAN, 1983).

A superioridade encontrada nas médias do número de brotações da subcultura 1 pode ser explicada pelo fato dessa subcultura ser formada basicamente por tecidos jovens em estágio primário de crescimento, com atividade metabólica intensa, e portanto com maior atividade meristemática (ESSAU, 1988). Além disso, os tecidos dessa subcultura foram originados das plântulas recém germinadas, e conseqüentemente, possuem reserva de hormônios produzidos na raiz, folhas e ápice caulinar necessários para o crescimento e diferenciação celular. "As citocininas presentes nos tecidos vasculares se movem passivamente com outros solutos de

acordo com as relações de fonte e dreno. Os drenos principais de citocinina são partes meristemáticas da planta que tem potencial de crescimento como por exemplo: folhas jovens, gemas, internós jovens, sementes em desenvolvimento, frutos e evidentemente o ápice da raiz. Além disso, quando aplicam citocinina exógena as plantas intactas ou a órgãos de plantas, eles na maioria das vezes aplicam esse regulador nas áreas de depósito ou nas áreas de síntese de citocinina, por que são essas partes as que produzem mais resposta" (MOORE, 1979).

Nas subculturas 1, 2 e 3, o efeito da auxina foi negativo provavelmente pela interferência desse regulador no ciclo celular. Segundo GOULD (1989), a retirada de 2,4 D exógeno de culturas diplóides de *Daucus* resultou numa redução total do ciclo celular de 51 para 33 horas. Essa redução é alcançada inteiramente as custas da fase G1 do ciclo. Essa afirmação não está de acordo com o encontrado por GOULD et alli (1981). Esses autores mostraram que culturas de células em suspensão de *Acer pseudoplatanus* crescidas sem a auxina sintética 2,4 D cesavam a atividade de divisão celular após um curto período de crescimento exponencial.

Figura C. MULTIPLICAÇÃO DAS BROTAÇÕES DE *DALBERGIA NIGRA* (Fr. ALLEN)
APÓS 3 SUBCULTURAS



Figura 8 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BAP NO NÚMERO DE BROTAÇÕES APÓS TRÊS SUBCULTURAS (105 DIAS).

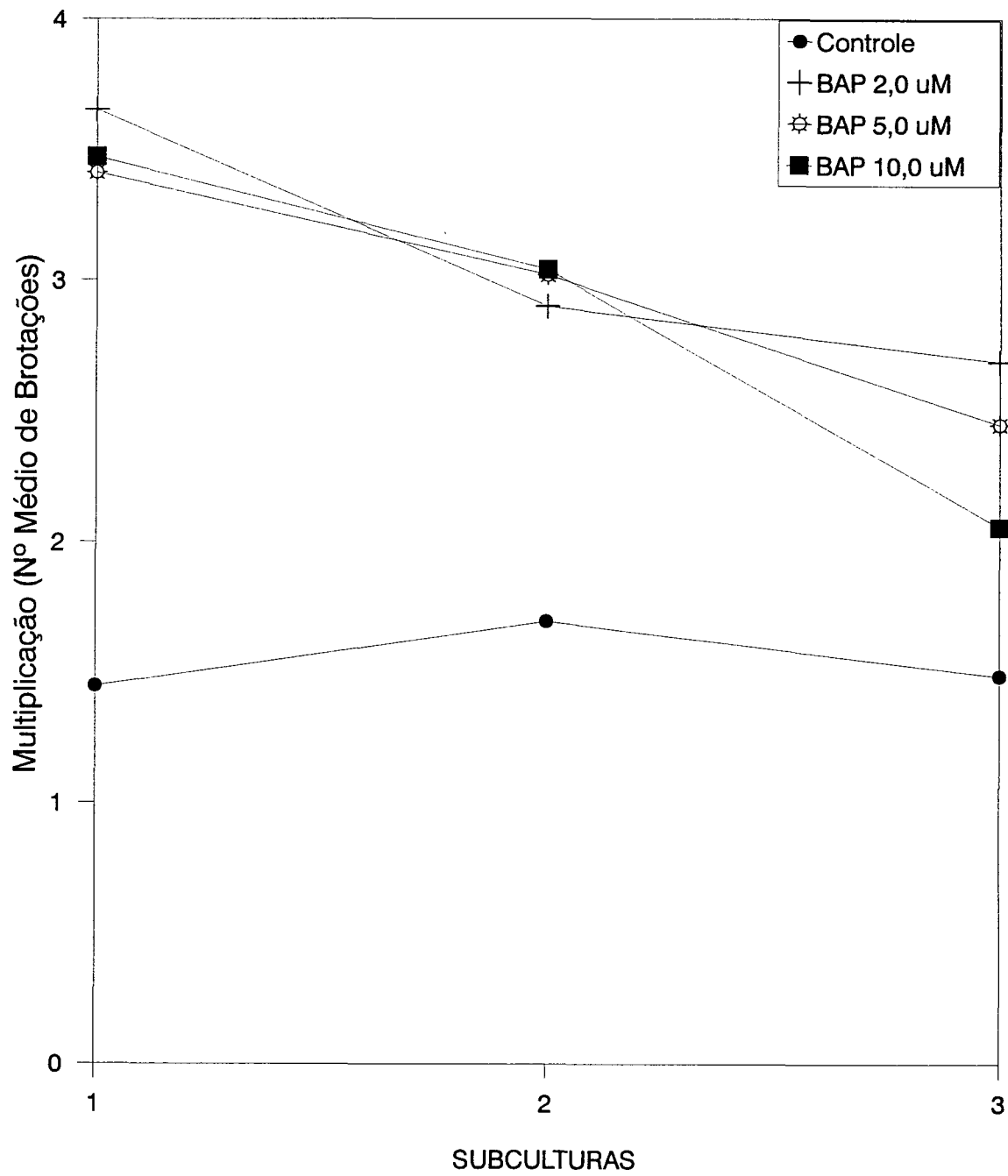
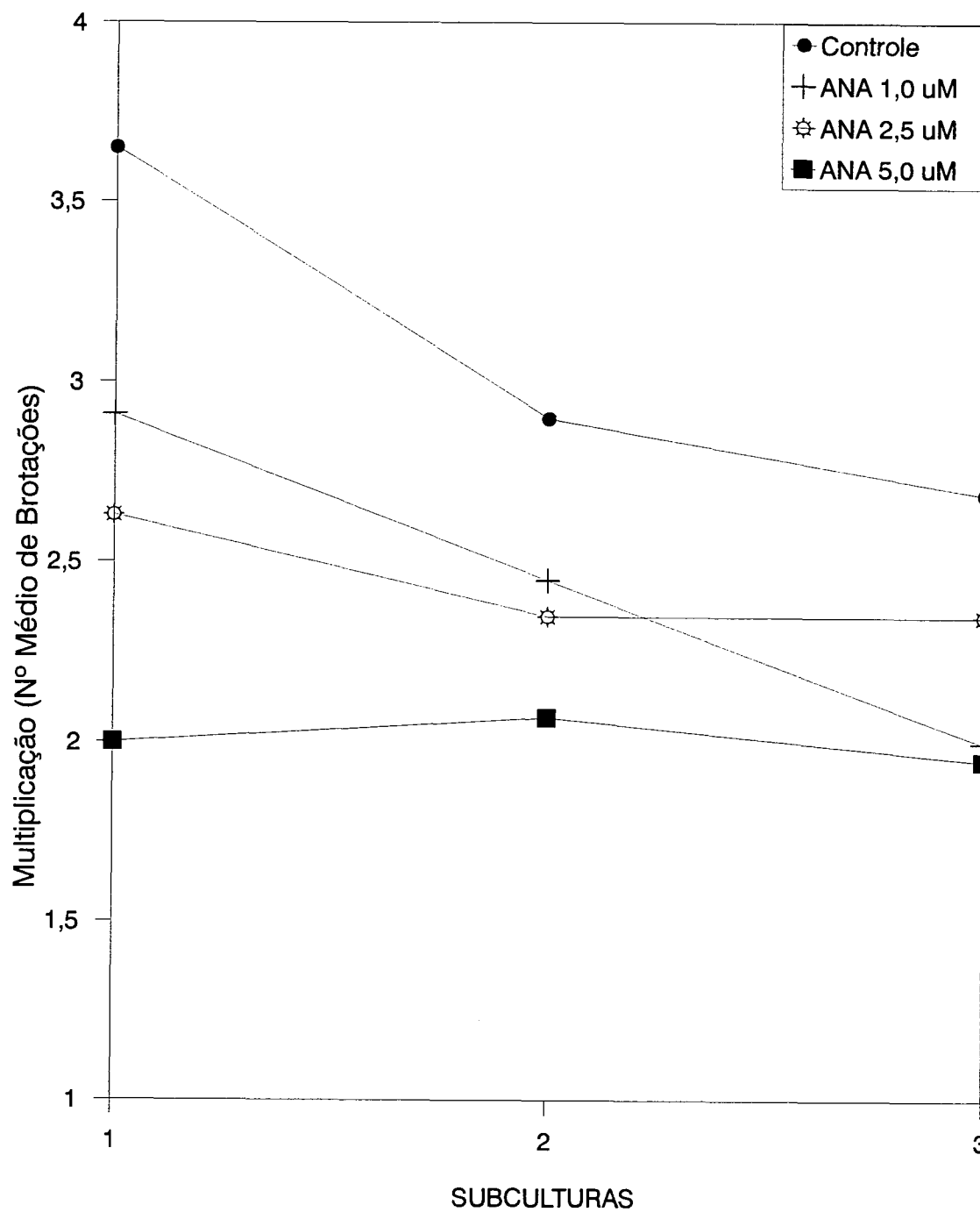


Figura 9 - EFEITO COMBINADO DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP A 2 μ M E ANA NO DESENVOLVIMENTO DE BROTO APÓS TRÊS SUBCULTURAS (105 DIAS).



4.7. COMPRIMENTO DAS BROTAÇÕES NAS SUBCULTURAS 1, 2 E 3.

Da mesma forma que ocorreu para o número de brotações, o comprimento das brotações da subcultura 1 foi o maior para todos os tratamentos, exceto para o tratamento onde a concentração dos reguladores foi de 5,0 uM de BAP (Figura 10) ou a combinação de 10 uM de BAP + 5,0 uM de ANA (Figura 11). Nestes tratamentos a subcultura 2 e 3 apresentaram médias mais altas ou iguais a subcultura 1.

A maior média encontrada para o comprimento das brotações (1,83 cm) foi na subcultura 1 no tratamento em que se adicionou BAP à 10 uM. Ainda nesse tratamento, nas subculturas 2 e 3, apesar dos comprimentos encontrados serem mais baixos do que a subcultura 1, estes foram maiores do que as médias do comprimento de brotações do controle (Figura 10).

O declínio de incremento do comprimento das brotações ao longo das subculturas nesse tratamento (10 uM BAP) pode ser explicado pelo acúmulo de citocinina nos tecidos até níveis críticos. "Tem sido repetidamente mostrado que um tratamento de período curto de tempo com reguladores de crescimento é mais efetivo na produção de resposta morfogênica nos tecidos do que a presença contínua por longos períodos desse regulador no meio de cultura (BONGA e DURZAN, 1987).

A presença de auxina não influenciou as médias da subcultura 2 e 3, sendo que ao contrário do que ocorreu na subcultura 1 quando a presença de auxina causou declínio do comprimento das brotações. Isto pode ser indicativo de que a

presença de auxina endógena na subcultura 1 era ideal e com isso a suplementação exógena provocou queda das médias. "Se a cultura de células não responde na primeira cultura com o padrão clássico observado por SKOOG e MULLER (1957), a explicação dada é que os níveis endógenos de auxina ou citocinina estão subótimos ou supraótimos. Por exemplo, quando apenas citocinina é necessária para o meio para indução de brotações em calo, é sugerido que as células devem conter níveis ótimos de auxina endógena para alcançar o balanço apropriado de citocinina:auxina.

Figura 10 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE BAP NO COMPRIMENTO DAS BROTAÇÕES APÓS TRÊS SUBCULTURAS (105 DIAS).

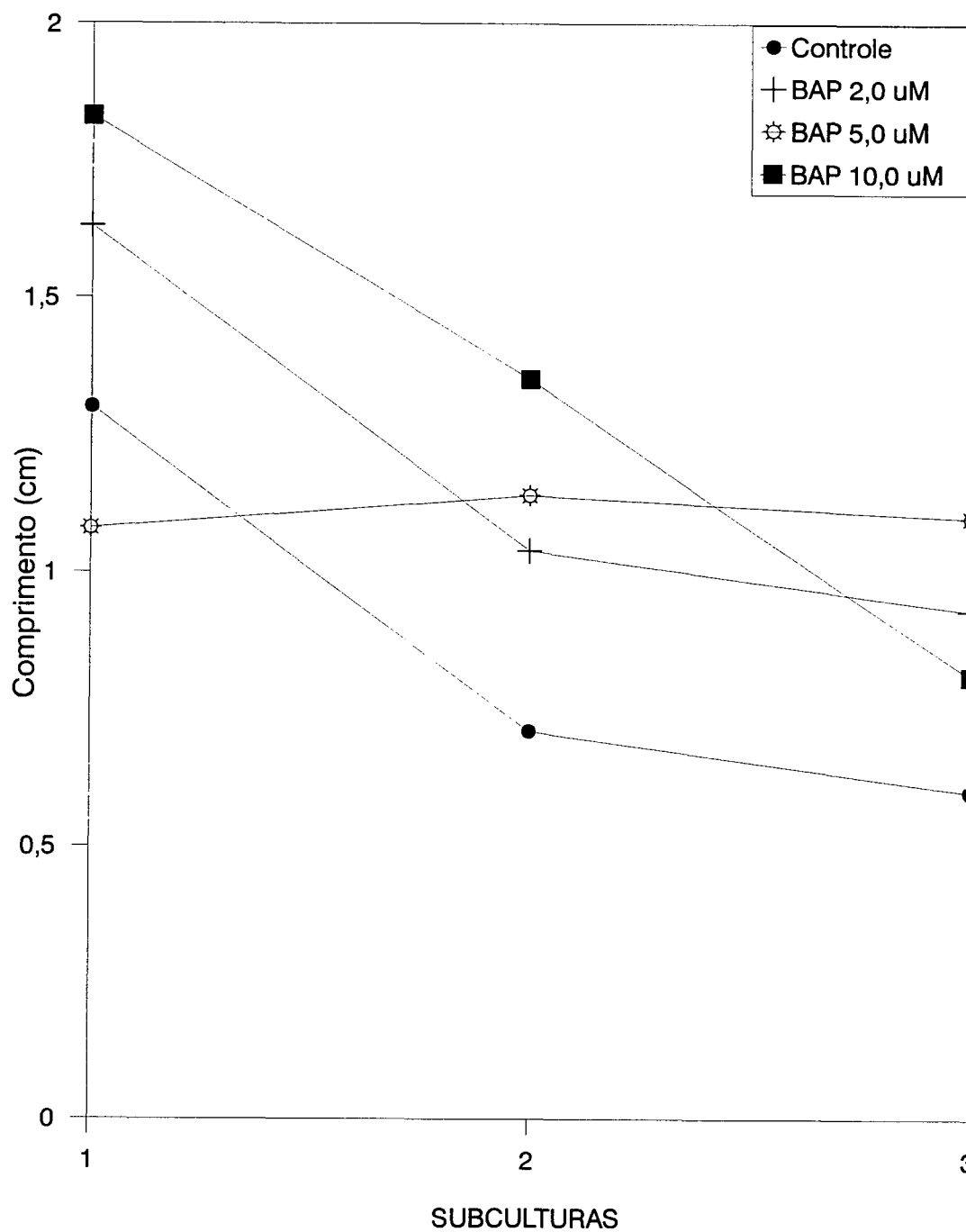
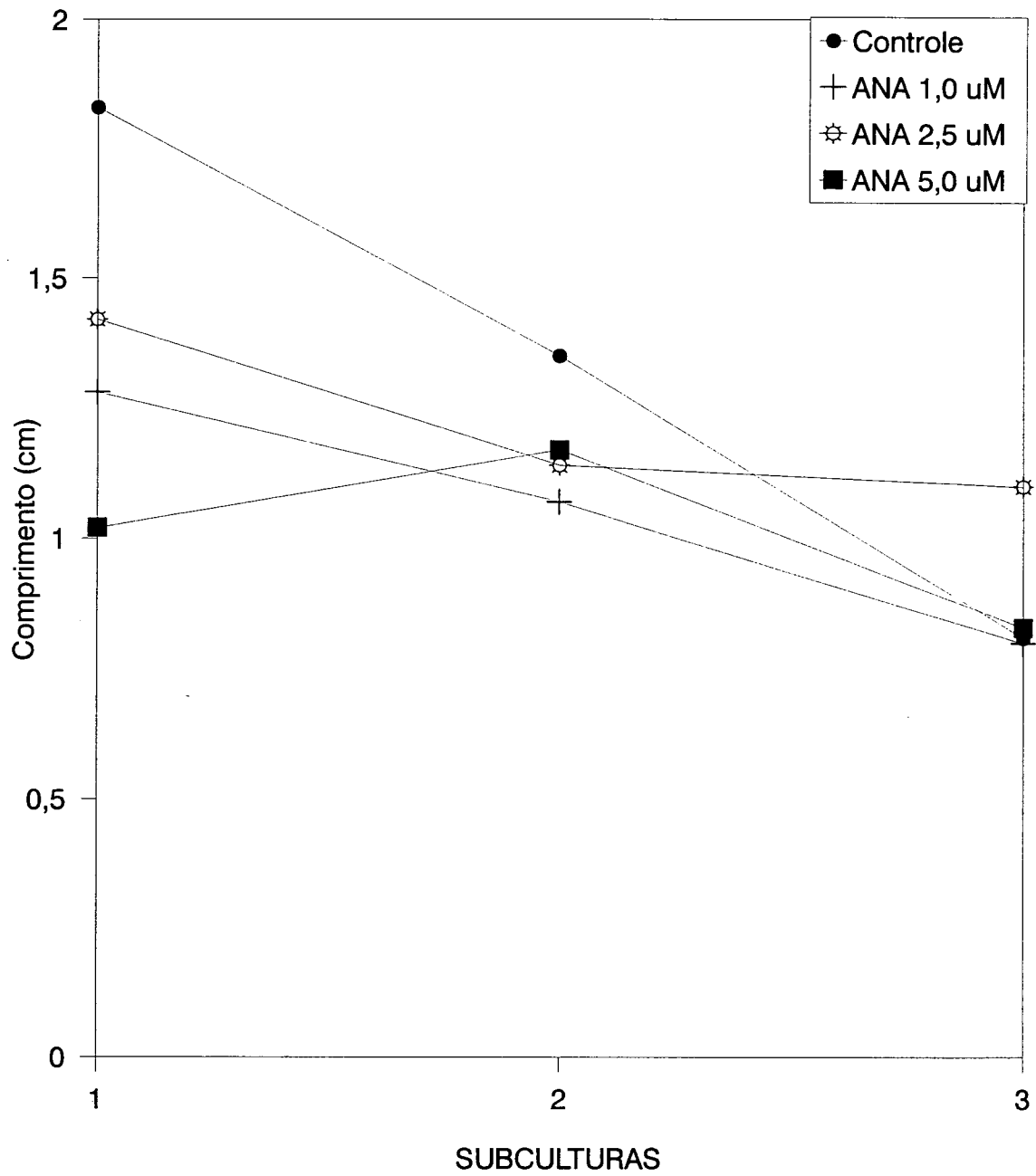


Figura 11 - EFEITO COMBINADO DAS CONCENTRAÇÕES DE ANA E DE BAP A 10 μ M NO COMPRIMENTO DAS BROTAÇÕES APÓS TRÊS SUBCULTURAS (105 DIAS).



4.8. EXPERIMENTO DE ALONGAMENTO

Este experimento foi realizado com o objetivo de se determinar qual o fator, citocinina ou nutriente, que poderia estar influenciando no alongamento das brotações. O resultado encontrado mostrou que além da citocinina algum nutriente também se encontra em concentrações supra-ótimas (Figura 12).

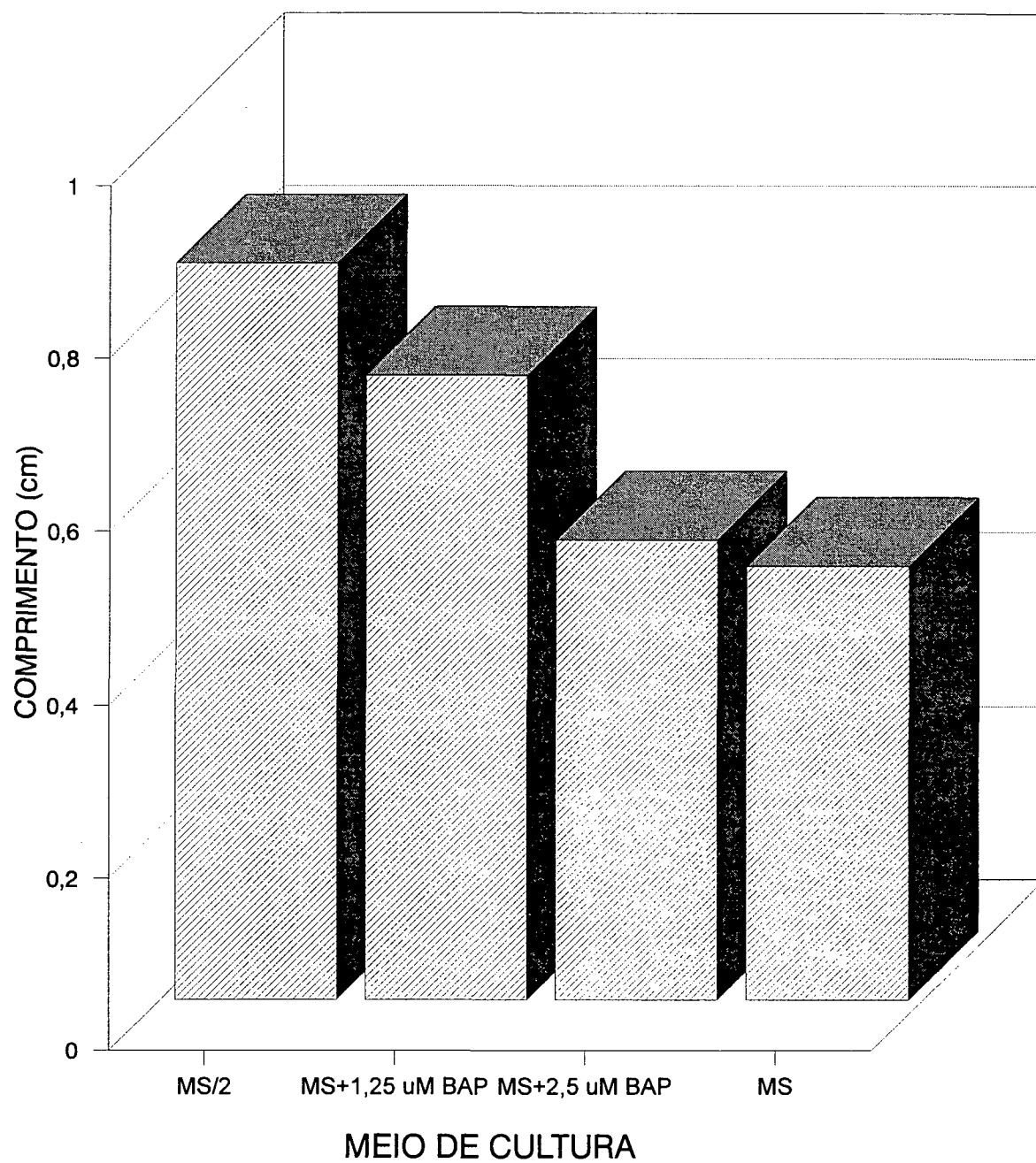
"A interação entre a formulação mineral e o efeito do regulador de crescimento pode ser determinante na indicação das concentrações apropriadas".

"Os efeitos dos reguladores de crescimento podem ser fortemente modificados pelo meio onde as culturas estão sendo crescidas". (BONGA e DURZAN, 1987).

Os nutrientes estão em níveis excessivos. Para se determinar qual ou quais destes nutrientes estão em níveis altos seria necessário a montagem de um experimento do tipo "Broad Spectrum" desenvolvido por DE FOSSARD (1977). Neste experimento 3 concentrações (baixa, média e alta) são testadas para micro e macronutrientes. Após a seleção da concentração ideal dos nutrientes, a essencialidade é determinada por eliminação.

"A concentração de micronutrientes individuais precisa estar entre seu respectivo limite de tolerância e deficiência. Alguns destes limites podem variar significativamente em resposta a outras mudanças na composição do meio como resultado de varios efeitos metabólicos e químicos interativos. A especificação do valor limite ou condição suficiente, é portanto válida somente no contexto do meio básico em que ela foi determinada (BONGA e DURZAN, 1987).

Figura 12 - EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE BAP E COMBINAÇÃO DE SAIS MINERAIS NO ELONGAMENTO DOS BRODOS APÓS 30 DIAS.



4.10. ENRAIZAMENTO DAS BROTAÇÕES

A qualidade do meio de enraizamento é vital para o sucesso no estágio de aclimação das plântulas geradas "in vitro". Segundo SOMMER e CALDAS (1981), a ótima sobrevivência das plântulas depende do desenvolvimento de um bom sistema vascular entre a raiz e os brotos, e uma boa relação de tamanho raiz: broto (BONGA e DURZAN, 1987). GROUT e ASTON (1990), demonstraram que plantulas de couve-flor enraizadas "in vitro" tinham a conexão vascular entre o broto e a raiz incompleta e isto restringia o movimento de água.

De acordo com essa afirmação, a *Dalbergia nigra* apresenta ótimo potencial para sobrevivência, pois as raízes formadas "in vitro" são na maioria das vezes originadas do sistema vascular do broto e não do calo que eventualmente é formado na base do explante.

Entre os fatores que afetam o enraizamento estão a idade e o estágio de desenvolvimento da planta. Na maioria dos casos a formação de raízes é muito mais fácil de induzir em plantas jovens do que em plantas adultas, embora as razões para isso não estejam claras (GROUT e ASTON, 1990).

O número de subculturas também influencia a formação de raízes. "Segundo NORTON e NORTON, a formação de raízes em brotos subcultivados repetidamente declinou com as subculturas. Esse declínio no potencial de enraizamento é menos rápido em meio que contém 2iP do que em meio que contém BAP. Por outro lado, NOITON et alli (1986), mostraram que em maçã (cultivar apple) a porcentagem de enraizamento aumentava com o aumento das subculturas. Isto pode ser explicado

pelo rejuvenescimento que ocorre, especialmente em lenhosas, com sucessivas subculturas. (PIERRIK, 1987).

Em ambos os experimentos desse trabalho a concentração de sacarose foi reduzida a metade. "Os estudos de enraizamento e carboidratos indicam que existe um requerimento de nível e classe de quantidade e qualidade para carboidratos, e o mais importante é que existe uma interação entre o suprimento de carboidratos e o status hormonal, especialmente auxinas do explante. Estudos com explantes de *Pinus lambertiana* mostraram que o enraizamento devido a sacarose, poderia ser acrescido pela adição de 1uM de AIA ao meio. Essa estimulação ocorria em qualquer concentração de sacarose.(BONGA e DURZAN, 1987).

No experimento 1, o enraizamento foi alcançado em 93,33% dos explantes no tratamento em que se suplementou 4uM de ANA no meio de cultura. O resultado desse experimento mostrou que das 2 auxinas testadas o ANA é o mais eficiente para a rizogênese em *Dalbergia nigra*. Segundo BREEN e MURAOKA (1973) o AIB quando aplicado a ameixa não afetou significativamente a assimilação de $^{14}\text{CO}_2$, a translocação de substâncias marcadas, até o momento de formação do calo. A partir da formação desse calo ocorre um aumento de até 6 vezes na acumulação de assimilados marcados na base da raiz.

Em uma análise da distribuição de carboidratos e aminoácidos em explantes de *Pinus lambertiana* tratados com ANA, foi encontrado que explantes tratados com essa auxina apresentam acumulação basipetal de carboidratos (HALSSIG, 1982).

O AIA continua sendo o candidato mais aceito como promotor endógeno do alongamento radicular, embora seu efeito seja claramente dependente de outros

hormônios e inibidores (SCOTT, 1984).

No experimento 2 o tratamento de melhor resultado (66,7% de enraizamento) e o tratamento de segundo melhor resultado (50% de enraizamento) foram respectivamente os que utilizaram a maior concentração de auxinas com menor período de exposição, e o com menor concentração de auxinas com maior período de exposição. Este resultado mostra que não apenas a concentração de auxina suplementada exogenamente influencia o enraizamento, mas também o período no qual o explante foi submetido. Dependendo da concentração o AIA pode estimular ou inibir o alongamento das células da raiz. Geralmente baixas concentrações de auxina aumentam o alongamento celular de raízes intactas (THIMANN, 1936 e BURSTROM, 1969) ou raízes isoladas (EDWARDS e SCOTT, 1974; 1976; 1977; ELLIOT, 1977) mas o efeito é pequeno. Por outro lado, a inibição por altas concentrações de auxina é grande e facilmente demonstrável em ambos tipos de raízes intactas ou isoladas (SCOTT, 1984).

Ainda sobre o experimento 2, este foi montado com base nos experimentos realizados por RAVISHANGAR e CHANDRA (1989), com *Dalbergia sisso* onde foi utilizado meio MS/2 líquido suplementado com ANA, AIB, AIA (5×10^{-6} M cada) por 72 horas e posterior transferência para MS/2 líquido sem reguladores de crescimento. Enraizamento também foi alcançado em *Dalbergia latifolia* por LAKSHMI e SWAMY (1992) que utilizaram MS + AIA (5×10^{-6} M, $2,4 \times 10^{-5}$ M) ou ANA (5×10^{-6} M, $2,6 \times 10^{-5}$ M).

Os explantes do experimento número 2 de enraizamento foram mantidos durante 15 ou 30 dias no meio de indução e depois transferidos para meio sem

suplementação de reguladores. Esta passagem é necessária para que o status fisiológico dos explantes seja condicionado a rizogênese. "O controle da iniciação e crescimento das raízes é complexo e sujeito à vários fatores que interagem. Nesse fenômeno estão incluídos idade fisiológica, condição hormonal e nutricional do explante" (BONGA e DURZAN, 1987).

Uma vez que na maioria dos estudos sobre controle de enraizamento tem se utilizado explantes de plantas intactas e esses fenômenos variam pela manipulação das condições de crescimento da planta stock, assim como pela aplicação de substâncias exógenas ao explante, é difícil modificar qualquer fator sem afetar os outros. Portanto existem na literatura publicações contraditórias a respeito da essencialidade de certos fatores no processo de enraizamento. (BONGA e DURZAN, 1987).

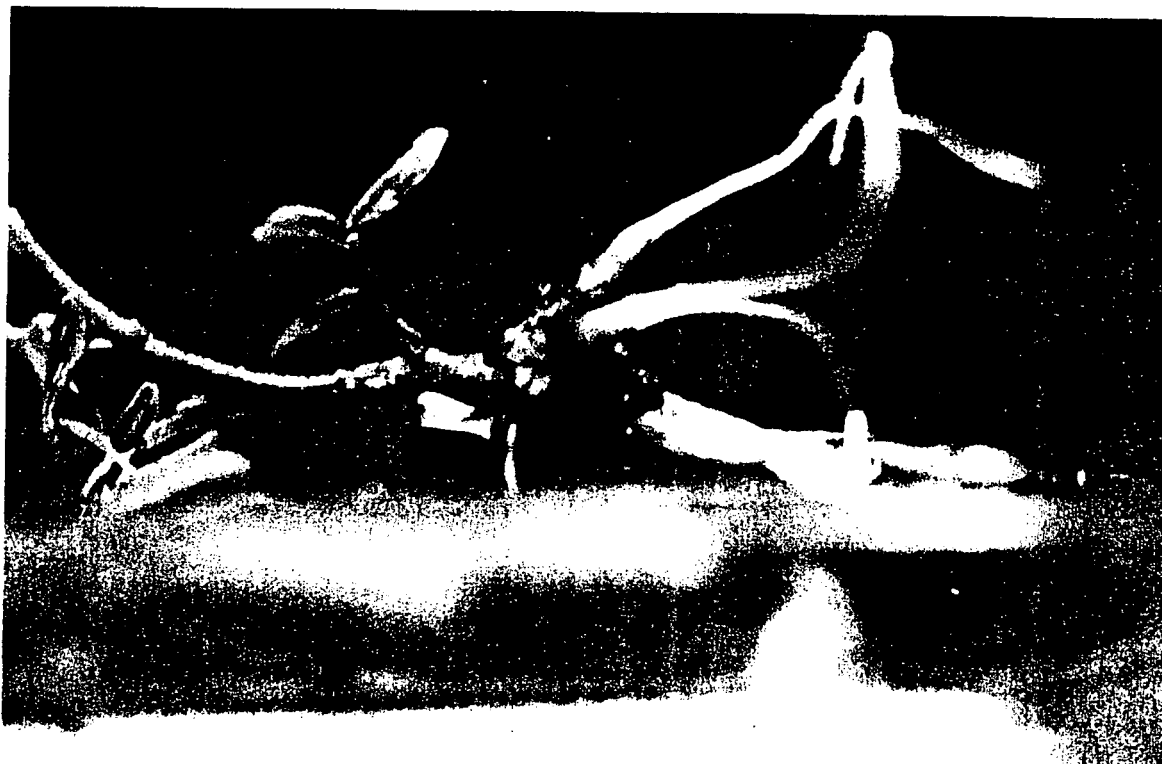
TABELA 39- RESULTADO DO EXPERIMENTO DE ENRAIZAMENTO 1

TRATAMENTO	NOME	% ENRAIZAMENTO	NUM. RAÍZES (X)
2 uM ANA	1	0	0
2 uM AIB	2	6,66	0,2
4 uM AIB + 2 uM ANA	3	33,33	0,8
2 uM AIB + 4 uM ANA	4	26,66	1
4 uM AIB	5	0	0
4 uM ANA	6	93,33	3,73
2 uM AIB + 2 uM ANA	7	0	0
4 uM ANA + 4 uM ANA	8	0	0
CONTROLE	9	0	0

TABELA 40 - RESULTADO DO EXPERIMENTO DE ENRAIZAMENTO 2

TRATAMENTO	NOME	TEMPO DE EXPOSIÇÃO	% ENRAIZAMENTO	Nº RAÍZES (X)
5 uM AIA + 5 uM AIB + 5 uM ANA	1	15 DIAS	13,33	0,2
8 uM AIA + 8 uM AIB + 8 uM ANA	2	15 DIAS	66,66	2,26
5 uM AIA + 5 uM AIB + 5 uM ANA	3	30 DIAS	50	1,8
8 uM AIA + 8 uM AIB + 8 uM ANA	4	30 DIAS	47,05	1,29

Figura D. ENRAIZAMENTO "IN VITRO" DE *DALBERGIA NIGRA* (Fr. Allem)



4.11. EXPERIMENTO DE ACLIMATAÇÃO

As dificuldades resultantes da transferência das plântulas das condições de cultura de tecidos para o solo são revisadas por CONNER e THOMAS (1981). As conclusões desses pesquisadores foi que o pouco controle de perda de água e a mudança do estado nutricional hetero para autotrófico são as principais causas das perdas na transferência.

Ao longo de todas as subculturas o suprimento de carboidratos foi fornecido pelo meio de cultura, e portanto, as plântulas não dependiam da fotossíntese para a biossíntese de carboidratos. Assim antes da transferência para o solo o aparato enzimático formado pelas enzimas: ferredoxina NADP, oxiredutase, ribulose 1,5 bifosfato carboxilase-oxigenase (RuDP-carboxilase), transketolase, etc; e os pigmentos (clorofilas, carotenóides, ficobilinas) devem ser biossintetizados para o funcionamento do processo fotossintético.

A transferência das plântulas do Jacarandá da Bahia das condições "in vitro" para o solo foi difícil. Principalmente pela grande queda de folíolos nos primeiros dias após a transferência. A passagem das plântulas por um período somente na vermiculita "in vitro" pode ter facilitado a estruturação do sistema radicular ao novo ambiente de crescimento.

Alguns princípios gerais foram enumerados por SOMMER e CALDAS (1981), para a transferência para o solo. Os pontos essenciais são: primeiro deve haver um balanço entre raiz e broto. Um desequilíbrio no sistema pode levar a formas de crescimento impróprio. As plântulas devem ser submetidas a uma transição gradual

(2 a 3 semanas) de um regime de alta umidade para um regime variável e de baixa umidade na casa de vegetação ou campo. Isto pode ser conseguido por pulverização na casa de vegetação ou uma cobertura de plástico. Terceiro, cuidados devem ser tomados para remover todos os traços de ágar por que eles servem de substrato para crescimento de patógenos. Tratamento com fungicida pode ser uma boa prática. Finalmente, alguma sombra é necessária para prevenir queima de folhas durante a transição das condições de laboratório para as condições de luz do sol. Cuidados também devem ser tomados na escolha do recipiente onde as plantas serão enraizadas. Recipientes que não permitem o crescimento da raiz para os lados e fundo causam a malformação e o anelamento da raiz. (SHARP et alli, 1984).

PORCENTAGEM DE SOBREVIVÊNCIA DAS PLÂNTULAS ENRAIZADAS TRANSFERIDAS PARA O SOLO.

TRATAMENTOS	SOBREVIVÊNCIA
1. MUDAS TRANSFERIDAS DIRETO DO AGAR PARA A TERRA VEMICULITA	14,6%
2. MUDAS MANTIDAS DURANTE 30 DIAS EM VEMICULITA + MS LÍQUIDO "IN VITRO", ANTES DE SEREM TRANSFERIDAS PARA TERRA	62,49%

5. CONCLUSÕES

- 1 - A micropropagação "in vitro" a partir de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell) é viável.
- 2 - Na germinação "in vitro" o tratamento que se obtém maior porcentagem de germinação (73,3 %) é o que utiliza água na embebição das sementes (8 horas), peróxido de hidrogênio (40 %) como agente desinfestante, e as sementes são inoculadas sem tegumento em meio MS suplementado de PVP (1g/l).
- 3 - Na primeira subcultura da fase de multiplicação o explante que apresenta mais alta taxa de multiplicação (1,7 brotações) é o nó cotiledonar. O explante que mais se alonga é o ápice caulinar (1,37 cm). Finalmente o explante que apresenta maior incremento de folhas é o nó cotiledonar (2,9).
- 4 - O tratamento em que se utiliza a concentração de 2 μ M de BAP em meio MS é o que se obtém maior média de multiplicação ao longo de

três subculturas (3,1 brotações).

- 5 - O tratamento que utiliza 10 uM de BAP em meio MS é o que produz a maior média de comprimento de brotações ao longo de três subculturas (1,3 cm).
- 6 - O alongamento das brotações é obtido em meio MS/2.
- 7 - O tratamento que fornece a maior taxa de enraizamento (93,3%) é o que se utiliza 4 uM de ANA durante 30 dias de incubação.

6. CONSIDERAÇÕES

- 1 - Apesar das médias das taxas de multiplicação serem baixas alguns clones demonstram grande capacidade de multiplicação (7 brotações por explante). Isto pode ser devido ao fato das sementes terem sido originadas de polinização aberta e portanto pacíveis de grande variabilidade genética.
- 2 - Futuros trabalhos podem ser feitos com o objetivo de desenvolver novos clones utilizando alta variabilidade como fator de seleção.
- 3 - Novos trabalhos devem ser feitos para incrementar a porcentagem de sobrevivência das plântulas transferidas para o solo, uma vez que a perda de folíolos é grande e representa fator limitante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO, A.J.; GOLD, M.; REYNOSO, F. Genetic rescue and germoplasm conservation of *Pinus occidentalis*, Dominican Republic, Instituto superior de agricultura. 1992, 30 p.
- BARKER, P.K.; DE FOSSARD, R.A.; BOURKE, R.A. Progress toward clonal propagation of *Eucalyptus* species by tissue culture techniques. In: INTERNATIONAL PLANT PROPAGATOR SOCIETY. Seattle, v.27, p. 546 - 556, 1977.
- BENNET, I.J.; COMB, J. Propagation of jarrah (*Eucalyptus marginata*) by organ and tissue culture, Australian Forest Research. East Melbourne, v.12, n.2 p. 121 - 127, 1982.
- BHOJWANI, S.S.; RAZDAN M.K. Plant tissue culture; theory and practice, Amsterdam: Elsevier, p. 54-95, 1983.
- BONGA, J.M.; DURZAN D.J. Tissue culture in forestry. Dordrecht, M. Nijhoff, p.420, 1982.
- BREEN, P.J.T. Effect of indol-butyric acid on distribution of C¹⁴ - photosynthate in softwood cuttings of mariana, Journal of American Society of Horticultural Science, v. 98, p. 436-439, 1973.
- CALDAS, L.S.; TORRES, A.C. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. EMBRAPA - CNPH, Brasília, p. 24 - 32. 1990.
- CARVALHO, A.M.V. Os Jacarandás da Bahia, Agrotrópica. Centro de Pesquisa do Cacau, Ilhéus, Bahia, Brasil. v. 2 n.1, p. 1-10. 1990.
- CONNER, A. J.; THOMAS, M.B. Reestablishing plantlets from tissue culture. International Plant Propagators Society. Combined Proceedings. n.31, p. 342 - 357. 1981.
- DATTA , S.K.; DATTA , K. Auxin induced regeneration of forest trees - *Dalbergia sisso* Roxb. through tissue culture, Current Science, Bangalore. v. 52, n.9, p. 301 - 305, 1983.
- DAWRA, S.; SHARMA, D.R.; CHOWDMURY, J.B. Clonal propagation of *Dalbergia sisso* Roxb. through tissue culture. Current Science, Bangalore, v. 53, n. 15, p. 807 - 809, 1984.
- DAVIES, P.J. (ed.) Plant hormones and their role in plant growth and development. Londres. 1985.

- FONSECA, C.E.L.; BUENO, D.M.; SPERÂNDIO J. Comportamento do Jacarandá da Bahia aos cinco anos de idade em quatro diferentes espaçamentos em Manaus AM, Revista *Árvore*, Viçosa, v. 14, n. 2, p. 78 - 84, 1990.
- FONSECA, C.E.L. et alli. Propagação vegetativa do Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra* Fr. Allen) através de estaquia. Manaus: EMBRAPA/UEPAE de Manaus, 1990.
- GALVÃO, A.P.M.; FERREIRA, C.A.; TEIXEIRA, L.B. Comportamento de espécies florestais em povoamento puro na Amazonia. Manaus, EMBRAPA-UEPAE de Manaus, 1981.
- GALVÃO, A.P.M.; FERREIRA, C.A.; TEIXEIRA, L.B. Observações sobre o comportamento do Jacarandá da bahia (*Dalbergia nigra* Fr. Allen) em povoamento puro na Amazonia. IPEF, Piracicaba n. 19, p. 47 - 59, dez 1979.
- GAMBORG, O.L.; WETTER, L.R. Plant tissue culture methods. Saskatoon: National Research Council of Canadá, 1968, p. 109.
- GEORGE, E.F.; SHERINGTON, P.D. Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories, Local: Editora, v.1, p. 690. 1984
- GEORGE, E.F.; SHERINGTON, P.D. Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories, Local: Editora, v. 2, p. 73, 1984.
- GROUT, T.; ASTON, H. Transplanting of cauliflower plants regenerated from meristem culture: water loss and water transfer related to changes in leaf wax and xylem regeneration, Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Dordrecht, New York. n. 23, p. 115-123, 1990.
- GOULD, R. Critical review in plant science Periodical, v.1, n.4, p.23, 1989.
- GOOWIN, T.W.; MERCER E.I. Introduction to plant biochemistry. 2 ed. Londres: Pergamon Press, p.150, 1983.
- HALSSIG, B. Carbohydrate and amino acid concentrations during adventitious root primordium development in *Pinus banksiana* Lamb. Cuttings For Science, v. 28, p. 813 - 821, 1982.
- HARTNEY, V.J. Tissue culture of Eucalyptus. In: International Plant Propagators Society. Combined Proceedings. Seattle, v. 32, p. 98 - 109, 1982.
- ESSAU, K. Anatomia das plantas com semente. São Paulo: Edgard Blucher p. 30-64, 1988.

- LEÃO, A.C.; VINHA, S.G. Ocorrência do Jacarandá da bahia no sul da Bahia. *Cacau Atualidades*, Ilhéus v. 12, n. 4, p. 22 - 27, 1975.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, Plantarum, 1992.
- MOORE, T. Biochemistry and physiology of plant hormones. New York: Springer Verlag, 1979.
- MUKHOPADHYAV, A.; RAN, H.Y. Regeneration of plantlets from excised roots of *Dalbergia sisso* Roxb. Indian Journal Experimental Biology, New Delhi, v. 19, p. 1113 - 1115, 1981.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. Revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, Copenhagen v.15 p. 473 - 497, 1962.
- PIERIK, R.L.M. In vitro culture of higher plants. New York: M. Nijhoff, p. 110, 1987.
- RAY, V.; RAVISHANGAR K.; CHANDRA, S. Micropropagation of indian rosewood by tissue culture. Annals of Botany, London, v. 64, p. 43 - 46, 1989.
- RAY, V.; CHANDRA, S. In vitro regeneration of plantlets from shoot callus of mature trees of *Dalbergia latifolia*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Dordrecht, v.13, p. 77 - 83, 1988.
- RECORD, S.J.; MELL, C.D. Timbers of tropical america. New Haven, Yale University, p. 610, 1924.
- RIZZINI, C.T. Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia brasileira. São Paulo: E. Blucher, p. 294, 1978.
- ROBERTS, D.; JEREMY, A.; HOOLEY, R. Plant growth regulators. New York: Black Ed. p. 120 - 165, 1983.
- RHODES, J.M.; WOOLTOR, L.S.C. The biosynthesis of phenolic compounds in wounded plant storage tissue. Berlin: W. de Gruyter, p. 243 - 286, 1978.
- SCOTT, T.K. (ed.). Hormonal regulation of development. In: *Encyclopedia of plant physiology; the function of hormones from the level of the cell to the whole plant*. v. 10, p. 350 - 394, 1984.
- SHARP, W.R. et alli (ed). Handbook of plant cell culture. New York. v. 2, 1984.

- SOMMER, H.E.; CALDAS, L.S. In vitro methods applied to forestry trees. Plant tissue culture, methods and applications in agriculture. New York: Academy Press, p. 349 - 358, 1981.
- SOUZA, G.S. Tratado descritivo do Brasil. Boletim Geográfico. v. 22 n. 178 p. 55 - 82, 1964.
- SUDHADEVI, A.M.; NATAJARA, K. In vitro regeneration and establishment of plantlets in stem cultures of *Dalbergia latifolia* Roxb. Dharwad: Karnataka University, Department of Botany, 1987.
- SITA, G.; LAKSHMI, M.; SWAMY, B.V. Aplication of cell and tissue culture technology for mass propagation of elite trees with special reference to rosewood (*Dalbergia latifolia* Roxb.). Bangalore: Indian Institute of Science, 1992.
- SUDHADEVI, A.M.; NATAJARA, K. Establishment of plantlets in hypocotyl cultures of *Dalbergia latifolia* Roxb., Indian Journal of Forestry, Dehra Dun. v. 10, n. 1, p. 1 - 6, 1987.
- WANG, N.P.; EVERETT, A.R.; GOULD, H.E. Studies on the control of the cell cycle in cultured plant cells, the effect of cytokinin. Protoplasma. n. 106, p. 23-25, 1981.

APÊNDICE

TABELA 2 A - ANÁLISE DE VARIANCA DO EXPERIMENTO DESINFETAÇÃO DOS SEGMENTOS NODAIS

F.V	G.L	S.Q.	Q.M.	F	PROB.F
ASSEPSIA	2	14,3325	7,1662	2,1744	0,1945
RESIDUO	6	19,7740	3,2956		
TOTAL	8	34,1066			

MEDIDA GERAL = 4,4704 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 40,609%

TABELA 2B- RESULTADOS DA VARIANCA E COMPARAÇÃO DE MÉDIAS PARA CONTRASTE ORTOGONAL PARA A DESINFETAÇÃO DOS SEGMENTOS NODAIS PROVINDOS DA CASA DE VEGETAÇÃO.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
TRATAMENTOS	3	2251,79	750,59	6,37*
CON.TES x TRA	1	857,70	857,70	7,28*
ERRO	8	942,144	117,768	

TABELA 2C- TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ASSEPSIA DOS SEGMENTOS NODAIS

NUM.ORDEM	NUM.TRAT	NOME	NUM.REP	MEDIAS	MÉD ORIGIN	5%	1%
1	2	7 min	3	6,2200	382987	a	A
2	1	10 min	3	3,8552	14,3629	a	A
3	3	13 min	3	3,3272	10,5702	a	A

TABELA 3A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIANCA DOS RESULTADOS DO CONTROLE DA FIGURA 2

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.>F
EXPLANTE	2	0.0000134	0.0000	1.00000
RESIDUO	66	0.0000134		
TOTAL	68	0.0000000		

MEDIDA GERAL = 0.707107 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 0.064%

TABELA 3 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO CONTROLE

NUM.ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	23	0.707107	a	A
2	2	CAULE	23	0.707107	a	A
3	3	BASE	23	0.707107	a	A

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.00032 - D.M.S. 1% = 0.00040

TABELA 4 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIANCA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2uM BAP DA FIGURA 2A.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.>F
EXPLANTE	2	4.3591576	15.9954	0.00002
RESIDUO	72	9.8109544		
TOTAL	74	14.1701120		

MEDIDA GERAL = 1.457532 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 25.326%

TABELA 4 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 uM BAP

NUM.ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	1.689282	a	A
2	1	APICE	25	1.558225	a	A
3	3	CAULE	25	1.125088	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.25013 - D.M.S. 1% = 0.31421

TABELA 5 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 5uM BAP DA FIGURA 2A.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.>F
EXPLANTE	2	5.1041571	29.7492	0.00001
RESIDUO	72	6.1766257		
TOTAL	74	11.2807828		

MEDIDA GERAL = 1.391494 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 21.049%

TABELA 5 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 5 uM BAP

NUM.ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	1.627738	a	A
2	1	APICE	25	1.518779	a	A
3	3	CAULE	25	1.027965	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.19846 - D.M.S. 1% = 0.24931

TABELA 6 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10uM BAP DA FIGURA 2A.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.>F
EXPLANTE	2	0.3205308	1.0282	0.36413
RESIDUO	72	11.2221971		
TOTAL	74	11.5427279		

MEDIDA GERAL = 1.483048 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 26.621%

TABELA 6 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 uM BAP

NUM.ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	1.546030	a	A
2	3	CAULE	25	1.510166	a	A
3	1	APICE	25	1.392947	a	A

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.26751 - D.M.S. 1% = 0.33605

TABELA 7 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2uM BAPx1uM ANA DA FIGURA 3.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.>F
EXPLANTE	2	0.6407669	2.8611	0.06208
RESIDUO	72	8.0623990		
TOTAL	74	8.7031658		

MEDIDA GERAL = 1.335649 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 25.054%

TABELA 7 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 uM BAP x 1 uM ANA

NUM.ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	1.461359	a	A
2	1	APICE	25	1.303830	a	A
3	3	CAULE	25	1.241757	a	A

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.22675 - D.M.S. 1% = 0.28484

TABELA 8 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2uM BAP x 2,5 uM ANA DA FIGURA 3.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.>F
EXPLANTE	2	1.2048319	3.9937	0.02207
RESIDUO	72	10.8607012		
TOTAL	74	12.0655332		

MEDIDA GERAL = 1.282885 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 30.274%

TABELA 8 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 uM BAP x 2,5 uM ANA

NUM.ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	25	1.386242	a	A
2	2	BASE	25	1.358030	ab	A
3	3	CAULE	25	1.104382	a	A

TABELA 9 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2uM BAPx 5uM ANA DA FIGURA 3.

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.>F
EXPLANTE	2	1.2519459	11.0432	0.00019
RESIDUO	72	4.0812496		
TOTAL	74	5.3331955		

MEDIDA GERAL = 0.960325 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 24.792%

TABELA 9 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 uM BAP x 5 uM ANA

NUM.ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	25	1.141923	a	A
2	2	BASE	25	0.887007	b	B
3	3	CAULE	25	0.852046	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.16133 - D.M.S. 1% = 0.20266

TABELA 10 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO CONTROLE DA FIGURA 4

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.> F
EXPLANTE	2	-0.0000134	0.0000	1.00000
RESIDUO	66	0.0000134		
TOTAL	68	0.0000000		

MEDIA GERAL = 0.707107 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 0.064%

TABELA 10 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO CONTROLE

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	23	0.707107	a	A
2	2	CAULE	23	0.707107	a	A
3	3	BASE	23	0.707107	a	A

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.00032 - D.M.S. 1% = 0.00040

TABELA 11 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 UM BAP DA FIGURA 4

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.> F
EXPLANTE	2	2.1264876	10.5960	0.00023
RESIDUO	72	7.2247387		
TOTAL	74	9.3512263		

MEDIA GERAL = 1.255116 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 25.238%

TABELA 11 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 BAP

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	25	1.376006	a	A
2	2	BASE	25	1.372349	a	A
3	3	CAULE	25	1.016994	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.21464 - D.M.S. 1% = 0.26964

TABELA 12 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 5 UM BAP DA FIGURA 4

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.> F
EXPLANTE	2	1.2846712	19.0563	0.00001
RESIDUO	72	2.4269237		
TOTAL	74	3.7115949		

MEDIA GERAL = 1.193250 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 15.386%

TABELA 12 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 5 BAP

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	25	1.332399	a	A
2	2	BASE	25	1.229371	a	A
3	3	CAULE	25	1.017980	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.12440 - D.M.S. 1% = 0.1562

TABELA 13 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 UM BAP DA FIGURA 4

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.> F
EXPLANTE	2	0.0372948	0.1716	0.84365
RESIDUO	72	7.8247507		
TOTAL	74	7.8620455		

MEDIA GERAL = 1.312189 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 25.123%

TABELA 13 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP

NUM. ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	25	1.343515	a	A
2	2	BASE	25	1.299651	a	A
3	3	CAULE	25	1.293400	a	A

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.22338 - D.M.S. 1% = 0.2806

TABELA 14 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 µM BAP X 1µM DA FIGURA 5

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.> F
EXPLANTE	2	1.3844540	9.4668	0.00043
RESIDUO	72	5.2647470		
TOTAL	74	6.6492010		

MEDIA GERAL = 0.995663 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 27.159%

TABELA 14 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP x 1 ANA

NUM. ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	25	1.178013	a	A
2	3	BASE	25	0.956929	a	AB
3	2	CAULE	25	0.852046	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado

TABELA 15 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 µM BAP X 2,5 µM ANA DA FIGURA 5

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.> F
EXPLANTE	2	1.9231677	10.1348	0.00030
RESIDUO	72	6.8312962		
TOTAL	74	8.7544639		

MEDIA GERAL = 1.031152 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 29.872%

TABELA 15 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP x 2,5 ANA

NUM. ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	25	1.186046	a	A
2	3	CAULE	25	1.096775	a	A
3	2	BASE	25	0.810634	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.20872 - D.M.S. 1% = 0.262119

TABELA 16 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 µM BAP 5 µM ANA DA FIGURA 5

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB.> F
EXPLANTE	2	2.5794588	76.0001	0.00001
RESIDUO	72	1.2218479		
TOTAL	74	3.8013067		

MEDIA GERAL = 0.838242 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 15.541%

TABELA 16 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP X 5 ANA

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	25	1.100512	a	A
2	2	BASE	25	0.707107	b	B
3	3	CAULE	25	0.707107	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado
D.M.S. 5% = 0.08827 - D.M.S. 1% = 0.1108

TABELA 17 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO CONTROLE DA FIGURA 6

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB. >F
EXPLANTE	2	-0.0000134	0.0000	1.00000
RESIDUO	66	0.0000134		
TOTAL	68	0.0000000		

MEDIA GERAL= 0.707107

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 0.064%

TABELA 17 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO CONTROLE

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	1	APICE	23	0.707107	a	A
2	2	CAULE	23	0.707107	a	A
3	3	BASE	23	0.707107	a	A

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado

D.M.S. 5%=0.00032 - D.M.S. 1% = 0.00040

TABELA 18 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 uM BAP DA FIGURA 6

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB. >F
EXPLANTE	2	9.6191149	13.6474	0.00006
RESIDUO	72	25.3739844		
TOTAL	74	34.9930993		

MEDIA GERAL= 1.525372

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 38.918%

TABELA 18 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 BAP

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	2.017198	a	A
2	1	APICE	25	1.384158	b	B
3	3	CAULE	25	1.174758	b	B

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado

D.M.S. 5%=0.40226 - D.M.S. 1% = 0.50531

TABELA 19 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 5 uM BAP DA FIGURA 6

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB. >F
EXPLANTE	2	18.9726681	39.1474	0.00001
RESIDUO	72	17.4472998		
TOTAL	74	36.4199679		

MEDIA GERAL= 1.361764

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 36.149%

TABELA 19 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 5 BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	2.070456	a	A
2	1	APICE	25	1.060047	b	B
3	3	CAULE	25	0.954789	b	B

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado

D.M.S. 5%=0.33356 - D.M.S. 1% = 0.41901

TABELA 20 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 uM BAP DA FIGURA 6

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB. >F
EXPLANTE	2	5.5665665	8.3168	0.00085
RESIDUO	72	24.0954664		
TOTAL	74	29.6620329		

MEDIA GERAL= 1.441471 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 40.132%

TABELA 20 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 10 BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	1.815242	a	A
2	3	CAULE	25	1.335534	b	AB
3	1	APICE	25	1.173638	b	B

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado

D.M.S. 5%=0.39199 - D.M.S. 1% = 0.49242

TABELA 21 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 uM BAP X 1uM ANA DA FIGURA 7

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB. >F
EXPLANTE	2	5.5078493	9.8038	0.00036
RESIDUO	72	20.2250546		
TOTAL	74	25.7329039		

MEDIA GERAL= 1.345447 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 39.392%

TABELA 21 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 BAP x 1 ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	1.727759	a	A
2	1	APICE	25	1.177420	b	B
3	3	CAULE	25	1.131163	b	B

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado

D.M.S. 5%=0.35913 - D.M.S. 1% = 0.45114

TABELA 22 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 uM BAP X 2,5 uM ANA DA FIGURA 7

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB. >F
EXPLANTE	2	4.3619797	6.3707	0.00320
RESIDUO	72	24.6491433		
TOTAL	74	29.0111230		

MEDIA GERAL= 1.298660 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO =45,055%

TABELA 22 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2BAP x 2,5 ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	1.638763	a	A
2	1	CAULE	25	1.150675	b	AB
3	3	APICE	25	1.106542	b	B

TABELA 23 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 µM BAP X 5µM DA FIGURA 7

CAUSAS DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	VALOR F	PROB. >F
EXPLANTE	2	0.1638418	1.3235	0.27179
RESIDUO	72	4.4566345		
TOTAL	74	4.6204763		

MEDIA GERAL = 0.798995

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 31.138%

TABELA 23 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE EXPLANTE DO TRATAMENTO 2 µM BAP x 5 µM DE ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	5%	1%
1	2	BASE	25	0.864989	a	A
2	1	APICE	25	0.769223	a	A
3	3	CAULE	25	0.762774	a	A

Medidas seguidas distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado

D.M.S. 5%=0.16858 - D.M.S. 1% = 0.21177

TABELA 24 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO CONTROLE DA FIGURA 8

F.V.	G.L.	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	0.059417	1.0019	0.37455
residuo	63	1.868104		
total	65	1.927521		

MEDIDA GERAL = 1.379353

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 12.484%

TABELA 24 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO CONTROLE

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REP.	MEDIAS	5%	1%
1	2	sub 2	22	1.411851	a	A
2	1	sub 1	22	1.386742	a	A
3	3	sub 3	22	1.339464	a	A

TABELA 25 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2UM BAP DA FIGURA 8

F.V.	G.L.	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	1.152676	11.5766	0.00015
residuo	66	3.285784		
total	68	4.438402		

MEDIDA GERAL = 1.581833

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 14.105%

TABELA 25 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 2 µM BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REP.	MEDIAS	5%	1%
1	2	subcult.1	23	1.762093	a	A
2	1	subcult.2	23	1.517952	b	B
3	3	subcult.3	23	1.465454	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado
 D.M.S 5% = 0,15790 D.M.S. 1% = 0,19857

TABELA 26 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 5 µM BAP DA FIGURA 8

F.V.	G.L.	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	1.195346	15.9909	0.00002
residuo	69	2.578938		
total	71	3.774205		

MEDIDA GERAL = 1.556910 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 12.417%

TABELA 26 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 5 µM BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REP.	MEDIAS	5%	1%
1	1	subcult.1	24	1.693018	a	A
2	2	subcult.2	24	1.593782	a	A
3	3	subcult.3	24	1.383929	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado
 D.M.S 5% = 0,13382 D.M.S. 1% = 0,16819

TABELA 27 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 10 µM BAP DA FIGURA 8

F.V.	G.L.	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	2.038561	26.0795	0.00001
residuo	60	3.265245		
total	62	6.103781		

MEDIDA GERAL = 1.514251 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 15.406%

TABELA 27 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 10 µM BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REP.	MEDIAS	5%	1%
1	1	subcult.1	21	1.736590	a	A
2	2	subcult.2	21	1.577749	a	A
3	3	subcult.3	21	1.228414	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado
 D.M.S 5% = 0,17308 D.M.S. 1% = 0,21700

TABELA 28 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2µM BAP +1 µM ANA DA FIGURA 9

F.V.	G.L.	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	0.070206	10.5164	0.00026
residuo	66	2.755779		
total	68	3.633985		

MEDIDA GERAL = 1.389224 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 14.709%

TABELA 28 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP + 1 μ M ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REP.	MEDIAS	5%	1%
1	1	subcult.1	23	1.526947	a	A
2	2	subcult.2	23	1.390118	ab	AB
3	3	subcult.3	23	1.250605	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado

D.M.S 5% = 0,14461 D.M.S. 1% = 0,18185

TABELA 29 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP + 2,5 μ M ANA DA FIGURA 9

F.V.	G.L.	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	1.360209	2.6594	0.07738
residuo	54	13.010721		
total	56	15.171011		

MEDIDA GERAL = 1.509206 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 33.509%

TABELA 29 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP + 2,5 μ M ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REP.	MEDIAS	5%	1%
1	1	subcult.1	19	1.720261	a	A
2	3	subcult.3	19	1.452554	a	A
3	2	subcult.2	19	1.354001	a	A

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado

D.M.S 5% = 0,39506 D.M.S. 1% = 0,49907

TABELA 30 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP + 5 μ M ANA DA FIGURA 9

F.V.	G.L.	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	0.044091	2.2048	0.12200
residuo	39	0.397037		
total	41	0.441928		

MEDIDA GERAL = 1.215555 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 0.301%

TABELA 30 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 2 μ M BAP + 5 μ M ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REP.	MEDIAS	5%	1%
1	2	subcult.2	14	1.250202	a	A
2	1	subcult.1	14	1.224745	a	A
3	3	subcult.3	14	1.171710	a	A

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado

D.M.S 5% = 0,09290 D.M.S. 1% = 0,11008

TABELA 31 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE CONTROLE DA FIGURA 10

F.V	G.L	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	0.347525	5.1877	0.00834
residuo	63	2.110190		
total	65	2.457715		

MEDIA GERAL = 1.231175 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 14.065%

TABELA 31 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO CONTROLE

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REP.	MEDIAS	MED.ORIG	5%	1%
1	2	subcult.1	23	1.762093	1.278567	a	A
2	1	subcult.2	23	1.517952	0.904357	b	A
3	3	subcult.3	23	1.465454	0.000249	b	A

Medias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado.

D.M.S 5% = 0,13255 D.M.S. 1%= 0,16677

TABELA 32 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 2UM BAP DA FIGURA 10

F.V	G.L	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	0.787823	13.6111	0.00006
residuo	66	1.910071		
total	68	2.697094		

MEDIA GERAL = 1.289602

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 13.192%

TABELA 32 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 2 uM BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REP.	MEDIAS	MED.ORIG	5%	1%
1	2	subcult.1	23	1.438434	1.569092	a	A
2	1	subcult.2	23	1.237846	1.032263	b	B
3	3	subcult.3	23	1.192527	0.922120	b	B

Medias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado.

D.M.S 5% = 0,12039 D.M.S. 1%= 0,15140

TABELA 33 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 5 UM BAP DA FIGURA 10

F.V	G.L	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	0.004192	0.0735	0.92877
residuo	69	1.967009		
total	71	1.972001		

MEDIA GERAL = 1.249599

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 13.515%

TABELA 33 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 5 uM BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT	NOME	NUM.REP	MEDIAS	MED.ORIG	5%	1%
1	2	subcult.2	24	1.2585529	1.083094	a	A
2	1	subcult.3	24	1.250402	1.063505	a	A
3	3	subcult.1	24	1.239060	1.037272	a	A

Medias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado.

D.M.S 5% = 0,11690 D.M.S. 1%= 0,14692

TABELA 34 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 10 UM BAP DA FIGURA 10

F.V	G.L	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	1.671476	20.1349	0.00001
residuo	60	2.490415		
total	62	4.161891		

MEDIA GERAL = 1.327894

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 15.343%

TABELA 34 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 10 µM BAP

NUM.ORDEM	NUM.TRAT	NOME	NUM.REP	MEDIAS	MED.ORIG	5%	1%
1	1	subcult.1	21	1.513206	1.789791	a	A
2	2	subcult.2	21	1.353738	1.332606	b	A
3	3	subcult.3	21	1.116739	0.747107	c	B

Medias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado.

D.M.S 5% = 0,15116 D.M.S. 1%= 0,19028

TABELA 35 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 10 UM BAP + 1 UM ANA DA FIGURA 11

F.V	G.L	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	0.489515	11.1398	0.00018
residuo	69	1.516036		
total	71	2.005552		

MEDIA GERAL = 1.229580

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 12.055%

TABELA 35 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 10 µM BAP + 1 µM ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT	NOME	NUM.REP	MEDIAS	MED.ORIG	5%	1%
1	1	subcult.1	24	1.322555	1.249153	a	A
2	2	subcult.2	24	1.244044	1.047646	A	AB
3	3	subcult.3	24	1.122141	0.759200	b	B

Medias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado.

D.M.S 5% = 0,10260 D.M.S. 1%= 0,12895

TABELA 36 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 10 UM BAP + 2,5 UM ANA DA FIGURA 11

F.V	G.L	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	0.141014	1.5245	0.22554
residuo	54	2.497470		
total	56	2.638485		

MEDIA GERAL = 1.2223376

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 13.585%

TABELA 36 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 10 µM BAP + 2,5 µM ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REP	MEDIAS	MED.ORIG	5%	1%
1	1	subcult.1	19	1.364679	1.362350	a	A
2	2	subcult.2	19	1.270974	1.115375	a	A
3	3	subcult.3	19	1.250384	1.063461	a	A

Medias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado.

D.M.S 5% = 1,16834 D.M.S. 1%= 0,21250

TABELA 37 A - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE TRATAMENTO 10 UM BAP + 5 UM ANA DA FIGURA 11

F.V	G.L	S.Q.	F	PROB.F
subcult.	2	0.229461	7.1552	0.00200
residuo	60	0.962070		
total	62	1.191532		

MEDIA GERAL = 1.213734

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 10.433%

TABELA 37 B - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DO TRATAMENTO 10 uM BAP + 5 uM ANA

NUM.ORDEM	NUM.TRAT	NOME	NUM.REP	MEDIAS	MED.ORIG	5%	1%
1	2	subcult.2	21	1.277889	1.133000	a	A
2	1	subcult.1	21	1.230408	1.013903	a	AB
3	3	subcult.3	21	1.132906	0.783475	a	B

Medias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado.

D.M.S 5% = 0,09395 D.M.S. 1%= 0,11827

TABELA 38 A - TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DE MEIO DO EXPERIMENTO DE ALONGAMENTO

NUM.ORDEM	NUM.TRAT	NOME	NUM.REP	MEDIAS	MED.ORIGIN	5%	1%
1	4	MS/2	48	1.163723	0.854251	a	A
2	2	JM1/2	48	1.106708	0.724803	a	A
3	3	MS	48	1.016445	0.533160	a	A
4	1	JM1	48	1.001979	0.503962	a	A

Medias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado.

D.M.S 5% = 0,16263 D.M.S. 1%= 0,19752

TABELA 38 B - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EXPERIMENTO DE ALONGAMENTO FIGURA 12

CAUSAS DA VARI.	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
MEIO	3	0.8452897	0.2817632	2.9554	0.03305
RESIDUO	188	17.9235775	0.0953382		
TOTAL	191	18.7688673			

MEDIA GERAL = 1.072213

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 28.797%

TABELA 39 B - TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DOS TRATAMENTOS DO EXPERIMENTO 1 DE ENRAIZAMENTO

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM. REPT.	MEDIAS	5%	1%
1	6	6	15	2.251039	a	A
2	4	4	15	1.055678	b	B
3	3	3	15	1.030016	b	B
4	2	2	15	0.784688	b	B
5	5	5	15	0.707107	b	B
6	1	1	15	0.707107	b	B
7	7	7	15	0.707107	b	B
8	8	8	15	0.707107	b	B
9	9	9	15	0.707107	b	B

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significancia indicado

D.M.S. 5%= 0.46077

D.M.S. 1%= 0.53682

TABELA 39 C - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA

CAUSA DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
TRATAMENTO	8	30.4696940	3.8087117	23.8452	0.00001
RESIDUO	126	20.1255323	0.1597264		
TOTAL	134	50.5952263			

MÉDIA GERAL = 0.961884

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 41.549%

TABELA 40 B - TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DOS TRATAMENTOS DO EXPERIMENTO 2 DE ENRAIZAMENTO

NUM.ORDEM	NUM.TRAT	NOME	NUM.REP	MÉDIAS	MED ORIG.	5%	1%
1	2	JE81	15	1.513605	1.791000	a	A
2	3	JE73	16	1.353685	1.332462	ab	A
3	4	JE83	17	1.181412	0.895735	ab	A
4	1	JE71	15	0.77685	0.139815	b	BA

Medidas seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado

TABELA 40 C - QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA

CAUSA DA VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
TRATAMENTO	7	5.6396297	0.8056614	2.1090	0.04749
RESIDUO	115	43.9319793	0.3820172		
TOTAL	122	49.5716090			

MÉDIA GERAL = 1.118682

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 55.250%