

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO
JEQUITINHONHA E MUCURI – UFVJM**

BRUNO SILVA REIS

**MICROPROPAGAÇÃO E EFEITO DE SUBSTRATOS NO
CRESCIMENTO DE MUDAS DE PAU-TERRA (*Qualea Dichotoma*
(MART.) WARM.).**

DIAMANTINA/MG

2013

BRUNO SILVA REIS

**MICROPROPAGAÇÃO E EFEITO DE SUBSTRATOS NO
CRESCIMENTO DE MUDAS DE PAU-TERRA (*Qualea Dichotoma*
(MART.) WARM.).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, área de concentração em Manejo Florestal e Silvicultura, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora: Professora Doutora Miranda Titon

DIAMANTINA/MG

2013

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

| | |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| R375m | <p>Reis, Bruno Silva</p> <p>Micropropagação e efeito de substratos no crescimento de mudas de pau-terra (<i>Qualea dichotoma</i> (Mart.) Warm.). / Bruno Silva Reis. – Diamantina: UFVJM, 2013.</p> <p>60 p. : il.</p> <p>Orientador: Miranda Titon Coorientador: Reynaldo Campos Santana</p> <p>Dissertação (Mestrado – Curso de Pós-Graduação em Ciência Florestal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.</p> <p>1. Espécie nativa. 2. Cultura de tecidos. 3. <i>Qualea dichotoma</i>. 4. Produção de mudas. 5. Multiplicação. I. Título II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.</p> <p style="text-align: right;">CDD 634.9</p> |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**MICROPROPAGAÇÃO E EFEITO DE SUBSTRATOS NO
CRESCIMENTO DE MUDAS DE PAU-TERRA (*Qualea Dichotoma*
(MART.) WARM.).**

BRUNO SILVA REIS

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, área de concentração em Manejo Florestal e Silvicultura, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA EM 22 / 07 / 2013

Professor Doutor Leonardo Lucas Carnevalli Dias – UFSJ

Professor Doutor Reynaldo Campos Santana – UFVJM

Professor Doutor Evandro Luiz Mendonça Machado – UFVJM

Professora Doutora Miranda Titon – UFVJM

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me conduzir por esse caminho iluminado, onde a cada minuto aprendemos algo novo e surpreendente.

Aos meus pais, ADALBERTO Alves dos Reis e GUIOMAR Damasio Silva dos Reis, por estarem sempre ao meu lado e não medirem esforços para essa conquista.

Ao meu grande irmão, LEANDRO Silva Reis, pessoa pela qual aprendi a ter confiança no meu trabalho.

Ao meu amor, LORENA Chaves Fernandes, que esteve ao meu lado durante toda a jornada, sempre com paciência e sábias palavras de incentivo.

Ao meu amigo de república (Caixa de fósforos), Leonidas Soares Murta Júnior, pelo companheirismo e apoio.

A minha orientadora Professora Doutora Miranda Titon, pelo exemplo de humildade e sabedoria, sempre com os seus conselhos sábios e acolhedores.

Aos Professores doutores Reynaldo Campos Santana e Marcio Leles Romarco de Oliveira, pelos conhecimentos adquiridos e principalmente pela oportunidade de convivência em sala de aula.

Aos meus amigos de mestrado Rafael Ribeiro de Souza e Luiz Carlos Araújo, aos momentos de “cabeça ruim” durante essa longa jornada.

A toda equipe do laboratório de Melhoramento Florestal, aprendemos muita coisa juntos.

Aos funcionários do CIPEF, pela honrosa ajuda durante a condução dos trabalhos.

Aos professores doutores membros da banca examinadora, Evandro Luiz Mendonça Machado, Leonardo Lucas Carnevalli Dias e Reynaldo Campos Santana, pelas críticas e sugestões.

A UFVJM, pela formação profissional.

A UFVJM/FAPEMIG/CAPES-PROCAD pelo apoio financeiro.

A todas as pessoas de alguma forma fizeram parte desse momento na minha vida, fica o meu sincero muito obrigado.

RESUMO

REIS, Bruno Silva. **Micropropagação e efeito de substratos no crescimento de mudas de pau-terra (*Qualea dichotoma* (Mart.) Warm.)**, 2013. 60 p. (Dissertação - M. Sc. em Ciência Florestal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina/2013.

Este trabalho teve como objetivo verificar a existência de diferenças no crescimento de mudas da espécie *Qualea dichotoma*, ao longo do tempo, no ambiente casa de sombra em função de diferentes substratos e desenvolver uma metodologia básica de micropropagação a partir de sementes germinadas *in vitro*. No capítulo 1, utilizaram-se as seguintes composições de substratos: 1) Substrato comercial Bioplant[®] (BIO); 2) 70% de vermiculita de granulometria média (vermiculita) + 30% de casca de arroz carbonizada (VC); 3) 70% de vermiculita + 15% de casca de arroz carbonizada + 15% de fibra de côco (VCF); 4) 40% de vermiculita + 30% de casca de arroz carbonizada + 30 % de Bioplant[®] (VCB). Em cinco avaliações (60, 90, 150, 180 e 210 dias após a emergência das plântulas) foram mensuradas as alturas das mudas (H-cm), em quatro avaliações (120,150, 180 e 210 dias após a emergência das plântulas) foram mensurados os diâmetros do coleto das mudas (DC-mm), em duas avaliações (165 e 215 dias após a emergência das plântulas), foram mensurados área foliar (AF-cm²), comprimento (C-cm), largura (L-cm) e perímetro (P-cm). Aos 215 dias após a emergência das plântulas, foram feitas as seguintes avaliações: peso da matéria seca da parte aérea (PMSPA-g), peso de matéria seca de raízes (PMSR-g), peso de matéria seca total (PMST-g), relação parte aérea e diâmetro do coleto (RHDC), relação altura da parte aérea e peso de matéria seca da parte aérea (RHPMSPA) e relação peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca das raízes (RPMSPAR). Os substratos VC e VCB apresentaram os melhores resultados em altura, diâmetro, perímetro, PMSR e RPMSPAR. Existe diferença significativa no crescimento das mudas em função dos substratos, onde os substratos VCB e VC apresentaram os melhores resultados para a produção de mudas de *Qualea dichotoma*. No capítulo 2, frutos de pau terra (*Qualea dichotoma*) foram coletados em 12 matrizes. Para a desinfestação *in vitro* as sementes foram imersas nos tempos de 5, 10, 15 e 20 minutos para cada concentração de hipoclorito de sódio (2,5% e 5,0%). Em seguida, inoculou-se uma semente em cada tubo de ensaio contendo 10 ml do meio de cultura MS para a germinação *in vitro*. As avaliações foram realizadas diariamente, por 25 dias, registrando-se o número de sementes germinadas. Das plantas germinadas, *in vitro*, com aproximadamente 35 dias, foram retirados dois tipos de explantes (segmentos cotiledonares e segmentos nodais) que foram

inoculados em meio de cultura WPM, suplementado com a concentração de 0,01 mg L⁻¹ ANA, constituindo a fase de multiplicação, formada pelo cultivo inicial e dois subcultivos subsequentes. Para o cultivo inicial utilizou-se segmentos cotiledonares e nodais com as concentrações de 0,1; 0,2; 0,4 e 0,6 mg L⁻¹ de BA. Para o subcultivo 1 e 2, o experimento foi instalado utilizando concentrações de 0,4 e 0,6 mg L⁻¹ de BA para os segmentos nodais, e para segmentos cotiledonares concentrações 0,2 e 0,4 mg L⁻¹ de BA. Aos 45 dias para o cultivo inicial avaliou-se o número de brotações por explante, altura da maior brotação e número de raízes emitidas. Aos 60 dias após a instalação dos experimentos subcultivos 1 e 2, avaliou-se o número de brotações por explantes e altura da maior brotação. Para a fase de alongamento os segmentos nodais foram inoculados em meio WPM, com as concentrações de 0,0; 0,03; 0,06 e 0,09 mg L⁻¹ de BA, combinados com 0,3 e 0,9 mg L⁻¹ de ANA. Aos 60 dias de alongamento avaliou-se o comprimento (cm) da maior brotação. Os resultados obtidos indicam a desinfestação de sementes com 2,5% de hipoclorito de sódio durante 15 minutos, proporcionando germinação média *in vitro* superior a 85%. Para a multiplicação é indicado explantes obtidos de segmentos nodais e a concentração de 0,6 mg L⁻¹ de BA adicionada ao meio de cultura WPM. Explantes obtidos de segmentos cotiledonares são mais indicados para a emissão de raízes e as combinações utilizadas de ANA e BA não foram eficientes para o alongamento dos explantes.

Palavras chave: espécie nativa, cultura de tecidos, produção de mudas.

ABSTRACT

REIS, Bruno Silva. **Micropropagation and effect of substrates on the seedlings growth of *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm.**, 2013. 60 p. (Dissertation - M. Sc. in Forest Science) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina/2013.

This study aimed to evaluate the check of differences in the growth of seedlings of the species *Qualea dichotoma*, over time, in the shade environment due to different substrates and develop basic methodology micropropagation from *in vitro* germinated seeds. In Chapter 1, we used the following substrate compositions: 1) Substrate commercial Bioplant® (BIO), 2) 70% of average particle size of vermiculite (vermiculite) + 30% carbonized rice bark (VC), 3) 70 % vermiculite + 15% carbonized rice bark + 15% coconut fiber (VCF), 4) 40% vermiculite + 30% carbonized rice bark + 30% Bioplant® (VCB). In five evaluations (60, 90, 150, 180 and 210 days after emergence of plantlets) were measured heights of seedlings (H-cm) in four assessments (120, 150, 180 and 210 days after emergence of plantlets) were measured the diameter of the lap (DC-mm) in two evaluations (165 and 215 days after emergence of plantlets) were measured leaf area (AF-cm²), length (C-cm), width (L-cm) and perimeter (P-cm). At 215 days after emergence of plantlets, the following assessments were made: dry weight of aerial (PMSPA-g), dry weight of roots (PMSR-g), weight of total dry matter (PMST-g), ratio of the aerial and diameter of the lap (RHDC), relative aerial height and dry weight of aerial (RHPMSPA) and relative dry weight of aerial and dry weight of roots (RPMSPAR). The VC and VCB substrates showed the best results in height, diameter, circumference, and PMSR RPMSPAR. A significant difference in seedling growth in relation to substrates, where the substrates VCB and VC showed the best results for the production of seedlings *Qualea dichotoma*. In chapter 2, fruit “stick earth” (*Qualea dichotoma*) were collected at 12 dies. Disinfestation *in vitro* seeds were immersed in times of 5, 10, 15 and 20 minutes for each concentration of sodium hypochlorite (2,5% and 5,0%). Then, a seed was inoculated into each test tube containing 10 ml the medium culture MS for germination *in vitro*. The evaluations were made daily for 25 days, recording the number of germinated seeds. Plants germinated *in vitro* for approximately 35 days, were taken two types of explants (cotyledon segments and nodal) were inoculated in medium culture WPM supplemented with concentration of 0,01 mg L⁻¹ ANA, constituting the phase multiplication, formed by initial cultivation and two subsequent subcultures. For the initial culture was used cotyledon and nodal segments with concentrations of 0,1; 0,2; 0,4 and 0,6 mg L⁻¹ BA. To subculture 1 and 2,

the experiment was installed using concentrations of 0,4 and 0,6 mg L⁻¹ BA for nodal, is for cotyledon segments concentrations 0,2 and 0,4 mg L⁻¹ BA. At 45 days for initial cultivation evaluated the number of shoots per explant, height of largest shoot and root number. At 60 days after installation of subcultures experiments 1 and 2, we evaluated the number of shoots per explants and height of the largest shoot. For the elongation phase nodal segments were inoculated in medium culture WPM, with concentrations of 0,0; 0,03; 0,06 and 0,09 mg L⁻¹ BA combined with 0,3 and 0,9 mg L⁻¹ ANA. After 60 days of elongation phase evaluated the length (cm) of the largest shoot. The results indicate disinfection of seeds with 2.5% sodium hypochlorite for 15 minutes, giving an average germination in vitro than 85%. For multiplication is indicated nodal explants obtained from the concentration 0.6 mg L⁻¹ BA added to WPM. Explants obtained from cotyledon segments are more suitable for the emission of roots and used combinations of NAA and BA were not efficient for the elongation of the explants.

Keywords: native species, tissue culture and propagation of seedlings.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Valores médios de densidade seca (Ds), densidade de partículas (Dp), porosidade total (PT), macroporosidade (Ma), microporosidade (Mic), espaço de aeração (EA), água disponível (AD) e capacidade de retenção de água (CRA), em substratos para produção de mudas florestais.....**Pág.20**

Tabela 2: Resumo da análise de variância para a variável altura (H-cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., em quatro substratos, considerando-se avaliações mensais (tempo) em ambiente casa de sombra.....**Pág.23**

Tabela 3: Resumo da análise de variância para a variável diâmetro do coleto (DC¹-mm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., em quatro substratos, considerando-se avaliações mensais (tempo) no ambiente casa de sombra.....**Pág.26**

Tabela 4: Resumo da análise de variância para as variáveis Área foliar (AF-cm²), comprimento (C-cm), largura (L-cm) e perímetro (P-cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., em quatro substratos, aos 165 e 215 dias após a emergência das plântulas, no ambiente casa de sombra.....**Pág.28**

Tabela 5: Valores médios para a variável área foliar (cm²) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., em função dos tempos e dos substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40%vermiculita+ 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant.....**Pág.28**

Tabela 6: Valores médios do perímetro (P-cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. em função dos substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant**Pág.29**

Tabela 7: Resumo da análise de variância das variáveis de avaliação da qualidade de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., em quatro substratos, aos 215 dias no ambiente casa de sombra. Matéria seca da parte aérea (PMSPA-g), matéria seca da raiz (PMSR-g), matéria seca total (PMST-g), relação entre altura da parte aérea e diâmetro do coleto (RHDC), relação entre a altura e peso da matéria seca da parte aérea (RHMSPA) e relação entre peso da matéria seca da parte aérea e peso da matéria seca da raiz (RMSPAR).....**Pág.30**

Tabela 8: Valores médios das variáveis de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., aos 215 dias em ambiente de casa de sombra em função dos substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant. Peso de matéria seca da parte aérea (PMSPA), peso de matéria seca da raiz (PMSR), peso de matéria seca total (PMST), relação entre altura da parte aérea e diâmetro do coleto (RHDC), relação entre altura e peso da matéria seca da parte aérea (RHMSPA) e relação entre peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca da raiz (RMSPAR).....**Pág.31**

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Composição do meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962) utilizado na germinação *in vitro* de pau-terra (*Qualea dichotoma*).....**Pág.42**

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Tabela 2: Composição do meio de cultura WPM (Lloyd; McCown, 1981) utilizado na multiplicação <i>in vitro</i> de pau terra (<i>Qualea dichotoma</i>)..... | Pág.43 |
| Tabela 3: Resumo da análise de variância para o percentual de germinação (G%) de sementes de pau-terra (<i>Qualea dichotoma</i>), aos 25 dias, em função das diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (2,5% e 5,0%) e tempos (5, 10, 15 e 20 minutos)..... | Pág.46 |
| Tabela 4: Resumo da análise de variância para número de brotações, altura e número de raiz aos 45 dias em função das concentrações de BA e tipo de explante..... | Pág.49 |
| Tabela 5: Resumo da análise de variância para número de brotações e altura em função dos tratamentos..... | Pág.52 |
| Tabela 6: Número médio de brotações de <i>Qualea dichotma</i> no subcultivo 1 aos 60 dias, em função dos tratamentos..... | Pág.53 |
| Tabela 7: Resumo da análise de variância para os dados de número de brotações e altura em função dos tratamentos..... | Pág.54 |
| Tabela 8: Número médio de altura de <i>Qualea dichotma</i> , em função do tratamento para o subcultivo 2. | Pág.54 |
| Tabela 9: Resumo da análise de variância para os dados de altura aos 60 dias em função das concentrações de BA e ANA..... | Pág.55 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1: Resumo dos dados climatológicos de temperatura e higrometria observados durante a condução dos experimentos no ambiente casa de sombra.....**Pág.23**

Figura 2: Curva de crescimento em altura (cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. avaliadas aos 60, 90, 150, 180 e 210 dias de idade, nos quatros substratos em ambiente casa de sombra. Substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant.....**Pág.24**

Figura 3: Curva de crescimento em altura (cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. avaliadas aos 60, 90, 150, 180 e 210 dias de idade, nos três substratos em ambiente casa de sombra. Substratos: VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant. *: valores significativos a 5% de significância pelo teste T.....**Pág.24**

Figura 4: Curva de crescimento em altura (cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. avaliadas aos 60, 90, 150, 180 e 210 dias de idade, no substrato BIO (Bioplant) em ambiente casa de sombra. *: valores significativos a 5% de significância pelo teste T.....**Pág.25**

Figura 5: Curva de crescimento em diâmetro (mm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. avaliadas aos 120, 150, 180 e 210 dias de idade, nos quatros substratos em ambiente casa de sombra. Substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant.....**Pág.26**

Figura 6: Curva de crescimento em diâmetro (mm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. avaliadas aos 120, 150, 180 e 210 dias de idade, nos quatros substratos em ambiente casa de sombra. Substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant.....**Pág.27**

CAPÍTULO 2

Figura 1: Curva do percentual de germinação de sementes de pau terra (*Qualea dichotoma*) em função dos tratamentos, durante 25 dias.....**Pág.46**

Figura 2: Percentual de germinação de sementes de pau terra (*Qualea dichotoma*) em função dos tratamentos, aos 25 dias após a inoculação. As barras indicam o desvio-padrão.....**Pág.47**

Figura 3: Sequencia da germinação de sementes de *Qualea dichotoma* até o 25° dia: A) Semente inoculada; B) Emissão da radícula; C) Emissão de raiz primária; D) Emissão de cotilédone com tegumento e E) Plântula com cotilédone abertos.....**Pág.48**

Figura 4: Número de brotações em função das concentrações de BA (mg L^{-1}), aos 45 dias para o cultivo inicial. As barras indicam o desvio padrão.....**Pág.50**

Figura 5: Segmento nodal de *Qualea dichotoma* do cultivo inicial na concentração de $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ de BA no 45° dia.....**Pág.50**

Figura 6: Altura de brotações em função da concentração de BA (mg L^{-1}), aos 45 dias para o cultivo inicial. As barras indicam o desvio padrão.....**Pág.51**

Figura 7: Número de raízes por explante em função da concentração de BA (mg L^{-1}), aos 45 dias para o cultivo inicial. As barras indicam o desvio padrão.....**Pág.51**

Figura 8: Amarelecimento das folhas de explantes cotiledonares de *Qualea dichotoma*, no 50º dia.....**Pág.53**

Figura 9: A: Número médio de brotações por subcultivo para os melhores tratamentos do subcultivo inicial (Segmento nodal – 0,4 e 0,6 mg L^{-1} BA; Segmento cotiledonar – 0,2 e 0,4 mg L^{-1} BA) e todos os tratamentos do subcultivo 1 e 2 (Segmento nodal – 0,4 e 0,6 mg L^{-1} BA; Segmento cotiledonar – 0,2 e 0,4 mg L^{-1} BA). **B:** Número de brotações médias para o melhor tratamento no subcultivo inicial (Segmento nodal - 0,4 mg L^{-1} BA) e para o melhor tratamento nos subcultivos 1 e 2 (Segmento nodal – 0,6 mg L^{-1} BA).....**Pág.55**

Figura 10: Altura média de explantes de *Qualea dichotoma* em função das concentrações de ANA e BA aos 60 dias de alongamento. As barras indicam o desvio padrão.....**Pág.56**

SUMÁRIO

| | Pág. |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| AGRADECIMENTOS..... | iii |
| RESUMO..... | iv |
| ABSTRACT..... | vi |
| LISTA DE TABELAS..... | viii |
| LISTA DE FIGURAS..... | x |
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 14 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 15 |
| CAPÍTULO 1..... | 16 |
| 1) INTRODUÇÃO..... | 17 |
| 2) MATERIAL E MÉTODOS..... | 19 |
| 2.1 Obtenção de sementes de <i>Qualea dichotoma</i> (Mart) Warm..... | 19 |
| 2.2 Caracterização dos substratos e recipientes..... | 19 |
| 2.3 Semeadura..... | 20 |
| 2.4 Instalação do experimento..... | 20 |
| 2.5 Variáveis avaliadas..... | 21 |
| 2.5.1 Altura (H) e Diâmetro (DC)..... | 21 |
| 2.5.2 Área foliar (AF), Comprimento (C), Largura (L) e Perímetro (P)..... | 21 |
| 2.5.3 Peso de matéria seca da parte aérea (PMSPA), Peso de matéria seca de raízes (PMSR), Peso de matéria seca total (PMST), Relação parte aérea e diâmetro do coleto (RHDC), Relação altura da parte aérea e peso de matéria seca da parte aérea (RHPMSPA) e Relação peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca das raízes (RPMSPAR)..... | 21 |
| 2.6 Análise de dados..... | 22 |
| 3) RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 22 |
| 3.1 Variáveis avaliadas..... | 23 |
| 3.1.1 Altura (H)..... | 23 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1.2 Diâmetro (DC)..... | 25 |
| 3.1.3 Área foliar (AF), Comprimento (C), Largura (L) e Perímetro (P)..... | 28 |
| 3.1.3 Peso de matéria seca da parte aérea, peso de matéria seca da raiz, peso de matéria seca total, relações entre: altura da parte aérea e diâmetro de coleto; altura e peso de matéria seca da parte aérea; peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca da raiz..... | 29 |
| 4) CONCLUSÕES | 32 |
| 5) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 33 |
| CAPÍTULO 2..... | 37 |
| 1) INTRODUÇÃO | 39 |
| 2) MATERIAL E MÉTODOS..... | 41 |
| 2.1 Material vegetal..... | 41 |
| 2.2 Estabelecimento das culturas assépticas | 41 |
| 2.3 Multiplicação de gemas axilares | 43 |
| 2.4 Alongamento de gemas axilares..... | 45 |
| 3) RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 46 |
| 3.1 Estabelecimento das culturas assépticas | 46 |
| 3.2 Multiplicação de gemas axilares | 49 |
| 3.2.1 Cultivo inicial..... | 49 |
| 3.2.2 Subcultivo 1..... | 52 |
| 3.2.3 Subcultivo 2..... | 54 |
| 3.3 Alongamento de gemas axilares..... | 55 |
| 4) CONCLUSÕES | 57 |
| 5) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 58 |
| 6) CONCLUSÕES GERAIS..... | 60 |

INTRODUÇÃO GERAL

A produção de mudas com qualidade, quantidade e diversidade constitui uma das etapas fundamentais para o estabelecimento de povoamentos com espécies florestais nativas (Gonçalves et al.; 2000). Entretanto, a obtenção de mudas em quantidade suficiente para o plantio é um dos principais pontos de estrangulamento dos programas de recuperação ecológica de determinada área (Santarelli, 2004).

A propagação de espécies nativas pode ser realizada por meio da produção de mudas por sementes e propágulos vegetativos em viveiro ou por meio da propagação *in vitro*. Estas técnicas podem assegurar maior confiabilidade em relação à sobrevivência da planta no campo, contornando dificuldades de germinação e selecionando mudas com características desejáveis (Xavier et al, 2009).

Entre as espécies florestais nativas do cerrado brasileiro com potencial de regeneração de ambientes degradados encontra-se o pau-terra (*Qualea dichotoma* (Mart.) Warm.). Planta decídua, heliófila, pioneira, xerófita, que apresenta dispersão anemocórica e exibe nítida preferência por terrenos arenosos e altos (Carvalho, 2002).

No intuito de assegurar o sucesso da revegetação em ambientes degradados com espécies nativas, estudos têm sido realizados no que se refere à obtenção de mudas de qualidade, capazes de resistir às adversidades ambientais após o plantio (Bernardino et al, 2005). Para *Qualea dichotoma* essas informações são escassas na literatura, necessitando do desenvolvimento de pesquisas que abordem a sua propagação e conservação genética.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo verificar o efeito de substratos na produção de mudas e desenvolver uma metodologia básica de micropropagação para a espécie *Qualea dichotoma* (Warm.).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDINO, D. C. DE S.; PAIVA H. N.; LIMA, J. C.; GOMES, J. M.; MARQUES, V. B. **Crescimento e qualidade de mudas de *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) em resposta à saturação por bases do substrato.** Revista Árvore, Viçosa, v. 29, n. 6, Dezembro, 2005.

CARVALHO, P. E. R.. **Espécies Arbóreas Brasileiras.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, v.2, 2002.

GONÇALVES, J.L.M.; SANTARELLI, E.D.; MORAES NETO, S.P. de; MANARA, M.P. **Produção de mudas de espécies nativas: substrato, nutrição, sombreamento e fertilização.** In: Nutrição e fertilização florestal. Piracicaba: IPEF, 2000. p.309-350.

SANTARELLI, E.G. **Produção de mudas de espécies nativas.** In: RODRIGUES, R.R.; LEITÃO FILHO, H.F. (Ed.). Matas ciliares: conservação e recuperação. 3.ed. São Paulo: Edusp/ Fapesp, 2004. p.313-318.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.L. **Silvicultura Clonal: princípios e Técnicas.** Ed. UFV, Viçosa – MG, 2009.

CAPÍTULO 1

Efeito de substratos no crescimento de mudas de pau-terra (*Qualea dichotoma* (Mart.) Warm.).

Resumo – Este trabalho teve como objetivo verificar a existência de diferenças no crescimento de mudas da espécie *Qualea dichotoma*, ao longo do tempo, no ambiente casa de sombra em função de diferentes substratos. O experimento foi conduzido no Centro Integrado de Propagação de Espécies Florestais – CIPEF do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), no município de Diamantina/MG. Utilizaram-se as seguintes composições de substratos: 1) Substrato comercial Bioplant® (BIO); 2) 70% de vermiculita de granulometria média (vermiculita) + 30% de casca de arroz carbonizada (VC); 3) 70% de vermiculita + 15% de casca de arroz carbonizada + 15% de fibra de côco (VCF); 4) 40% de vermiculita + 30% de casca de arroz carbonizada + 30 % de Bioplant® (VCB). Em cinco avaliações (60, 90, 150, 180 e 210 dias após a emergência das plântulas) foram mensuradas as alturas das mudas (H-cm); e em quatro avaliações (120,150, 180 e 210 dias após a emergência das plântulas) foram mensurados os diâmetros do coleto das mudas (DC-mm). O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC) com 04 tratamentos e 04 repetições com 12 mudas. Em duas avaliações (165 e 215 dias após a emergência das plântulas), mensurou-se a área foliar (AF-cm²), comprimento (C-cm), largura (L-cm) e perímetro (P-cm), utilizando-se o delineamento em blocos casualizados (DBC), com 04 substratos e 04 repetições com 04 mudas. Aos 215 dias após a emergência das plântulas, foram feitas as avaliações de: peso da matéria seca da parte aérea (PMSPA-g), peso de matéria seca de raízes (PMSR-g), peso de matéria seca total (PMST-g), relação parte aérea e diâmetro do coleto (RHDC), relação altura da parte aérea e peso de matéria seca da parte aérea (RHPMSPA) e relação peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca das raízes (RPMSPAR). Os substratos VC e VCB apresentaram maior crescimento ao longo do tempo em altura, diâmetro e perímetro; e os melhores resultados para PMSR e RPMSPAR. Conclui-se que existe diferença significativa no crescimento de mudas de *Qualea dichotoma* em função dos substratos, sendo os substratos VCB e VC superiores.

Palavras chave: espécie nativa, produção de mudas, composição de substratos.

1. INTRODUÇÃO

O aumento dos problemas ambientais e a necessidade de recuperação de áreas degradadas têm aumentado o interesse sobre o conhecimento das espécies nativas brasileiras. Uma das maiores dificuldades na recomposição de florestas nativas é a produção de mudas de espécies que possam suprir os programas de reflorestamento. Apesar dos esforços e dos conhecimentos já acumulados, muitos questionamentos ainda existem e pouco se sabe sobre grande parte dessas espécies (Moraes, 1998), existindo apenas para aquelas que detêm um maior interesse econômico (Carvalho, 2000).

A propagação de plantas é realizada de duas diferentes formas: sexual e assexual (vegetativa). A propagação por semente é um processo sexual, pois envolve a união do gameta masculino, grão de pólen, com o gameta feminino, óvulo, para formar a semente. Já a propagação vegetativa é de grande importância quando se deseja multiplicar um genótipo que é altamente heterozigoto e que apresenta características consideradas superiores, que se perdem quando propagadas por sementes (Paiva et al., 2005).

Um das formas de propagação de plantas é por meio de viveiros florestais que se destinam à produção, ao manejo e à proteção das mudas até que tenham idades e tamanhos adequados para serem transportadas ao local de plantio definitivo (Gomes & Paiva, 2004).

A produção de mudas de espécies nativas é dependente das variáveis relacionadas com fatores climáticos, com fatores inerentes à própria planta e atributos (propriedades ou características) do substrato onde ela cresce. Nesse sentido torna-se importante a geração e difusão de conhecimentos relacionados a espécies com potencial de recuperação de áreas degradadas.

O substrato é um insumo importante dentro do sistema de produção de mudas. Diferentes materiais têm sido usados para sua composição, como a casca de arroz carbonizada, serragem, turfa, vermiculita, composto orgânico, esterco bovino, moinha de carvão, material de subsolo, bagaço de cana, acícula de pinus e areia lavada (Costa et al., 2005).

O estudo do arranjo percentual desses componentes é de grande importância, já que poderão ser fonte de nutrientes, além de fornecerem suporte estrutural ao desenvolvimento radicular da planta. Dessa forma, algumas propriedades físicas devem ser consideradas na escolha do substrato, como sua capacidade de retenção de água, porosidade, água disponível, além do baixo custo e disponibilidade nas proximidades da região de consumo.

A boa formação de mudas destinadas a povoamentos mistos para fins de preservação ambiental e ou recuperação de áreas degradadas conforme Gonçalves & Poggiani (1996), está relacionada com o nível de eficiência dos substratos.

A espécie *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. pode ser empregada no reflorestamento de áreas degradadas e de preservação permanente, por possuir boa adaptação a áreas abertas e a terrenos pobres. Apresenta altura de 10-18m, tronco de 40-50cm de diâmetro (DAP), folhas simples, coriáceas, glabras na face superior e tomentosas na face inferior, de 6-11cm de comprimento por 4-5cm de largura. Seu habitat e distribuição estão nos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e São Paulo, no cerrado e nas florestas semidecíduas de altitude e da bacia do Paraná. A madeira é moderadamente densa, macia, textura média, pouco resistente, e de baixa durabilidade quando exposta as intempéries. A madeira pode ser empregada para tabuado em geral, para estruturas de móveis, forros, brinquedos em geral, caixotaria, etc. A árvore é extremamente ornamental, principalmente por sua copa perfeitamente elíptica; presta-se ainda admiravelmente bem para a composição de jardins e praças, bem como, para arborização de jardins e praças, assim como para arborização urbana (Lorenzi, 1992).

Diante da importância da espécie e a necessidade do conhecimento em procedimentos relacionados com a produção de mudas de espécies arbóreas nativas, o objetivo deste trabalho foi verificar a existência de diferenças no crescimento de mudas da espécie *Qualea dichotoma*, ao longo do tempo, no ambiente casa de sombra em função dos diferentes substratos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro Integrado de Propagação de Espécies Florestais-CIPEF, do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, no município de Diamantina, MG. O CIPEF situa-se a aproximadamente 1390m de altitude, com coordenadas 18°13` S e 43°35` W. O clima regional é do tipo Cwb de Köppen (mesotérmico com verões brandos e suaves, com estiagens no inverno). A precipitação e temperatura médias anuais são de 1404 mm e 18,1°C respectivamente. Entre os meses de outubro a março a precipitação mensal é superior a 100 mm, representando 86% da precipitação anual, sendo janeiro o mês com o maior valor de precipitação (307mm), enquanto que julho (8 mm) é o de menor volume (Vieira, 2010).

2.1 Obtenção de sementes de *Qualea dichotoma* (Mart) Warm.

Foram utilizadas sementes coletadas em 08 matrizes, situado nos limites da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (18°12'17" S e 43°34'08" W), nos meses de agosto e setembro de 2011. Estas foram acondicionadas em câmara fria por nove meses, até o momento da semeadura.

2.2 Caracterização dos substratos e recipientes

Foram utilizadas tubetes de 180 cm³ contendo as seguintes composições de substratos: 1) Substrato comercial Bioplant® (BIO); 2) 70% de vermiculita de granulometria média (vermiculita) + 30% de casca de arroz carbonizada (VC); 3) 70% de vermiculita + 15% de casca de arroz carbonizada + 15% de fibra de côco (VCF); 4) 40% de vermiculita + 30% de casca de arroz carbonizada + 30 % de Bioplant® (VCB).

Foi utilizado o Osmocote® como fertilizante de liberação controlada, para todos os substratos, na dose de 5g por litro de substrato. Sua composição de N:P₂O₅:K₂O é de 15:09:12 + Ca, Mg + micronutrientes (S, B, Cu, Mn, Fe e Zn). Segundo as especificações técnicas, quando colocado em substrato úmido, a uma temperatura média de 20,1°C libera todos os nutrientes entre cinco e seis meses.

Amostras dos substratos foram retiradas antes do início do experimento para realização de análises físicas (Tabela 1). A análise física foi realizada no laboratório de Física do Solo da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), seguindo a metodologia Embrapa (1997).

Tabela 1: Valores médios de densidade seca (Ds), densidade de partículas (Dp), porosidade total (PT), macroporosidade (Ma), microporosidade (Mic), espaço de aeração (EA), água disponível (AD) e capacidade de retenção de água (CRA), em substratos para produção de mudas florestais

| Substrato | Ds | Dp | PT | Ma | Mic | EA | AD | CRA |
|-----------|-------------------|------|------|------|------|--------------------------------|------|------|
| | g/cm ³ | | % | | | m ³ /m ³ | | |
| BIO | 0,32 | 1,09 | 75,1 | 0,40 | 0,35 | 0,31 | 0,04 | 0,30 |
| VC | 0,28 | 1,02 | 73,3 | 0,31 | 0,41 | 0,30 | 0,02 | 0,19 |
| VCF | 0,24 | 1,06 | 78,4 | 0,50 | 0,28 | 0,38 | 0,09 | 0,35 |
| VCB | 0,30 | 1,12 | 77,6 | 0,47 | 0,30 | 0,48 | 0,02 | 0,28 |

BIO - 100% Bioplant®; VC - 70% Vermiculita + 30% Casca de arroz carbonizada; VCF - 70% Vermiculita + 15% Casca de arroz carbonizada + 15% Fibra de coco; VCB - 40% Vermiculita + 30% Casca de arroz carbonizada + 30% Bioplant®.

2.3 Semeadura

Em cada tubete foram semeadas três sementes, as quais foram recobertas por uma camada de vermiculita de aproximadamente 0,5cm.

Os tubetes de 180 cm³ foram arranjados em bandejas de 54 células, suspenso do solo, mantidos em condições de casa de vegetação coberta com filme plástico (150 microns de espessura) e com tela de sombreamento de 50% e sistema de irrigação por nebulizador FOGGER com vazão de 7 L/h, onde foram realizadas irrigações diárias até a completa emergência das plântulas.

Após a emergência das plântulas foram realizados desbastes com a finalidade de manter uma plântula na posição central do tubete.

2.4 Instalação do experimento

Aos 60 dias após a semeadura instalou-se o experimento, onde as mudas foram mantidas em ambiente de casa de sombra coberta com tela de sombreamento de 50% de redução de luminosidade e sistema de irrigação diário por microaspersor bailarina com vazão de 85L/h. Os tubetes foram acondicionados em bandejas, de modo que a área para as mudas dos tubetes de 180 cm³ foi de aproximadamente 82 cm².

Os dados climatológicos de temperatura e higrometria foram registrados durante o período experimental no ambiente casa de sombra pelo sensor local. Foram testados quatro substratos diferentes (BIO, VC, VCF e VCB), com as mudas de *Qualea dichotoma*.

2.5 Variáveis avaliadas

2.5.1 Altura (H) e Diâmetro (DC)

Aos 60, 90, 120, 150, 180 e 210 dias após a emergência das plântulas foram mensuradas as alturas das mudas (H-cm) com auxílio de régua milimetrada posicionada no nível do substrato até a gema apical. Dessas avaliações retirou-se do banco de dados a altura das mudas referente aos 120 dias, devido a um erro de medição, totalizando cinco avaliações.

Aos 120,150, 180 e 210 dias após a emergência das plântulas foram mensurados os diâmetros do coleto das mudas (DC-mm) com o auxílio de um paquímetro digital posicionado no nível do substrato.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC) com 04 tratamentos e 04 repetições com 12 mudas. O arranjo experimental foi em parcelas subdividas (parcela principal: substrato e subparcela: tempo).

2.5.2 Área foliar (AF), Comprimento (C), Largura (L) e Perímetro (P)

Aos 165 e 215 dias após a emergência das plântulas, foram selecionadas quatro mudas por repetição em cada tratamento de maneira aleatória, onde os dois folíolos opostos presentes na parte média das mudas foram amostrados para a obtenção da área foliar (AF-cm²), comprimento (C-cm), largura (L-cm) e perímetro (P-cm) com o aparelho *Leaf Area Meter* (CI-203).

O delineamento experimental foi o mesmo utilizado no item 2.5.1.

2.5.3 Peso de matéria seca da parte aérea (PMSPA), Peso de matéria seca de raízes (PMSR), Peso de matéria seca total (PMST), Relação parte aérea e diâmetro do coleto (RHDC), Relação altura da parte aérea e peso de matéria seca da parte aérea (RHPMSPA) e Relação peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca das raízes (RPMSPAR).

Aos 215 dias após a emergência das plântulas selecionou-se as mesmas mudas do item anterior. As mudas foram retiradas dos tubetes, destorroadas com auxílio de água corrente e subdividas com auxílio de tesoura em raízes e parte aérea.

Em seguida, a parte aérea e radicial foram separadas em sacos de papel pardo para secar em estufa de circulação forçada a 75 °C até peso constante, o que foi feito por

amostragem diária. Para isso, foram realizadas pesagens duas vezes ao dia (12 em 12 horas), aleatoriamente, verificando se os tratamentos atingiram o peso constante.

Após a secagem, as amostras foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,001g para determinação das variáveis: peso de matéria seca da parte aérea (PMSPA-g) e peso de matéria seca de raízes (PMSR-g) e por meio do somatório das duas variáveis foi obtido o peso de matéria seca total (PMST-g). Com esses dados foram calculados as relações entre: parte aérea e diâmetro do coleto (RHDC), altura da parte aérea e peso de matéria seca da parte aérea (RHPMSPA) e peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca das raízes (RPMSPAR).

O Delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC) com 04 tratamentos e 04 repetições com 04 mudas.

2.6 Análise de dados

A normalidade dos dados obtidos foi testada por meio do teste de Lilliefors e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Cochran. Os dados, quando não atenderam as pressuposições de ANOVA, foram transformados para $\log x$.

Posterior a essas transformações, os dados foram analisados por meio da ANOVA e as médias comparadas pelo teste Tukey a 95% de probabilidade com auxílio do programa Statistica10.0 (Statsoft, 2010). Para efeito de comparação entre as curvas de crescimento ao longo do tempo, originadas com os dados de crescimento em altura e diâmetro do coleto das mudas, utilizou-se o procedimento de Identidade de Modelos (Regazzi, 1999).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à temperatura durante o período experimental, observou-se variação de 15°C a 22°C (Figura 1). A umidade relativa oscilou entre 75 a 85%, com exceção de uma queda na umidade do ambiente no mês de julho. Optou-se pela exclusão da avaliação da altura (H-cm) aos 120 dias após a emergência das plântulas, visto que esta variável foi afetada por um erro de medição.

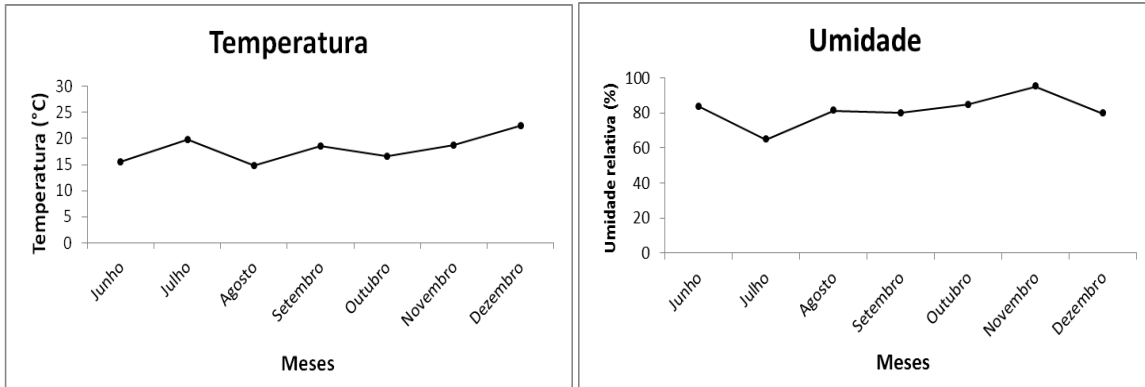


Figura 1: Resumo dos dados climatológicos de temperatura e higrometria observados durante a condução dos experimentos no ambiente casa de sombra.

3.1 Variáveis avaliadas

3.1.1 Altura (H)

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) na altura das mudas em função da interação substrato x tempo, e dos fatores substrato e tempo (Tabela 2).

Tabela 2: Resumo da análise de variância para a variável altura (H-cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., em quatro substratos, considerando-se avaliações mensais (tempo) em ambiente casa de sombra

| | FV | GL | QM |
|----------------------------|----|----|---------|
| Bloco | | 3 | 21,16 |
| Substrato | | 3 | 95,57* |
| Resíduo (a) | | 9 | 7,88 |
| CV _{exp.} (%) (a) | | - | 21,11 |
| Tempo | | 4 | 607,53* |
| Substrato * Tempo | | 12 | 5,30* |
| Resíduo (b) | | 48 | 1,65 |
| CV _{exp.} (%) (b) | | - | 9,66 |

* Significativo a 95% de probabilidade pelo teste F. FV = fonte de variação, GL = Grau de liberdade, QM = Quadrado médio e CV_{exp.} (%) = coeficiente de variação experimental.

Na Figura 2 são apresentadas as curvas de crescimento em altura (cm) da espécie *Qualea dichotoma* ao longo do tempo para os diferentes substratos. É possível notar a tendência de crescimento das mudas para todos os substratos.

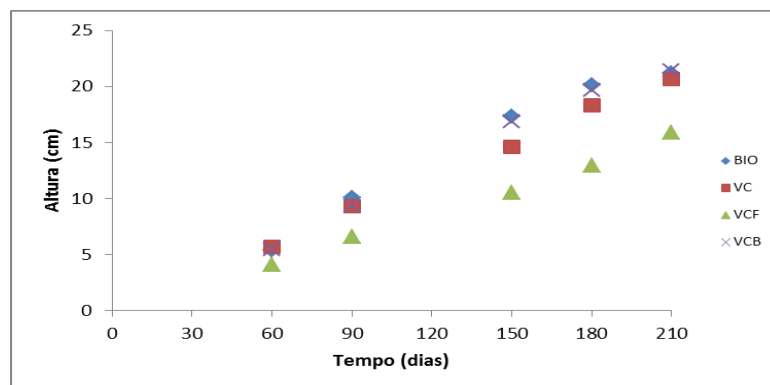
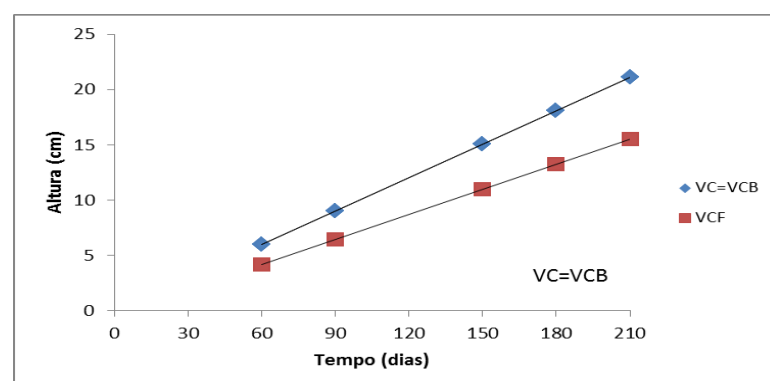


Figura 2: Curva de crescimento em altura (cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. avaliadas aos 60, 90, 150, 180 e 210 dias de idade, nos quatro substratos em ambiente casa de sombra. Substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant.

O teste de Identidade de Modelos (Regazzi, 1999) para os substratos que apresentaram tendência linear, detectou diferenças significativas entre as curvas de crescimento em altura das mudas de *Qualea dichotoma* em função do tempo (Figura 3).



$$VC=VCB = -0,34576 + 0,105126^{*}T \quad R^2_{aj}: 0,9233$$

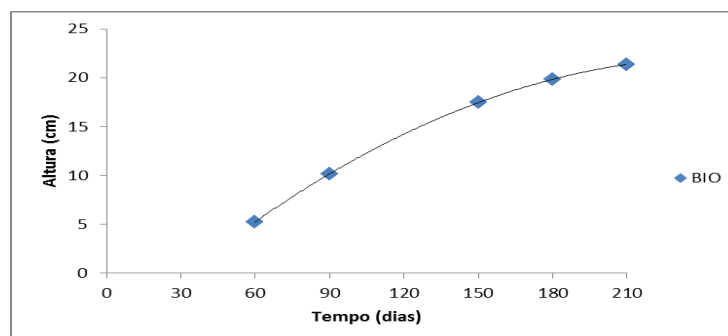
$$VCF = -0,41335 + 0,75995^{*}T \quad R^2_{aj}: 0,7622$$

Figura 3: Curva de crescimento em altura (cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. avaliadas aos 60, 90, 150, 180 e 210 dias de idade, nos três substratos em ambiente casa de sombra. Substratos: VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant. *: valores significativos a 5% de significância pelo teste T.

As curvas apresentadas pelos substratos VC e VCB mostraram-se semelhantes, enquanto o substrato VCF foi inferior aos demais (Figura 3). As tendências lineares dos substratos citados acima demonstram o potencial de crescimento em altura ao longo do tempo.

Para o substrato BIO (Figura 4), o crescimento em altura das mudas apresentou tendência quadrática, representando o início da estagnação de crescimento das mudas aos 210

dias. Santos et al. (2007), obtiveram resultados semelhantes para altura média (21,5cm) com *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl. quando utilizou-se o substrato comercial Bioplant.



$$\text{BIO} = -7,09107 + 0,233879 * T - 0,00047 * T^2 \quad R^2_{aj}: 0,9744$$

Figura 4: Curva de crescimento em altura (cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.)Warm. avaliadas aos 60, 90, 150, 180 e 210 dias de idade, no substrato BIO (Bioplant) em ambiente casa de sombra. *: valores significativos a 5% de significância pelo teste T.

Estudos relacionados à produção de mudas de espécies florestais têm mostrado grande diversidade quanto à composição de substratos no processo de produção de mudas das diferentes espécies (Braga, 2006). Observou-se neste trabalho, que os substratos VC e VCB (Figura 3) proporcionaram maior crescimento em altura ao longo do tempo para a espécie *Qualea dichotoma*.

O desempenho inferior do substrato VCF pode estar relacionado com a sua constituição que apresenta fibra de coco e conseqüentemente retém mais água (Tabela 1), pois a espécie *Qualea dichotoma* apresenta maior ocorrência sob condições de melhor drenagem (Lorenzi, 1992).

A altura é considerada como um dos mais importantes variáveis para estimar o crescimento no campo, além do que sua medição não acarreta a destruição delas, sendo tecnicamente aceita como uma boa medida do potencial de desempenho das mudas (Mexal & Lands, 1990).

3.1.2 Diâmetro (DC)

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) no diâmetro das mudas em função dos tempos (Tabela 3).

Tabela 3: Resumo da análise de variância para a variável diâmetro do coleto (DC¹-mm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., em quatro substratos, considerando-se avaliações mensais (tempo) no ambiente casa de sombra

| | FV | GL | QM |
|----------------------------|----|----|-----------------------|
| Bloco | | 3 | 0,02292 |
| Substrato | | 3 | 0,06364 ^{ns} |
| Resíduo (a) | | 9 | 0,01964 |
| CV _{exp.} (%) (a) | | - | 25,2472 |
| Tempo | | 3 | 0,25069* |
| Substrato * Tempo | | 9 | 0,00432 ^{ns} |
| Resíduo (b) | | 36 | 0,00359 |
| CV _{exp.} (%) (b) | | - | 10,7942 |

* Significativo e ^{ns} não significativo a 95% de probabilidade pelo teste F. FV = fonte de variação, GL = Grau de liberdade, QM = Quadrado médio e CV_{exp.} (%) = coeficiente de variação experimental. ¹-Dados transformados para *Log x* em virtude de não apresentarem normalidade pelo teste de Lillifors.

É possível notar a tendência linear de crescimento em diâmetro das mudas nos diferentes substratos, evidenciando o aumento gradativo, especialmente nas três primeiras avaliações (Figura 5).

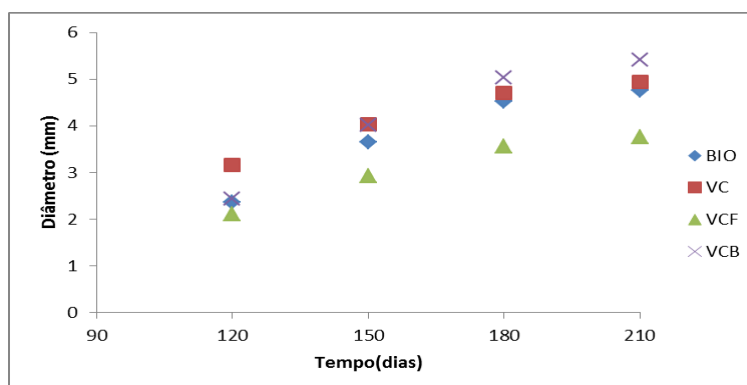
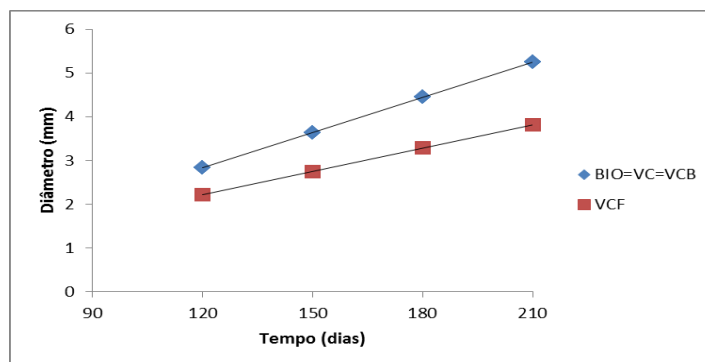


Figura 5: Curva de crescimento em diâmetro (mm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. avaliadas aos 120, 150, 180 e 210 dias de idade, nos quatro substratos em ambiente casa de sombra. Substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant.

O teste de Identidade de Modelos (Regazzi, 1999), detectou diferenças significativas entre as curvas de crescimento em diâmetro das mudas de *Qualea dichotoma* ao longo do tempo (Figura 6), onde os substratos BIO, VC, e VCB apresentaram curvas semelhantes entre si e foram estatisticamente superiores ao substrato VCF.



$$\text{BIO=VC=VCB} = -0,36512 + 0,026713 * T \quad R^2 \text{ aj: } 0,5597$$

$$\text{VCF} = 0,072829 + 0,017814 * T \quad R^2 \text{ aj: } 0,6455$$

Figura 6: Curva de crescimento em diâmetro (mm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. avaliadas aos 120, 150, 180 e 210 dias de idade, nos quatro substratos em ambiente casa de sombra. Substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant.

Sugere-se que a superioridade dos diâmetros nos substratos BIO, VC e VCB em relação ao VCF, possa ser explicada pela presença de casca de arroz carbonizada em suas formulações e conseqüentemente reteria menos água (Lopes et al. 2007), característica desejável para um bom desenvolvimento das mudas de *Qualea dichotoma*.

A maior capacidade de retenção de água no substrato VCF está relacionada com a presença de fibra de côco em sua formulação, pois tem grande capacidade de absorção e retenção de água (Figliolia et al., 1993). No entanto em alguns casos o excesso de água no substrato pode prejudicar o desenvolvimento e o crescimento da planta, pela falta de oxigênio para a raiz (Musgrave, 1994), provavelmente uma explicação para o menor crescimento em diâmetro das mudas de *Qualea dichotoma* no substrato VCF.

O crescimento em diâmetro depende das atividades cambiais, que por sua vez é estimulada a partir de carboidratos produzidos pela fotossíntese e hormônios translocados das regiões apicais. Logo, o crescimento em diâmetro é um bom indicador da assimilação líquida, já que depende da fotossíntese corrente. Plantas em estágio inicial de desenvolvimento, anterior à fase reprodutiva, crescem rapidamente tanto em extensão como em diâmetro. Conforme aumentam de tamanho, gradualmente assumem sua forma e alcançam o equilíbrio na razão parte aérea/parte subterrânea (Larcher, 2004).

O diâmetro do coleto tem sido reconhecido como um dos melhores indicadores de padrão de qualidade. As mudas de pequeno diâmetro e muito altas são consideradas de qualidade inferior às menores, mas com maior diâmetro de colo. Um maior diâmetro do colo, segundo Sturion & Antunes (2000), está associado a uma maior sobrevivência e crescimento mais acentuado do sistema radicular e da parte aérea da muda após o plantio no campo.

3.1.3 Área foliar (AF), Comprimento (C), Largura (L) e Perímetro (P)

Os resumos das análises de variâncias dos dados de Área foliar (AF-cm²), Comprimento (C-cm), Largura (L-cm) e Perímetro (P-cm) das mudas de *Qualea dichotoma* (Warm.) avaliadas aos 165 e 215 dias após a semeadura estão na Tabela 4.

Tabela 4: Resumo da análise de variância para as variáveis Área foliar (AF-cm²), comprimento (C-cm), largura (L-cm) e perímetro (P-cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., em quatro substratos, aos 165 e 215 dias após a emergência das plântulas, no ambiente casa de sombra

| FV | GL | QM | | | |
|---------------------------|----|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | AF ¹ | C ¹ | L ¹ | P ² |
| Bloco | 3 | 58,565 | 0,789 | 0,345 | 0,049 |
| Substrato | 3 | 6,357 ^{ns} | 6,458 ^{ns} | 0,967 ^{ns} | 0,997* |
| Resíduo (a) | 9 | 15,966 | 1,839 | 0,279 | 0,023 |
| CV _{exp} (%) (a) | - | 38,395 | 29,929 | 19,002 | 13,672 |
| Tempo | 1 | 37,336* | 6,547* | 1,425* | 0,263* |
| Substrato * Tempo | 3 | 0,855* | 0,071 ^{ns} | 0,038 ^{ns} | 0,010 ^{ns} |
| Resíduo (b) | 12 | 0,242 | 0,089 | 0,071 | 0,010 |
| CV _{exp} (%) (b) | - | 4,726 | 6,594 | 26,146 | 8,916 |

* Significativo e ^{ns} não significativo a 95% de probabilidade pelo teste F. FV = fonte de variação, GL = Grau de liberdade, QM = Quadrado médio e CV_{exp} (%) = coeficiente de variação experimental. ¹- Dados originais. ²- Dados transformados para Log x em virtude de não apresentarem normalidade pelo teste de Lillifors.

De acordo com a ANOVA, houve efeito significativo da interação substrato x tempo para a área foliar. Já para a característica substrato, houve efeito significativo somente para o perímetro. Todas as variáveis avaliadas foram estatisticamente significativas ao longo do tempo (50 dias).

De acordo com a Tabela 5, não ocorreu diferença significativa para a média de área foliar quando se estudou o efeito do substrato em cada tempo (165 e 215 dias). Porém, pode-se afirmar que a média de área foliar foi significativa ($p < 0,05$) com o passar do tempo para todos os substratos.

Tabela 5: Valores médios para a variável área foliar (cm²) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., em função dos tempos e dos substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant

| Substratos | Tempo em dias | |
|------------|---------------|---------|
| | 165 | 215 |
| BIO | 9,27Aa | 11,37Ba |
| VC | 8,68Aa | 10,28Ba |
| VCF | 6,70Aa | 8,54Ba |
| VCB | 8,66Aa | 11,75Ba |

A,B - em cada linha, médias seguidas de letra iguais maiúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

a,b - em cada coluna, médias seguidas de letra iguais minúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O substrato VCF apresentou a menor área foliar, o que significa, de acordo com Vieira et al. (2011), inferioridade na quantidade de carbono alocado na biomassa vegetal. Lenhard et al. (2010), estudando área foliar de mudas de Pau ferro (*Caesalpineia ferrea*) observaram diferenças significativas entre os tipos de substratos e o decréscimo no crescimento da superfície da folha.

De acordo com a Tabela 6, os substratos BIO, VC e VCB foram semelhantes entre si e superiores ao substrato VCF para o perímetro de mudas.

Tabela 6: Valores médios do perímetro (P-cm) de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm. em função dos substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant

| VARIÁVEL | SUBSTRATOS | | | |
|----------------|------------|--------|--------|--------|
| | BIO | VC | VCF | VCB |
| Perímetro (cm) | 1,27 A | 1,31 A | 1,04 B | 1,29 A |

Letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 95,0% de probabilidade.

Favarin et al. (2002) indicam o perímetro como importante na representação de produtividade, já que o processo fotossintético depende da interceptação (perímetro foliar) da energia luminosa e a conversão em energia química. Ou seja, quanto maior o perímetro da folha melhor será a capacidade fotossintética e respiratória.

3.1.3 Peso de matéria seca da parte aérea, peso de matéria seca da raiz, peso de matéria seca total, relações entre: altura da parte aérea e diâmetro de coleto; altura e peso de matéria seca da parte aérea; peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca da raiz.

De acordo com a ANOVA (Tabela 7), foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para o peso de matéria seca das raízes (PMSR-g) e para a relação peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca das raízes (RMSPAR).

Tabela 7: Resumo da análise de variância das variáveis de avaliação da qualidade de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., em quatro substratos, aos 215 dias no ambiente casa de sombra. Matéria seca da parte aérea (PMSPA-g), matéria seca da raiz (PMSR-g), matéria seca total (PMST-g), relação entre altura da parte aérea e diâmetro do coleto (RHDC), relação entre a altura e peso da matéria seca da parte aérea (RHMSPA) e relação entre peso da matéria seca da parte aérea e peso da matéria seca da raiz (RMSPAR)

| FV | GL | QM | | | | | |
|-----------------------|----|----------------------|---------|----------------------|----------------------|----------------------|----------|
| | | PMSPA | PMSR | PMST | RHDC | RHPMSPA | RMSPAR |
| Bloco | 3 | 0,1287 | 0,0051 | 0,1329 | 0,2956 | 10,771 | 2,8301 |
| Substrato | 3 | 0,5620 ^{ns} | 0,0857* | 1,0534 ^{ns} | 0,0070 ^{ns} | 20,940 ^{ns} | 20,0022* |
| Erro | 9 | 0,183 | 0,0149 | 0,2840 | 1,1438 | 24,972 | 0,8605 |
| CV _{exp} (%) | - | 25,35 | 34,24 | 26,03 | 22,18 | 31,80 | 15,87 |

* Significativo e ^{ns} não significativo a 95% de probabilidade pelo teste F. FV = fonte de variação, GL = Grau de liberdade, QM = Quadrado médio e CV_{exp} (%) = coeficiente de variação experimental.

O substrato VC apresentou o maior peso de matéria seca das raízes (PMSR) e foi superior ao substrato VCF (Tabela 8). Gomes 2001, relatou que quanto maior o peso da matéria seca das raízes melhor será a sobrevivência e o crescimento inicial das mudas no campo.

Foi observada menor relação entre peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca das raízes (RMSPAR) para os tratamentos BIO, VC e VCB evidenciando uma maior alocação de recursos nas raízes. Este fato pode ser explicado pela maior tuberosidade na raiz principal e menor peso da parte aérea (Tabela 8). Esta baixa razão pode ser atribuída a uma característica marcante das espécies arbóreas existentes no bioma cerrado, que é o crescimento muito intenso da raiz em relação à parte aérea (Godoy & Felipe, 1992), assim como acontece em espécies de outros ambientes considerados estressantes (Crick & Grime, 1987). Acredita-se que, quando os nutrientes são escassos, as espécies reduzem sua taxa de crescimento e aumentam a alocação de biomassa para as raízes, sendo este um mecanismo de adquirir recursos através de ajustes de plasticidade morfológica. Muitos autores atribuem este alto investimento em parte subterrânea a deficiência hídrica nas camadas superficiais do solo e/ou a baixa fertilidade característica de cerrado (Huante et al, 1995).

A relação entre peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca das raízes (RMSPAR) é considerado como um índice eficiente e seguro para avaliar a qualidade de mudas, onde quanto menor o valor do índice melhor é a qualidade da muda (Parviainen, 1981).

Tabela 8: Valores médios das variáveis de mudas de *Qualea dichotoma* (Mart.) Warm., aos 215 dias em ambiente de casa de sombra em função dos substratos: BIO = Bioplant, VC = 70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada, VCF = 70% vermiculita + 15% casca de arroz carbonizada + 15% fibra de côco, VCB = 40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% bioplant. Peso de matéria seca da parte aérea (PMSPA), peso de matéria seca da raiz (PMSR), peso de matéria seca total (PMST), relação entre altura da parte aérea e diâmetro do coleto (RHDC), relação entre altura e peso da matéria seca da parte aérea (RHMSPA) e relação entre peso de matéria seca da parte aérea e peso de matéria seca da raiz (RMSPAR)

| SUBSTRATOS | | | | |
|-------------------|---------|--------|--------|---------|
| VARIÁVEIS | BIO | VC | VCF | VCB |
| PMSPA (g) | 1,55A | 2,20A | 1,31A | 1,68A |
| PMSR (g) | 0,34 AB | 0,50 A | 0,16B | 0,41 AB |
| PMST (g) | 1,89A | 2,31A | 1,48A | 2,09A |
| RHDC | 4,77A | 4,87A | 4,83A | 4,79A |
| RHPMSPA | 17,17A | 12,51A | 17,53A | 15,63A |
| RMSPAR | 5,09 B | 4,90 B | 9,14A | 4,21 B |

Letras maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 95,0% de probabilidade.

A altura da parte aérea combinada com o diâmetro do coleto constitui um dos mais importantes variáveis morfológicos para estimar o crescimento das mudas após o plantio definitivo no campo. O valor resultante da divisão da altura da parte aérea pelo seu respectivo diâmetro do coleto exprime o equilíbrio de crescimento, relacionando esses dois importantes variáveis morfológicos em apenas um índice (Carneiro, 1995), também denominado de quociente de robustez, sendo considerado um dos mais precisos, pois fornece informações de quanto delgada está a muda (Johnson & Cline, 1991).

4) CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos e as condições experimentais adotadas conclui-se que:

- Existe diferença significativa no crescimento de mudas de *Qualea dichotoma* em função dos substratos.
- Os substratos VCB (40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% Bioplant ®) e VC (70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada) apresentaram os melhores resultados para a produção de mudas de *Qualea dichotoma*.

5) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAGA, E. A. **Substratos e fertilização na produção de mudas de candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) McLeisch, em tubetes.** 2006. p.77. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG.

CARNEIRO, J. G. A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais.** Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995.

CARVALHO, P. E. R. **Produção de mudas de espécies nativas por sementes e a implantação de povoamentos.** In: GALVÃO, A. P. M. Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais: um guia para ações municipais e regionais. Brasília: EMBRAPA, 2000. P. 151-174

CRICK JC, GRIME JP. **Morphological plasticity and mineral nutrient capture in two herbaceous species of contrasted ecology.** *New Phytologist* 107: 403–414. 1987

COSTA, M.C; ALBUQUERQUE, M. C. F; ALBRECHT, J. M. F; COELHO, M.F.B. **Substratos para produção de mudas de jenipapo (*Genipa americana* L.).** *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.35, p.19-24, 2005.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Rio de Janeiro, 1997.

FAVARIN, J; NETO, D, D; GARCIA, A, G; NOVA, N. A. V; FAVARIN, M, G, G, V. **Equações para a estimativa do índice de área foliar do cafeeiro.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 6, p.769-773, jun. 2002.

FIGLIOLIA, M.B.; OLIVEIRA, E.C; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. **Análise de Sementes.** In: Aguiar, I. B. de; Piña-Rodrigues, F.C.M.; Figliolia, M.B. (Coord.). *Sementes Florestais Tropicais.* ABRATES. Brasília. p.37-74, 1993.

GODOY, M.E. & FELIPPE, G.M. **Crescimento inicial de *Qualea cordata***. Revista Brasileira Botânica v.15, pág. 23-30. 1992

GOMES, J. M. **Parâmetros morfológicos na avaliação da qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis*, produzidas em diferentes tamanhos de tubete e dosagens de N-P-K**. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 2001. 126f.

GOMES, J.M.; PAIVA, H. N. **Viveiros florestais: Propagação sexuada**. 3 ed. – Viçosa: UFV, 2004

GONÇALVES, J.L.M. & POGGIANI, F. **Substratos para produção de mudas florestais**. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, 13., Águas de Lindóia, 1996. Resumos. Piracicaba, Sociedade Latino Americana de Ciência do Solo, 1996.

HUANTE, P.; RINCÓN, E. AND CHAPIN, III F. S. **Responses to phosphorous of contrasting succession tree-seedling species from the tropical deciduous forest of Mexico**. Functional Ecology, 9, 760-766. 1995

JOHNSON, J. D.; CLINE, P. M. **Seedling quality of southern pines**. In: DUREYA, M. L., DOUGHERTY, P. M. (Eds.). Forest regeneration manual. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p. 143-162.

LARCHER, W. 2004. **Ecofisiologia vegetal**. Sao Carlos SP, Editora RiMa.

LENAHRD, N. R; SCALON, S. P. Q.; NOVELINO, J. O. **Crescimento inicial de mudas de pau ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart.) sob diferentes regimes hídricos**. Ciências agrotecnicas. Vol. 34. n.º.4. pag. 870-877. Lavras Julho/Agosto. 2010.

LOPES, J. L. W.; GUERRINI, I, A.; SAAD, J, C, C. **Qualidade de mudas de eucalipto produzidas sob diferentes lâminas de irrigação e dois tipos de substrato**. Revista Árvore, Viçosa, v. 31, n. 5, p. 835-843, set./out. 2007.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992.

MEXAL, J. L.; LANDIS, T. D. **Target seedling concepts: height and diameter**. In: TARGET SEEDLING SYMPOSIUM, MEETING OF THE WESTERN FOREST NURSERY ASSOCIATIONS, GENERAL TECHNICAL REPORT RM-200, 1990, Roseburg. Proceedings... Fort. Collins: United States Department of Agriculture, Forest Service, 1990. p. 17-35.

MORAES, D. A. A. **Princípios básicos para a formação e recuperação de florestas nativas**. Brasília: MA/ADR/PNFC, p. 55, 1998.

MUSGRAVE, M. E. **Waterlogging effects on yield and photosynthesis in eight wheat cultivars**. Crop Science, Madison, v. 34, p. 1314-1318, 1994.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: Ed. UFV. Caderno didático, Ciências Agrárias n° 83, p. 7-8, 2005.

PARVIAINEN, J. V. **Qualidade e avaliação de qualidade de mudas florestais**. In: SEMINÁRIO DE SEMENTES E VIVEIROS FLORESTAIS, 1., 1981, Curitiba. Anais... Curitiba: FUPEF, 1981. p. 59-90.

REGAZZI, A. J. **Teste para verificar a identidade de modelos de regressão e a igualdade de parâmetros no caso de dados de delineamento experimental**. Revista Ceres, Viçosa, v.46, n.266, p. 383-409, 1999.

SANTOS, J.S. et al. **Plantas Nativas do Bioma Caatinga Produzidas com Esgoto Doméstico Tratado**. Revista Científica da UFPA, Belém, PA, v. 6, n. 1, 2007.

STATSOFT, INC. (2010). STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com

STURION, J. A.; ANTUNES, J. B. M. **Produção de mudas de espécies florestais**. IN: GALVÃO, A. P. M. Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais: um guia para ações municipais e regionais. Colombo: Embrapa Floresta, 2000. 351 p.

VIEIRA, E. A.; GOMES, A. S. **Desenvolvimento inicial de plantas jovens de pau-terra-do-cerrado sob diferentes regimes hídricos**. Evolução e conservação da biodiversidade. p.63. 2011

VIEIRA, J.P.G.; SOUZA, M.J.H., TEIXEIRA, J.T., CARVALHO, F.P. **Estudo da precipitação mensal durante a estação chuvosa em Diamantina, Minas Gerais**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. Campina Grande, PB. v.14, n.7, p.762–767, 2010.

CAPÍTULO 2

Micropropagação de pau-terra (*Qualea dichotoma* (Mart.) Warm.).

Resumo - O objetivo desse trabalho foi desenvolver uma metodologia básica de micropropagação a partir de sementes germinadas *in vitro* de pau-terra (*Qualea dichotoma*). Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Melhoramento Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, em Diamantina/MG. Frutos de pau-terra (*Qualea dichotoma*) foram coletados em 12 matrizes. Para a desinfestação *in vitro*, as sementes foram imersas nos tempos de 5, 10, 15 e 20 minutos em solução de hipoclorito de sódio (2,5% e 5,0%). Inoculou-se uma semente em cada tubo de ensaio contendo 10 ml do meio de cultura MS para a germinação *in vitro*. As avaliações foram realizadas diariamente, por 25 dias, registrando-se o número de sementes germinadas. Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4, com 4 repetições e 6 sementes por repetição. Das plantas germinadas *in vitro*, com aproximadamente 35 dias, foram retirados dois tipos de explantes (segmentos cotiledonares e segmentos nodais) que foram inoculados em meio de cultura WPM, suplementado com a concentração de 0,01 mg L⁻¹ de ANA, constituindo a fase de multiplicação, formada pelo cultivo inicial e dois subcultivos subsequentes. Para o cultivo inicial utilizou-se segmentos cotiledonares e nodais combinados com as concentrações de 0,1; 0,2; 0,4 e 0,6 mg L⁻¹ de BA. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4, com 4 repetições e 5 explantes por repetição. Para o subcultivo 1 e 2, o experimento foi instalado utilizando concentrações de 0,4 e 0,6 mg L⁻¹ de BAP para os segmentos nodais e para os segmentos cotiledonares concentrações de 0,2 e 0,4 mg L⁻¹ de BA. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 repetições e 5 explantes por repetição. Aos 45 dias avaliou-se o número de brotações por explante, altura da maior brotação e número de raízes emitidas para o cultivo inicial. Aos 60 dias após a instalação dos experimentos subcultivos 1 e 2, avaliou-se o número de brotações por explantes e altura da maior brotação. Para a fase de alongamento os segmentos nodais foram inoculados em meio WPM, com as concentrações de 0,0; 0,03; 0,06 e 0,09 mg L⁻¹ de BA, combinados com 0,3 e 0,9 mg L⁻¹ de ANA. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2, com 4 repetições e 4 explantes por repetição. Aos 60 dias de alongamento avaliou-se o comprimento (cm) da maior brotação. Os resultados obtidos indicam desinfestação de

sementes com 2,5% de hipoclorito de sódio durante 15 minutos proporcionando germinação média *in vitro* superior a 85%. Para a multiplicação é indicado explantes obtidos de segmentos nodais e a concentração de 0,6 mg L⁻¹ de BA adicionada ao meio de cultura. Explantes obtidos de segmentos cotiledonares são mais indicados para a emissão de raízes. As combinações utilizadas de ANA e BA não foram eficientes para o alongamento dos explantes.

Palavras chave: cultura de tecidos, multiplicação *in vitro*, espécie nativa.

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil depois da floresta amazônica, abriga uma grande biodiversidade e é listado como um dos ecossistemas mais ameaçados (hotspots) do mundo (Mittermeier et al., 1999). Sua flora é muito rica e a maioria de suas espécies apresenta múltiplos usos para o homem: alimentício, tanífero, condimentar, corticeiro, medicinal, têxtil, produtor de látex, apícola e ornamental, entre outros (Maroni et al., 2006).

O gênero *Qualea* pertence à família Vochysiaceae e se distribui amplamente pelos cerrados brasileiros. Dentre suas espécies, a *Qualea dichotoma* possui boa adaptação a áreas abertas e a terrenos pobres (Lorenzi, 1992), características indicadas para o reflorestamento de áreas degradadas. Contudo, informações sobre a propagação de *Qualea dichotoma* são escassas na literatura. Nesse sentido, é importante o desenvolvimento de procedimentos básicos que permitam o melhor aproveitamento dessa espécie.

A micropropagação é uma alternativa para conservação e utilização de espécies nativas, pois pode contornar limitações da propagação sexuada, como a baixa disponibilidade de sementes e dificuldades na germinação e armazenamento. Esta técnica visa cultivar células, órgãos e/ou tecidos isolados da planta mãe, sob condições controladas e assépticas. Permite a multiplicação de genótipos selecionados e o cultivo de espécies de ciclo longo em curto período de tempo, onde as condições controladas de luz e temperatura favorecem o desenvolvimento contínuo da espécie.

No entanto para sua efetiva utilização a micropropagação necessita de ajustes para cada espécie ou genótipo, pois esses apresentam especificidades quanto à necessidade de nutrientes e reguladores de crescimento.

Entre os reguladores de crescimento de plantas mais conhecidos e de interesses na propagação de plantas, destacam-se as auxinas e as citocininas. O equilíbrio entre auxina e citocinina é umas das relações primárias na propagação de plantas, em que uma alta relação auxina/citocinina favorece o enraizamento; uma baixa relação favorece a formação de brotações; e um alto nível de ambos favorece o desenvolvimento de calo (Xavier et al, 2009).

Diversos explantes podem ser utilizados para iniciar a micropropagação, devendo ser considerados aspectos como, o nível de diferenciação do tecido utilizado, e a finalidade da micropropagação. Teoricamente, qualquer tecido pode ser utilizado como explante, em vista da totipotência das células vegetais. Na prática, entretanto, procuram-se usar explantes que contenham maior proporção de tecido meristemático ou que tenham maior capacidade de expressar a totipotência (Grattapaglia & Machado, 1998). O estado fisiológico das plantas

matrizes também deve ser observado, pois plantas bem nutridas e sem sintomas de estresse hídrico fornecem explantes melhores (Grattapaglia & Machado, 1998).

Na micropropagação os estádios de desenvolvimento incluem basicamente a seleção do explante e obtenção de uma cultura livre de contaminantes, a multiplicação dos propágulos vegetativos, o enraizamento e a aclimação das mudas obtidas na condição *ex vitro*. A germinação *in vitro* pode ser considerada como uma etapa inicial no desenvolvimento de uma metodologia de micropropagação, gerando informações básicas para posteriormente se ajustar protocolos de multiplicação de árvores selecionados.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi desenvolver uma metodologia básica de micropropagação a partir de sementes germinadas *in vitro* de pau-terra (*Qualea dichotoma*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Sementes de pau-terra (*Qualea dichotoma*) foram coletados em 12 matrizes localizadas próximo à cidade de Mendanha – MG (18° 12' 66" S e 43° 51' 68" W), nos meses de junho e julho de 2012. Após o beneficiamento, as sementes foram acondicionadas em câmara fria durante 15 dias até o início dos experimentos.

Todos os experimentos foram conduzidos no laboratório de Melhoramento Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, localizada em Diamantina – MG, durante o período de agosto/2012 a maio/2013.

2.2 Estabelecimento das culturas assépticas

Para a desinfestação *in vitro*, as sementes foram lavadas previamente com água deionizada e colocadas em câmara de fluxo laminar, onde foram enxaguadas com água deionizada autoclavada. Posteriormente, as sementes foram imersas em solução de álcool 70% por um minuto e em seguida em solução de hipoclorito de sódio, sendo adicionados 4 a 5 gotas de Tween 20 para cada 100 ml de solução. Foram preparadas duas soluções de hipoclorito de sódio com as seguintes concentrações: 2,5% e 5,0%. Os tempos de imersão utilizados foram 5, 10, 15 e 20 minutos para cada concentração de hipoclorito de sódio, totalizando oito tratamentos. Após os tratamentos de desinfestação, as sementes foram novamente enxaguadas com água deionizada autoclavada.

Todos os tratamentos receberam 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 30 g L⁻¹ de sacarose e 7g L⁻¹ de ágar MERCK®, tiveram pH (potencial hidrogeniônico) ajustado para 5,7 ± 0,1 e foram autoclavados por 15 minutos à temperatura de 121°C e pressão de 1atm.

Após o resfriamento do meio de cultura, inoculou-se uma semente em cada tubo de ensaio (25mm x 150mm) contendo 10 ml do meio de cultura (tabela 1) composto por sais e vitaminas MS (Murashige & Skoog, 1962) para a germinação *in vitro*.

Em seguida, estes foram transferidos para sala de Cultura sob fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de aproximadamente 40 μmol m⁻² s⁻¹ e temperatura de 25 ± 2°C.

Tabela 1: Composição do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) utilizado na germinação *in vitro* de pau-terra (*Qualea dichotoma*)

| Composto | Fórmula Química | Concentração mg L ⁻¹ |
|------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Macronutrientes | | |
| Nitrato de Amônio | NH ₄ NO ₃ | 1.650,0 |
| Nitrato de Potássio | KNO ₃ | 1.900,0 |
| Cloreto de Cálcio | CaCl ₂ .2H ₂ O | 440,0 |
| Sulfato de Potássio | K ₂ SO ₄ | - |
| Nitrato de Cálcio | Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O | - |
| Fosfato de Potássio | KH ₂ PO ₄ | 170,0 |
| Sulfato de Magnésio | MgSO ₄ .7H ₂ O | 370,0 |
| Micronutrientes | | |
| Ácido Bórico | H ₃ BO ₃ | 6,2 |
| Molibdato de Sódio | NaMoO ₄ .2H ₂ O | 0,25 |
| Cloreto de Cobalto | CoCl ₂ .6H ₂ O | 0,025 |
| Sulfato de Manganês | MnSO ₄ .H ₂ O | 16,9 |
| Sulfato de Zinco | ZnSO ₄ .7H ₂ O | 8,6 |
| Sulfato de Cobre | CuSO ₄ .5H ₂ O | 0,025 |
| Iodeto de Potássio | KI | 0,83 |
| FeEDTA | | |
| Sódio EDTA | Na ₂ E.D.T.A. | 37,2 |
| Sulfato de Ferro | Fe ₂ (SO ₄) ₃ | 27,8 |
| Vitaminas | | |
| Ácido Nícotínico | - | 0,5 |
| Piridoxina.HCL | - | 0,1 |
| Tiamina.HCL | - | 0,1 |
| Glicina | - | 2,0 |

As avaliações foram realizadas diariamente, por 25 dias, registrando-se o número de sementes germinadas. Foram consideradas sementes germinadas (plantas) as que apresentavam comprimento radicular maior que dois milímetros.

Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4 (2 concentrações e 4 tempos de imersão em hipoclorito de sódio) com 4 repetições e 6 sementes por repetição.

A normalidade dos dados obtidos foi testada por meio do teste de Lilliefors e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Cochran. Os dados foram analisados por meio de análise de variância e pela análise estatística descritiva utilizando o software Statistica 10.0 (Statsoft, 2010).

2.3 Multiplicação de gemas axilares

Das plantas germinadas *in vitro*, com aproximadamente 35 dias, isentas de contaminação por microorganismos, foram retirados dois tipos de explantes (segmentos cotiledonares e segmentos nodais, com tamanho de $1,00 \pm 0,1$ cm) contendo pelo menos um par de gemas axilares.

Utilizou-se o meio WPM - Wood Plant Medium (Lloyd & McCown, 1981) com 100% da concentração dos sais e vitaminas (Tabela 2), suplementado com 100 mg L^{-1} de mio-inositol, 800 mg L^{-1} de PVP, 20 g L^{-1} de sacarose, 5 g L^{-1} de ágar MERCK®, 6-benzilaminopurina (BA) em concentrações diferenciadas e $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido naftalenoacético (ANA). O pH foi ajustado para $5,8 \pm 0,01$ e em seguida o meio foi autoclavado por 15 minutos à temperatura de 121°C e pressão de 1atm.

Tabela 2: Composição do meio de cultura WPM (Lloyd & McCown, 1981) utilizado na multiplicação *in vitro* de pau-terra (*Qualea dichotoma*)

| Composto | Fórmula Química | Concentração mg L^{-1} |
|------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Macronutrientes | | |
| Nitrato de Amônio | NH_4NO_3 | 400,00 |
| Nitrato de Potássio | KNO_3 | - |
| Cloreto de Cálcio | $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 96,00 |
| Sulfato de Potássio | K_2SO_4 | 990,00 |
| Nitrato de Cálcio | $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 556,00 |
| Fosfato de Potássio | KH_2PO_4 | 170,00 |
| Sulfato de Magnésio | $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 370,00 |
| Micronutrientes | | |
| Ácido Bórico | H_3BO_3 | 6,2 |
| Molibdato de Sódio | $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0,25 |
| Cloreto de Cobalto | $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | - |
| Sulfato de Manganês | $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 22,3 |
| Sulfato de Zinco | $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 8,6 |
| Sulfato de Cobre | $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 0,25 |
| Iodeto de Potássio | KI | - |
| FeEDTA | | |
| Sódio EDTA | $\text{Na}_2\text{E.D.T.A.}$ | 37,2 |
| Sulfato de Ferro | $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ | 27,8 |
| Vitaminas | | |
| Ácido Nícotínico | - | 0,5 |
| Piridoxina.HCL | - | 0,5 |
| Tiamina.HCL | - | 1,0 |
| Glicina | - | 2,0 |

A fase de multiplicação foi constituída pelo cultivo inicial e dois subcultivos subsequentes (subcultivos 1 e 2), onde os explantes foram inoculados verticalmente em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura previamente preparado e autoclavado.

Para o cultivo inicial foram utilizados dois tipos de explantes (segmento nodal e segmento cotiledonar) e as concentrações de 0,1; 0,2; 0,4 e 0,6 mg L⁻¹ de BA, totalizando oito tratamentos. O experimento foi conduzido em sala de cultura com fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de aproximadamente 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4 (2 tipos de explantes e 4 concentrações de BA) com 4 repetições e 5 explantes por repetição.

Para o subcultivo 1, o experimento foi instalado com os tratamentos que apresentaram melhores resultados no cultivo inicial, onde foram utilizadas as concentrações de 0,4 e 0,6 mg L⁻¹ de BA para os segmentos nodais e para segmentos cotiledonares adotou-se as concentrações de 0,2 e 0,4 mg L⁻¹ de BA, totalizando 4 tratamentos. O experimento foi conduzido em sala de cultura com fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de aproximadamente 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 repetições e 5 explantes por repetição. Para o subcultivo 2, foram utilizados os mesmos tratamentos do subcultivo 1. Visando avaliar o efeito do tipo de explante (segmentos cotiledonares e segmentos nodais), respeitou-se o histórico do explante, ou seja, no subcultivo 1 foram usadas gemas axilares retiradas de segmentos nodais e de segmentos cotiledonares do cultivo inicial, e assim sucessivamente.

Aos 45 dias para o cultivo inicial avaliou-se o número de brotações por explante (taxa de multiplicação), altura da maior brotação (medição feita na base do ágar) e número de raízes emitidas (tamanho mínimo de 0,5cm). Aos 60 dias após a instalação dos experimentos subcultivos 1 e 2, avaliou-se o número de brotações por explantes (taxa de multiplicação) e a altura da maior brotação (medição feita na base do ágar).

A normalidade dos dados obtidos foi testada por meio do teste de Lilliefors e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Cochran. Os dados foram submetidos à análise de variância e testes de média, utilizando o software Statistica 10.0 (Statsoft, 2010).

2.4 Alongamento de gemas axilares

Antes da instalação do experimento de alongamento, realizou-se o procedimento descrito a seguir visando neutralizar possíveis resquícios de reguladores de crescimento, visto que os explantes se originaram em tratamentos com diferentes concentrações de BA. Foram utilizados explantes que continham pelo menos um par de gemas axilares obtidos na fase de multiplicação. Os explantes foram inoculados verticalmente em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio WPM - Wood Plant Medium (Lloyd & McCown, 1981) com 100% da concentração dos sais e vitaminas (Tabela 2), suplementado com 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 800 mg L⁻¹ de PVP, 20 g L⁻¹ de sacarose, 5g L⁻¹ de ágar MERCK®, 0,4 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BA) e 0,01 mg L⁻¹ de ácido naftalenoacético (ANA). O pH foi ajustado para 5,8 ± 0,01 e, em seguida, o meio foi autoclavado por 15 minutos à temperatura de 121°C e pressão de 1atm.

Após 45 dias, os segmentos nodais com tamanho de 1,00 ± 0,1 cm e que continham um par de gemas axilares foram utilizados para o alongamento. Os tratamentos foram constituídos pelas combinações das concentrações de 0,0; 0,03; 0,06 e 0,09 mg L⁻¹ de BA, combinados com 0,3 e 0,9 mg L⁻¹ de ANA, totalizando 8 tratamentos. O meio de cultura básico utilizado foi semelhante ao descrito no item 2.3, porém, com modificações referentes à adição dos reguladores de crescimento (ANA e BA), conforme descrito anteriormente. Foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2 (quatro concentrações de BA e duas concentrações de ANA), com 4 repetições e 4 explantes por repetição.

Após a inoculação, os tubos com os explantes foram mantidos durante 60 dias em sala de cultura com fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de aproximadamente 40 μmol m⁻² s⁻¹ e temperatura de 25 ± 2°C.

Aos 60 dias de alongamento avaliou-se a altura (cm) da maior brotação (medição feita na base do ágar).

A normalidade dos dados obtidos foi testada por meio do teste de Lilliefors e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Cochran. Os dados foram submetidos à análise de variância e testes de média, utilizando o software Statistica 10.0 (Statsoft, 2010).

3) RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estabelecimento das culturas assépticas

Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) da interação entre concentrações x tempos de hipoclorito de sódio e de cada fator isoladamente sobre o percentual de germinação (Tabela 3).

Tabela 3: Resumo da análise de variância para o percentual de germinação (G%) de sementes de pau-terra (*Qualea dichotoma*), aos 25 dias, em função das diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (2,5% e 5,0%) e tempos (5, 10, 15 e 20 minutos)

| FV | GL | QM |
|-----------------------|----|---------------------|
| Concentração (%) | 1 | 612,5 ^{ns} |
| Tempo | 3 | 79,2 ^{ns} |
| Tempo * Concentração | 3 | 112,5 ^{ns} |
| Erro | 24 | 270,8 ^{ns} |
| Média Geral | - | 86,87 |
| CV _{exp} (%) | - | 18,94 |

ns = não significativo a 95% de probabilidade pelo teste F; FV = fonte de variação; GL = graus de liberdade; QM = Quadrado médio; CV_{exp} (%) = coeficiente de variação experimental.

O percentual de germinação médio obtido para a espécie *Qualea dichotoma* foi de 86,87% aos 25 dias (Tabela 3). A germinação foi observada a partir do segundo dia após a inoculação das sementes. O pico de germinação ocorreu entre o 4º e o 12º dia, tendendo à estabilização no 21º dia (Figura 1).

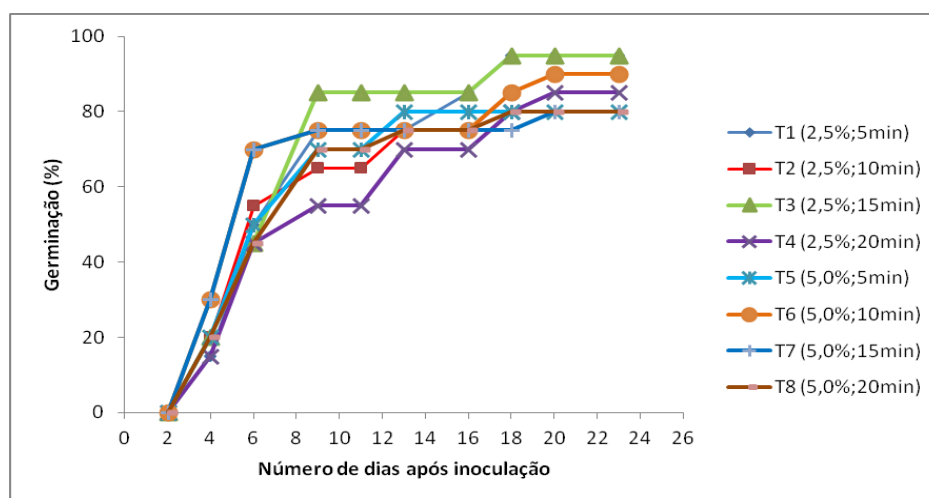


Figura 1: Curva do percentual de germinação de sementes de pau-terra (*Qualea dichotoma*) em função dos tratamentos, durante 25 dias.

A maioria dos tratamentos com a concentração de 5% de hipoclorito de sódio (T5, T7 e T8) apresentou menor taxa de germinação quando comparado aos tratamentos com concentração de 2,5% de hipoclorito de sódio (T1, T2, T3 e T4) (Figura 1).

Embora o uso de hipoclorito de sódio seja vantajoso na desinfestação das sementes de algumas espécies, muitas vezes esse tipo de tratamento pode causar efeito fitotóxico quando utilizado em concentrações elevadas, prejudicando a germinação. Talvez essa possa ser a explicação da menor taxa de germinação (Figura 2) para os tratamentos (T5, T7 e T8).

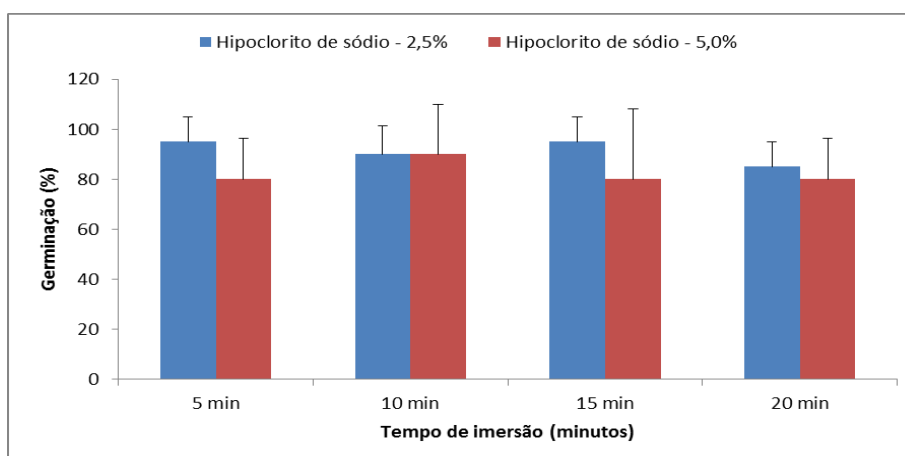


Figura 2: Percentual de germinação de sementes de pau-terra (*Qualea dichotoma*) em função dos tratamentos, aos 25 dias após a inoculação. As barras indicam o desvio-padrão.

No geral, todos os tratamentos apresentaram taxa de germinação superior a 80%. Porém os tratamentos T1 e T3 demonstram maior taxa de germinação (95%) aos 25 dias após a inoculação das sementes, sendo superior em 8,13% em relação à média geral dos tratamentos.

As sementes iniciaram a germinação dois dias após a inoculação, observando-se a emissão da radícula, e o posterior desenvolvimento de raízes primárias. A partir da segunda semana, ocorreu a emergência do epicótilo e, na sequência dos nós cotiledonares (Figura 3).

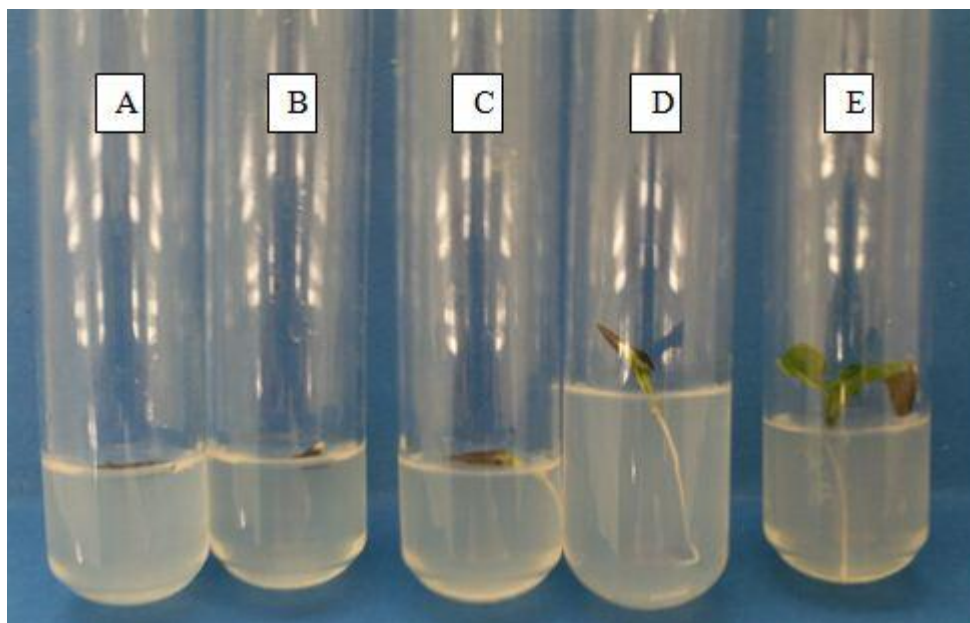


Figura 3: Sequência da germinação de sementes de *Qualea dichotoma* até o 25º dia: A) Semente inoculada; B) Emissão da radícula; C) Emissão de raiz primária; D) Emissão de cotilédone com tegumento; e E) Plântula com cotilédones abertos.

A radícula rompeu o tegumento no ápice da semente (Figura 3B) por volta do 2º dia, sendo esta de coloração esbranquiçada com a coifa amarelada; posteriormente adquire tonalidade escura e apresenta rápido desenvolvimento. Os cotilédones mantêm-se envolvidos pelo tegumento, permanecendo enrolados por mais três ou quatro dias (Figura 3C); após a expansão são opostos (Figura 3D).

Segundo Silva Júnior 2005, a espécie *Qualea parviflora* que pertence ao mesmo gênero da espécie em estudo, apresenta percentual de germinação entre 75% e 85%, corroborando com o resultado da germinação *in vitro* do presente trabalho.

Nota-se que a espécie apresentou na temperatura 25 ± 2 C°, alta taxa de germinação no período de 20 dias (Figura 1), independente do tratamento. Resultados semelhantes foram encontrados por Bilio (2013), onde as sementes de *Qualea grandiflora* apresentam protrusão de radícula superior a 90 % entre 6 e 15 dias da semente, a uma temperatura de 25 °C.

A alta taxa de germinação encontrada no experimento deve-se em partes às condições assépticas apropriadas e ao lote de sementes com qualidade. Contribuindo para ratificar essa constatação, durante o experimento não foi observada a presença de plântulas anormais da espécie *Qualea dichotoma*.

A combinação de etanol e hipoclorito de sódio ou cálcio normalmente permite o controle adequado das bactérias e dos fungos saprofíticos que infestam a superfície dos órgãos vegetais. O tempo de tratamento e a concentração da substância desinfestante são fatores

essenciais nessa etapa (Melo, 1998). No presente trabalho, o melhor resultado obtido foi desinfestação de sementes com 2,5% de hipoclorito de sódio durante 15 minutos.

3.2 Multiplicação de gemas axilares

3.2.1 Cultivo inicial

Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) da interação entre tipos de explantes e concentrações de BA e de cada fator isoladamente sobre as variáveis número de brotações e altura. Ocorreu efeito significativo ($p < 0,05$) dos fatores isolados explante e concentrações de BA sobre a variável número de raízes (Tabela 4).

Tabela 4: Resumo da análise de variância para número de brotações, altura e número de raiz aos 45 dias, em função das concentrações de BA e tipo de explante

| FV | GL | QM | | |
|-----------------------|----|----------------------|----------------------|-------------------------------|
| | | Número de Brotações | Altura | Número de raízes ¹ |
| Explante | 1 | 0,7031 ^{ns} | 0,3924 ^{ns} | 0,5470 [*] |
| BA | 3 | 0,1880 ^{ns} | 0,0943 ^{ns} | 0,2746 [*] |
| Explante*BA | 3 | 0,1591 ^{ns} | 0,1597 ^{ns} | 0,3157 ^{ns} |
| Resíduo | 24 | 0,0899 | 0,1787 | 0,0660 |
| Media Geral | - | 1,50 | 2,10 | 1,15 |
| CV _{exp} (%) | - | 19,95 | 20,11 | 22,23 |

* = significativo a 95% de probabilidade pelo teste F; ns = não significativo a 95% de probabilidade pelo teste F; FV = fonte de variação; GL = graus de liberdade; QM = Quadrado médio; CV_{exp} = coeficiente de variação experimental. ⁽¹⁾ valores transformados para $\sqrt{x + 0,5}$ por não apresentarem normalidade pelo teste Lilliefors a 95% de probabilidade, sendo x o valor observado.

Observou-se maior taxa de multiplicação dos explantes (cotiledonar e nodal) com o aumento das concentrações de BA, sendo que a resposta foi positiva até 0,4 mg L⁻¹, com 1,5 e 1,8 brotações para os explantes cotiledonares e nodais respectivamente. A partir dessas concentrações houve decréscimo na quantidade de brotações para os dois tipos de explantes (Figura 4).

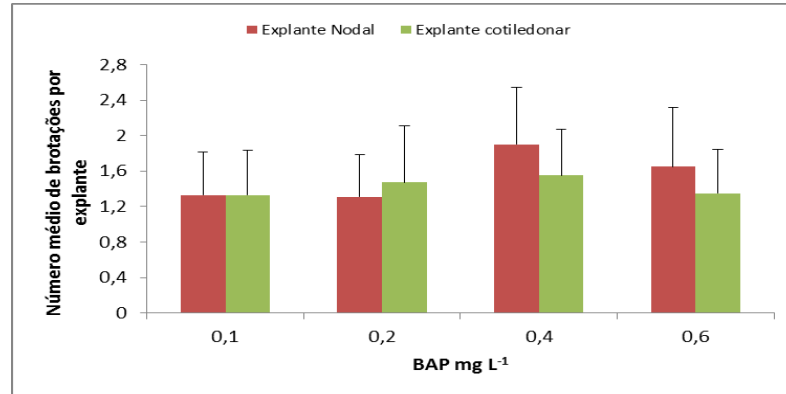


Figura 4: Número de brotações em função das concentrações de BA (mg L^{-1}), aos 45 dias para o cultivo inicial. As barras indicam o desvio padrão.

Na Figura 5, é possível observar o padrão de brotação *in vitro* da espécie *Qualea dichotoma*, onde ocorre o “lançamento” de vários brotos a partir do explante.



Figura 5: Segmento nodal de *Qualea dichotoma* do cultivo inicial, na concentração de $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ de BA, no 45º dia.

Observou-se tendência linear crescente da altura das brotações para o tipo de explante nodal com o aumento das concentrações de BA. O contrário ocorreu com o tipo de explante cotiledonar (Figura 6).

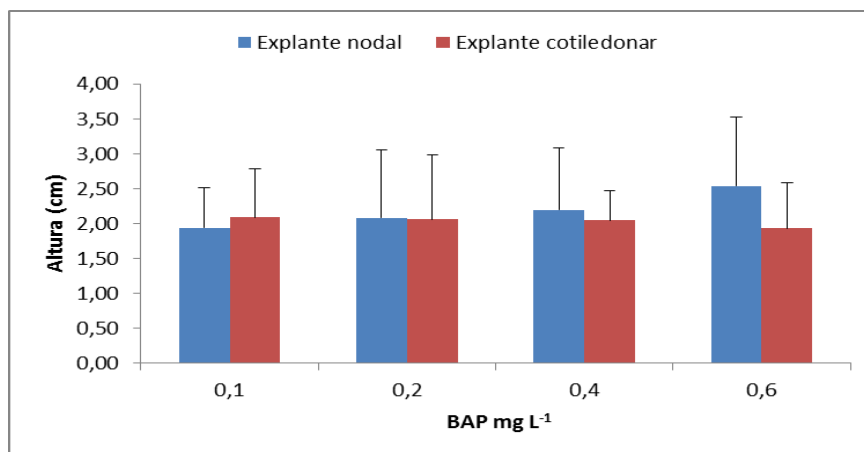


Figura 6: Altura de brotações em função da concentração de BA (mg L^{-1}), aos 45 dias para o cultivo inicial. As barras indicam o desvio padrão.

A quantidade de raiz foi superior no explante cotiledonar (Figura 7). Optou-se por não apresentar a equação ajustada para as concentrações de BA porque não é possível explicá-la biologicamente.

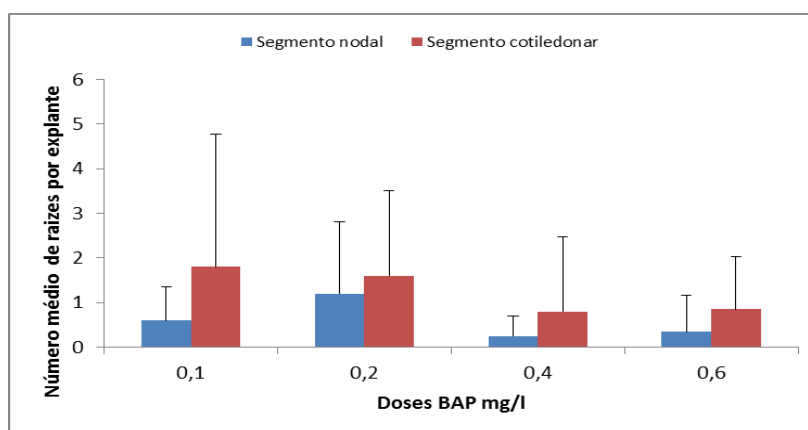


Figura 7: Número médio de raízes por explante em função da concentração de BA (mg L^{-1}), aos 45 dias para o cultivo inicial. As barras indicam o desvio padrão.

O balanço das concentrações de auxina e citocinina é importante na dominância apical e no número de eventos morfogénéticos (Li & Bangerth, 2003; Nakagawa et al., 2005). O sinergismo entre auxinas e citocininas é crítico para o controle da morfogênese *in vitro* e concentrações mais elevadas de citocininas em relação às auxinas induzem, predominantemente, a formação de gemas (Santana, 2003). Em espécies como *Spathiphyllum floribundum* L. (Ramirez-Malagon et al, 2001) e *Lippia juneliana* Cham. (Juliani Júnior et al., 1999) o aumento do número de brotações foi obtido com a combinação de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ BA e $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ ANA. No presente trabalho o segmento nodal combinado com as concentração

de 0,4 e 0,6 mg L⁻¹ de BA proporcionou os melhores resultados para a emissão de brotações (Figura 4).

Os resultados indicam que os explantes cotiledonares apresentam um maior número de raízes (Figura 7). A habilidade de emissão de raízes em segmentos cotiledonares é devida à maior juvenilidade desse tipo de explante, uma vez que o cotilédone é uma estrutura embrionária formado por meristema, tecido não diferenciado, capaz de multiplicar-se por divisão celular e formar outros tecidos (Ferri et al., 1981).

O BA é uma das citocininas de menor custo e têm sido muito eficaz na multiplicação de diversas espécies. A razão disso pode estar na capacidade dos tecidos vegetais em metabolizar os hormônios naturais mais rapidamente do que os sintéticos (Grattapaglia & Machado, 1998).

3.2.2 Subcultivo 1

De acordo com a ANOVA, não houve efeito significativo ($p > 0,05$) na variável altura em função dos tratamentos. Entretanto, a variável número de brotações apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) em função dos tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5: Resumo da análise de variância para número de brotações e altura em função dos tratamentos

| FV | GL | QM | |
|-----------------------|----|---------------------|-----------------------|
| | | Número de Brotações | Altura |
| Tratamento | 3 | 1,6339* | 0,18179 ^{ns} |
| Resíduo | 12 | 0,3534 | 0,23265 |
| Media Geral | - | 1,96 | 2,25 |
| CV _{exp} (%) | - | 21,41 | 30,32 |

* = significativo a 95% de probabilidade pelo teste F; ns = não significativo a 95% de probabilidade, pelo teste F; FV = fonte de variação; GL = graus de liberdade; QM = Quadrado médio; CV_{exp} = coeficiente de variação experimental.

De acordo com a Tabela 6, os segmentos nodais apresentaram maior valor de brotações quando comparados com os segmentos cotiledonares, sendo 0,6 mg L⁻¹ BA a melhor concentração.

Tabela 6: Número médio de brotações de *Qualea dichotma* no subcultivo 1 aos 60 dias, em função dos tratamentos

| | Número de brotações |
|-------------------------------------------------------------|---------------------|
| Tratamento 2 (Seg. Nodal + 0,6 mg L ⁻¹ BA) | 2,91A |
| Tratamento 1 (Seg. Nodal + 0,4 mg L ⁻¹ BA) | 1,73AB |
| Tratamento 4 (Seg. cotiledonar + 0,4 mg L ⁻¹ BA) | 1,64B |
| Tratamento 3 (Seg. Cotiledonar + 0,2 mg L ⁻¹ BA) | 1,55B |

Valores em uma mesma coluna, seguidos por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 95% de probabilidade.

Em segmentos cotiledonares de maneira geral, cada brotação nova possuía de três a quatro pares de folhas, e aos 50 dias ocorreu necrose apical dessas gemas, causando o amarelecimento das folhas (Figura 8). Conforme Grattapaglia & Machado (1998), uma forma de minimizar esse problema é o subcultivo das plantas após 15 dias, em um meio de cultura novo, na tentativa de evitar que as brotações percam o vigor.



Figura 8: Amarelecimento das folhas de explantes cotiledonares de *Qualea dichotoma*, no 50º dia.

3.2.3 Subcultivo 2

De acordo com a ANOVA, não houve efeito significativo ($p > 0,05$) da variável número de brotações em função dos tratamentos. Entretanto, a variável altura apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) em função dos tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7: Resumo da análise de variância para os dados de número de brotações e altura em função dos tratamentos

| FV | GL | QM | |
|-----------------------|----|----------------------|---------|
| | | Brotações | Altura |
| Tratamento | 3 | 3,3761 ^{ns} | 0,2780* |
| Resíduo | 12 | 1.0822 | 0,0617 |
| Media Geral | - | 2,97 | 2,01 |
| CV _{exp} (%) | - | 35,01 | 12,41 |

* = significativo a 95% de probabilidade pelo teste F; ns = não significativo a 95% de probabilidade, pelo teste F; FV = fonte de variação; GL = graus de liberdade; QM = Quadrado médio; CV_{exp} = coeficiente de variação experimental.

É importante ressaltar que mesmo não ocorrendo efeito significativo para o número de brotações em função dos tratamentos, a média geral do número de brotações aumentou em 1,01 brotos (51,53%), quando se compara o subcultivo 1 (1,96 brotos) com o subcultivo 2 (2,97). Esse resultado demonstra a importância dos sucessivos subcultivos na etapa de multiplicação *in vitro*.

A altura das brotações no meio de multiplicação é um fator importante, visto que as brotações oriundas da fase de multiplicação é fator determinante para as etapas posteriores de alongamento e enraizamento. O presente subcultivo demonstra que o tratamento 1 (Segmento nodal + 0,4 mg L⁻¹ BA), atingiu uma maior altura quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8: Número médio de altura de *Qualea dichotma*, em função do tratamento para o subcultivo 2.

| | Altura |
|-------------------------------------------------------------|--------|
| Tratamento 1 (Seg. Nodal + 0,4 mg L ⁻¹ BA) | 2,36A |
| Tratamento 3 (Seg. Cotiledonar + 0,2 mg L ⁻¹ BA) | 1,97AB |
| Tratamento 2 (Seg. Nodal + 0,6 mg L ⁻¹ BA) | 1,92AB |
| Tratamento 4 (Seg. cotiledonar + 0,4 mg L ⁻¹ BA) | 1,74B |

Valores em uma mesma coluna, seguidos por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 95% de probabilidade.

O número de brotações, independente do tratamento, aumentou com os sucessivos subcultivos (Figura 9), demonstrando a capacidade de multiplicação *in vitro* a espécie *Qualea dichotoma*.

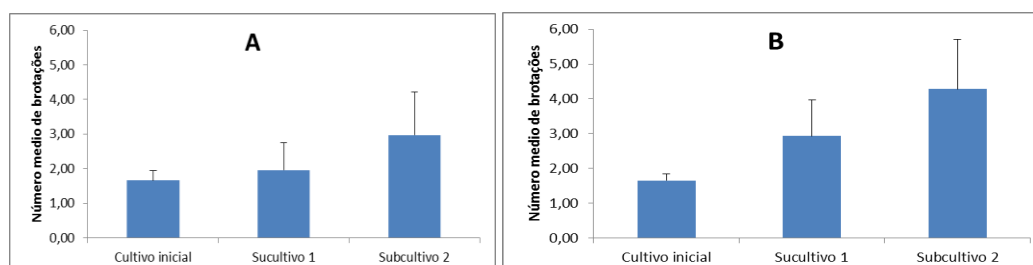


Figura 9: **A:** Número médio de brotações por subcultivo para os melhores tratamentos do cultivo inicial (Segmento nodal – 0,4 e 0,6 mg L⁻¹ BA; Segmento cotiledonar – 0,2 e 0,4 mg L⁻¹ BA) e todos os tratamentos do subcultivo 1 e 2 (Segmento nodal – 0,4 e 0,6 mg L⁻¹ BA; Segmento cotiledonar – 0,2 e 0,4 mg L⁻¹ BA). **B:** Número de brotações médias para o Segmento nodal - 0,6 mg L⁻¹ BA, no cultivo inicial e subcultivos 1 e 2.

Na multiplicação o principal objetivo é a alta taxa de multiplicação, com o mínimo de variação entre explantes, ausência de contaminantes que prejudiquem a micropropagação, gemas reativas e a produção de partes aéreas com qualidade suficiente para a fase seguinte (Xavier, 2009). De maneira geral, a resposta à maior ou menor taxa de multiplicação, normalmente tem sido estabelecida pelo balanço hormonal dos reguladores de crescimento citocininas (BA) e auxinas (ANA).

3.3 Alongamento de gemas axilares

Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) para a altura média dos explantes aos 60 dias em função dos tratamentos (Tabela 9).

Tabela 9: Resumo da análise de variância para os dados de altura aos 60 dias em função das concentrações de BA e ANA

| FV | GL | QM |
|-----------------------|----|----------------------|
| ANA | 1 | 0,1149 ^{ns} |
| BA | 3 | 0,0747 ^{ns} |
| ANA*BA | 3 | 0,0305 ^{ns} |
| Resíduo | 24 | 0,0417 |
| Media Geral | - | 1,59 |
| CV _{exp} (%) | - | 12,86 |

ns = não significativo a 95% de probabilidade, pelo teste F; FV = fonte de variação; GL = graus de liberdade; QM = Quadrado médio; CV_{exp} = coeficiente de variação experimental.

Os melhores resultados para a altura foram obtidos com 0,3 mg L⁻¹ de ANA combinado com 0,00 e 0,06 mg L⁻¹ de BA. Nas demais combinações de ANA e BA o crescimento em altura foi inferior, demonstrando balanço de reguladores de crescimento desfavorável ao alongamento (Figura 10).

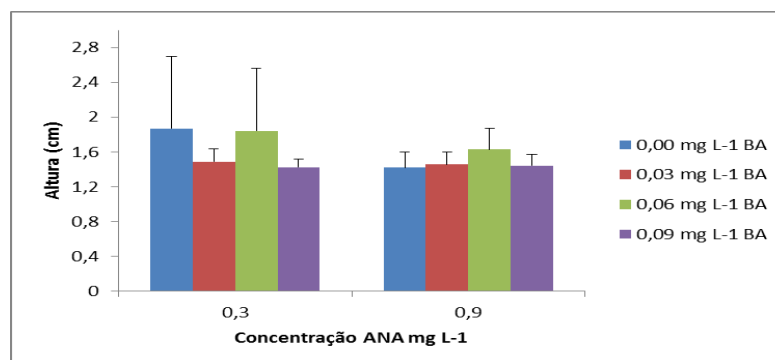


Figura 10: Altura média de explantes de *Qualea dichotoma* em função das concentrações de ANA e BA, aos 60 dias de alongamento. As barras indicam o desvio padrão.

A fase de alongamento das gemas multiplicadas foi estabelecida pela combinação de reguladores de crescimento citocininas (BA) e auxinas (ANA), a fim de obter brotações com tamanhos adequados para a fase de enraizamento. Pode-se inferir, com base nos resultados deste trabalho, que devem ser utilizadas outras combinações de citocininas e auxinas, a fim de promover maior alongamento de brotações para a espécie.

Constatou-se que houve formação de calo em alguns explantes na fase de alongamento. Jones et al. (1990) também verificaram que segmentos nodais produziram calos com a presença dos hormônios de crescimento em *Acacia saligna*. A formação de calosidade na base do segmento nodal, devido ao acúmulo de carboidratos, não é desejável nessa fase de alongamento em que a formação de calo pode comprometer o alongamento de gemas axilares e afetar o enraizamento (Grattapaglia e Machado, 1998).

4) CONCLUSÕES

Nas condições experimentais adotadas, os resultados permitem as seguintes conclusões:

- Para a germinação *in vitro* indica-se a desinfestação de sementes com 2,5% de hipoclorito de sódio durante 15 minutos.
- Para a multiplicação da espécie *Qualea dichotoma* é indicado explantes obtidos de segmentos nodais e a concentração de 0,6 mg L⁻¹ de BA adicionada ao meio de cultura.
- Explantes obtidos de segmentos cotiledonares de *Qualea dichotoma* são mais indicados para a emissão de raízes.
- As combinações utilizadas de ANA e BA não foram eficientes para o alongamento dos explantes.

5) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BILIO S. R.; GUIMARÃES; S. C.; CALDEIRA, S. F. ***Qualea grandiflora* Mart.: temperatura na germinabilidade de sementes.** Ciência Florestal, Santa Maria, v. 23, n. 1, p. 245-251, jan.-mar., 2013.
- FERRI, M. G.; MENEZES, N. L.; MONTEIRO, W. R.. **Glossário ilustrado de botânica.** São Paulo: Nobel, 1981.
- GRATTAPLAGIA, D., MACHADO, M. A. **Micropropagação.** In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA – SPI/ EMBRAPA – CNPH, v.1, 1998.
- JONES, T.C.; BATCHELOR, C.A.; HARRIS, P.J.C. **In Vitro Culture and Propagation of Acacia Species (A. Bivenosa, A. Holosericea, A. Salicina, A. Saligna, and A. Sclerosperma).** The International Tree Crops Journal , v. 6, n. 2/3, p. 183-192, 1990.
- JULIANI JUNIOR, H. R.; KOROCH, A. R.; TRIPPI, V. S. **Micropropagation of *Lippia junelliana* (Mold.).** Plant Cell, Tissue and OrganCulture. 59: 175-179p. 1999.
- LI, C.; BANGERTH, F. **Stimulatory effect of cytokininins and interaction with IAA on the release of lateral buds of peã plants from apical dominance.** J. Plant Physiol. 160: 1059-1063p. 2003.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B. **Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture.** International Plant Propagation Society Proceedings, v. 30,p. 421-427, 1981.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352 p. Santa Maria, RS, 2006.
- MARONI, B.C., DI STASI, L.C., MACHADO, S.R. **Plantas Medicinais do Cerrado de Botucatu.** São Paulo: Editora Unesp, 194 p. 2006

MELO, J. T.; J. A.; TORRES, R. A.A. **Coleta, Propagação e Desenvolvimento Inicial de Espécies do Cerrado**, p. 195-243. 556p. Planaltina/DF – 1998

MITTERMEIER, Myers N, GIL. **Hotspots: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions**. Mittermeier CG, CEMEX, Mexico City, 1999.

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

NAKAGAWA, H.; JIANG, C.J. **Overexpression of a petunia zinc-finger gene alters cytokinin metabolism and plant forms**. *J. Plant.* 41: 512-523p. 2005

RAMIREZ-MALAGON, R.; BORODANENKO, A. **Shoot number and shoot size as affected by growth regulators *in vitro* cultures of *Spathiphyllum floribundum* L.** *Scientia Horticulturae*. 89(3): 227-236p. 2001.

SANTANA, J. G. **Caracterização de ambientes de cerrado com alta densidade de pequizeiros (*Caryocar brasiliense*) na região sudeste do estado de Goiás**. Tese de mestrado. Goiânia, 100p. 2003.

SILVA JÚNIOR, M. C. **100 árvores do cerrado: guia de campo**. Brasília. Editora: Rede de sementes do cerrado, 2005. pág. 154.

STATSOFT, Inc. (2010). STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.

XAVIER, Aloisio; WENDLING, Ivar; SILVA, Rogério Luiz. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa, MG : Ed. UFV, 2009. Pág. 174.

6) CONCLUSÕES GERAIS

- A espécie *Qualea dichotoma* apresenta diferença significativa no crescimento de mudas em função dos substratos. Os substratos VCB (40% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada + 30% Bioplant[®]) e VC (70% vermiculita + 30% casca de arroz carbonizada) demonstram os melhores resultados para a produção de mudas.
- Na micropropagação, indica-se a desinfestação com 2,5% de hipoclorito de sódio durante 15 minutos para a germinação de sementes. Na fase multiplicação é indicado explantes obtidos de segmentos nodais e concentrações de 0,6 mg L⁻¹ de BA e 0,01 mg L⁻¹ de ANA adicionada ao meio de cultura WPM. Explantes obtidos de segmentos cotiledonares são mais indicados para a emissão de raízes. As combinações utilizadas de ANA e BA não foram eficientes para o alongamento dos explantes.