

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE FLORESTAS TROPICAIS

**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE *Swietenia*  
*macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose**

**Alana Chocorosqui Fernandes**

Manaus – AM  
2015

**Alana Chocorosqui Fernandes**

**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose**

Orientador: Dr. Paulo de Tarso Barbosa Sampaio

Co-orientador: Dr. Sidney A. do Nascimento Ferreira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências de Florestas Tropicais do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA/MCTI), como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências de Florestas Tropicais, área de concentração em Silvicultura.

**Fonte Financiadora: CNPq**

Manaus – AM  
2015

Aos meus pais Fernando e Marta e ao meu  
marido Elvis

Dedico

## Agradecimentos

A Deus pela vida.

Aos meus pais pelo amor, sustento e apoio.

Aos meus avós pelo constante incentivo ao estudo e exemplo de vida.

Ao meu marido, que acreditou neste projeto e se fez parte dele, sendo os braços que este trabalho precisou quando eu não aguentava o peso. Agradeço pelo estímulo e por ter acreditado sempre em mim, mesmo quando eu mesma já não acreditava.

Ao meu orientador Dr. Paulo de Tarso Barbosa Sampaio pela oportunidade, compreensão e parceria.

Ao meu co-orientador Dr. Sidney Ferreira pelos ensinamentos.

Ao Msc. Paulo Arthur do Vale e todos os demais membros do Laboratório de Sementes da FUNTAC, pela acolhida e companheirismo.

A Fundação de Tecnologia do Acre (FUNTAC) por acreditar em mim e no meu trabalho e pela infraestrutura disponibilizada.

A todos os professores que foram exemplo de profissionais, no quais me espelho a continuar crescendo.

Aos colegas de mestrado, pelos momentos de descontração, pela amizade e apoio nos estudos.

A CAPES pelo apoio financeiro, sem o qual eu não conseguiria.

Ao INPA pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

Ao Instituto Federal do Acre pela compreensão e auxílio.

A todos meus alunos pelo apoio, força e motivação que me fazem buscar este e outros títulos a fim de poder servi-los com cada vez com mais qualidade e competência.

A todos que de algum modo contribuíram para a realização deste trabalho.

“Os momentos mais esplêndidos da vida não são os chamados dias de êxito, mas sim, aqueles dias em que, saindo do desânimo e do desespero, sentimos erguer-se dentro de nós um desafio: A vida e a promessa de futuras realizações” (Gustave Flaubert).

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi definir estratégias de propagação das espécies *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose. através de estaquia e cultivo *in vitro*. Para o primeiro experimento, o material vegetal foi constituído de estacas retiradas da base e do ápice de mudas jovens de origem seminal. As bases das estacas foram tratadas pelo método de imersão rápida contendo 0, 100, 200 e 400 mg.L<sup>-1</sup> de AIB e inoculadas em bandejas com vermiculita e areia, mantidas em viveiro com sistema de nebulização intermitente, em condições normais de temperatura e umidade, com sombreamento de 70%. O experimento foi disposto em delineamento experimental de blocos casualizados, com arranjo fatorial 2x4 sendo avaliado após 60 dias. Para o cultivo *in vitro*, as sementes, com tegumento, foram previamente lavadas com detergente e água corrente. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, os tegumentos foram retirados e as sementes foram expostas a etanol 70% por 3 minutos e hipoclorito de sódio (2,5%) nos tempos 5; 10; 15; 20; 25 e 30 minutos. Foi realizada a tríplice lavagem com água destilada esterilizada das sementes, e iniciada a inoculação em meio de cultura composto de sais básicos de MS. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 7 tratamentos com 10 repetições. Cada espécie foi considerada um experimento independente. Considerando as condições em que o primeiro experimento foi conduzido, é tecnicamente viável a propagação vegetativa de *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose, por enraizamento de mudas provenientes de cepas de material de origem seminal. O ácido Indolbutírico (AIB) teve pouca influencia na propagação de das espécies estudadas. O uso de álcool 70% associado ao hipoclorito de sódio é eficientes na assepsia de sementes das espécies *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose para a germinação *in vitro*;

Palavras-chave: Propagação, assepsia, enraizamento.

## **Abstract**

## Sumário

1	INTRODUÇÃO .....	3
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	4
2.1.	DESCRIÇÃO DAS ESPÉCIES .....	4
2.1.1.	<i>Swietenia macrophylla</i> King .....	4
2.1.2	<i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. O. Grose .....	6
2.2	PROPAGAÇÃO SEXUADA DE ESPÉCIES ARBÓREAS .....	8
2.3	PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE ESPÉCIES ARBÓREAS .....	8
2.3.2	Estaquia de espécies florestais .....	9
2.3.2.1	Fatores internos que influenciam o enraizamento .....	10
2.3.2.2	Fatores externos que influenciam o enraizamento .....	12
2.4	CULTURA DE TECIDOS OU MICROPROPAGAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS .....	15
2.4.2	O cultivo <i>in vitro</i> através de sementes.....	16
3	OBJETIVOS .....	17
3.1	GERAL .....	17
3.2	ESPECÍFICOS .....	17
4	PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DO MOGNO ( <i>Swietenia macrophylla</i> King.) e IPÊ ( <i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. O. Grose) ATRAVÉS DA ESTAQUIA .....	17
4.1	LOCAL DO EXPERIMENTO.....	17
4.2	COLETA E PREPARO DAS ESTACAS .....	18
4.3	ESTABELECIMENTO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	19
4.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	19
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20
4.5.2	MOGNO ( <i>Swietenia macrophylla</i> King.) .....	20
4.5.2.1	SOBREVIVÊNCIA E ENRAIZAMENTO DAS ESTACAS .....	20

4.5.2.2	PORCENTAGEM DE ESTACAS COM CALO .....	23
4.5.2.3	BROTAÇÃO DE ESTACAS ENRAIZADAS .....	24
4.5.2.4	DIÂMETRO E COMPRIMENTO DA RAIZ MAIS GROSSA E COMPRIMENTO DA MAIOR RAIZ .....	25
4.5.2.5	NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACA .....	25
4.5.2.6	MASSA SECA DAS RAÍZES .....	26
4.5.3	IPÊ ( <i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. O. Grose).....	27
4.5.3.1	SOBREVIVÊNCIA E ENRAIZAMENTO DAS ESTACAS .....	27
4.5.3.2	PERCENTAGEM DE ESTACAS COM CALOS .....	28
4.5.3.3	DIÂMETRO E COMPRIMENTO DA RAIZ MAIS GROSSA COMPRIMENTO DA MAIOR RAIZ .....	29
4.5.3.4	NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACA .....	29
4.5.3.5	MASSA SECA DAS RAÍZES .....	30
5	MORFOGÊNESE E CULTIVO <i>IN VITRO</i> DO MOGNO ( <i>Swietenia macrophylla</i> King.) E IPÊ ( <i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. O. Grose).....	30
5.1	LOCAL DO EXPERIMENTO.....	31
5.2	DESINFESTAÇÃO DE SEMENTES .....	31
5.3	GERMINAÇÃO DE SEMENTES.....	33
5.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	34
5.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	34
5.5.2	MOGNO ( <i>Swietenia macrophylla</i> King.) .....	34
5.5.2.1	GERMINAÇÃO E DESINFESTAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE SEMENTES DE <i>Swietenia macrophylla</i> King.....	34
5.5.3	IPÊ ( <i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. O. Grose).....	36
5.5.3.1	GERMINAÇÃO E DESINFESTAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE SEMENTES DE .....	36
6	CONCLUSÃO .....	40
	REFERÊNCIAS .....	41

## Lista de figuras

Figura 1 - Detalhes das folhas, flores, frutos e sementes do Mogno ( <i>Swietenia macrophylla</i> King.).....	5
Figura 2 - Sementes aladas de ipê-amarelo ( <i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. O. Grose)..	7
Figura 3 - Viveiro com sombreamento (70%) e irrigação intermitente usado no experimento. ....	18
Figura 4 – Estacas produzidas da base de mudas de Mogno submetidas a 0, 100, 200 e 400 mg.L <sup>-1</sup> de AIB (da esquerda para direita) enraizadas. ....	22
Figura 5 – Calo em base de estaca de mogno.....	23
Figura 6 - Estacas de ipê produzidas do ápice e base (respectivamente) com presença de calo. ....	28
Figura 7 – Esquema do processo de desinfestação com sementes de Mogno. ....	32
Figura 8 - Esquema do processo de desinfestação com sementes de Ipê. ....	33
Figura 9 – a. Início da germinação de sementes de mogno. b. Contaminação fúngica e ausência de germinação em sementes submetidas a tratamento testemunha. ....	35
Figura 10 – Sementes de mogno germinadas. ....	36
Figura 11 - a. Início da germinação de sementes de ipê. b. Contaminação fúngica e ausência de germinação em sementes submetidas a tratamento testemunha. ....	37
Figura 12 – Sementes de Ipê sem tegumento. À esquerda, semente sem passar por assepsia, e a direita, semente passou por assepsia com álcool e hipoclorito.....	38
Figura 13 - Germinação de sementes de Ipê anos 30 dias.....	38

## Lista de tabelas

Tabela 1 - Comparação de médias da porcentagem de enraizamento de estacas de Mogno ( <i>Swietenia macrophylla</i> King.) submetidas ao tratamento com AIB .....	21
Tabela 2 - Comparação de médias do número de brotações de estacas de Mogno ( <i>Swietenia macrophylla</i> King.) enraizadas.....	25
Tabela 3 - Comparação de médias da massa seca de raízes de estacas de Mogno ( <i>Swietenia macrophylla</i> King.).....	26
Tabela 4 - Comparação de médias do número de raízes por estacas de Ipê ( <i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. O. Grose) submetidas ao tratamento com AIB .....	30
Tabela 5 – Efeito do tempo de exposição ao hipoclorito, álcool e imersão em água destilada estéril na desinfestação de explantes de mogno ( <i>Swietenia macrophylla</i> King) após 60 dias de inoculação.....	35
Tabela 6 – Efeito do tempo de exposição ao hipoclorito, álcool e imersão em água destilada estéril na desinfestação de explantes de Ipê ( <i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. O. Grose) após 60 dias de inoculação. ....	37

## 1 INTRODUÇÃO

A intensa exploração de espécies nativas de elevado valor econômico tem causado forte pressão sobre as florestas, reduzindo a variabilidade genética das populações remanescentes da Amazônia. Este fato tem estimulado estudos e pesquisas sobre formas de propagação e produção de mudas visando o aumento das áreas de plantios com fins comerciais, a recuperação de áreas degradadas e programas de conservação e melhoramento genético.

Grande parte da propagação de espécies florestais se dá pela via sexual, pois a falta de informações silviculturais, o menor domínio técnico e menores custos iniciais, tornam essa à prática mais comum (DIAS *et al.*, 2012), contudo, nem sempre esta se constitui exequível. O fato é que a propagação via semente de espécies como o Mogno (*Swietenia macrophylla* King) e Ipê (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose) que apesar de possuírem produção anual de sementes, e capacidade de armazenamento e conservação com elevado poder germinativo, tem seu uso limitado pela dificuldade de coleta, por se tratarem de sementes aladas (LOUREIRO *et al.*, 1979; FERREIRA *et al.*, 2004).

O uso de sementes para a propagação de plantas, em geral, resulta ainda em indivíduos não uniformes, sujeitos a baixa qualidade e grande variação genotípica, refletindo na produtividade das espécies (DIAS *et al.*, 2012). Entretanto, a propagação vegetativa possibilita a clonagem de indivíduos com genótipos desejáveis visando plantios comerciais com melhoria na qualidade dos produtos, resistência a pragas e doenças, adaptações a condições específicas além de redução do tempo de início da produção (XAVIER *et al.*, 2009).

Além disso, crescente demanda por mudas de espécies nativas na recomposição de áreas degradadas, matas ciliares e reservas legais fortalecem a necessidade do desenvolvimento de técnicas de propagação que potencializem sua produção (INOUE & PUTTON, 2007). Investigar formas alternativas a via sexual, para a propagação de espécies arbóreas nativas da Amazônia se torna essencial para a manutenção destas espécies e sua reintrodução no ambiente natural, ou em plantios comerciais.

Dentre as técnicas de propagação vegetativa, a estaquia e a miniestaquia são amplamente utilizadas na produção de mudas de Eucalyptus (HIGASHI *et al.*, 2000;

GOULART & XAVIER, 2010; BORGES *et al.*, 2011). Diante das vantagens na produção de mudas dessa espécie, é importante a implementação destas técnicas no cultivo de espécies nativas visando à multiplicação de genótipos importantes (SAMPAIO, 1987; MENEZES, 2006).

A micropropagação também tem sido difundida na área florestal, principalmente relacionada a programas de melhoramento genético com espécies do gênero *Eucalyptus* (XAVIER *et al.*, 2009). Esta técnica difundida pela floricultura demonstra viabilidade em frutíferas e possivelmente em lenhosas nativas, sendo importante o desenvolvimento de trabalhos na área.

Os métodos de propagação vegetativa mais utilizados na área florestal são a enxertia, a estaquia e a cultura de tecidos, sendo os dois últimos, objeto de estudo deste trabalho. Sendo assim, o objetivo deste é conduzir estudos para definição de estratégias de propagação da espécie *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. DESCRIÇÃO DAS ESPÉCIES

#### 2.1.1. *Swietenia macrophylla* King

*Swietenia macrophylla* King, pertencente à família *Meliaceae*, é uma espécie conhecida popularmente como mogno ou aguano, distribuída naturalmente no México, Belize, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicarágua, Costa Rica, Panamá, Colômbia, Venezuela, Equador, Peru, Bolívia e Brasil. No Brasil, ocorre nos estados do Pará, Maranhão, Tocantins, Mato Grosso, Rondônia, Acre e Amazonas (LOUREIRO *et al.*, 1979; LORENZI, 1996; LIMA & GALVÃO, 2005). Habitam diferentes ambientes da paisagem, desde áreas úmidas e pantanosas a áreas bem drenadas com elevada precipitação pluvial, sendo mais comum nesta última (GROGAN *et al.*, 2002; LIMA & GALVÃO, 2005).

A espécie possui baixa distribuição na floresta, geralmente menos de uma árvore por hectare, sendo porém, encontradas aglomeradas, em manchas mais densas na região do Acre e Pará, possuindo concentrações ainda em Rondônia, Amazonas, Mato Grosso e Maranhão (GROGAN *et al.* 2002).

Trata-se de uma árvore de grande porte, podendo chegar a 50 metros de altura (LIMA & GALVÃO, 2005). Possui fuste retilíneo com sapopemas, com presença de sulcos na casca (LOUREIRO *et al.*, 1979).

As folhas (Figura 1) são compostas e paripinadas, com disposição alterna espiralada. As flores são unissexuais de cor branca ou creme (LOUREIRO *et al.*, 1979). A espécie é monoica e predominantemente alógama. Possui reprodução anual, iniciando sua fase reprodutiva por volta dos 12 a 15 anos de idade. Apresenta floração no final da época chuvosa, entre março e abril, e frutificação no final da época seca, entre outubro e novembro (LIMA & GALVÃO, 2005).

Os frutos são capsulas lenhosas deiscentes de coloração marrom, que liberam as sementes aladas (LOUREIRO *et al.*, 1979). Os frutos devem ser coletados antes da deiscência natural, ainda na árvore (LIMA & GALVÃO, 2005).



Figura 1 - Detalhes das folhas, flores, frutos e sementes do Mogno (*Swietenia macrophylla* King.).

Fonte: GROGAN *et al.* (2002).

As sementes são do tipo recalcitrante e podem ser armazenadas secas com teores de umidade entre 4 a 5%. A germinação é hipógea e criptocotiledonar, com período de germinação variando de 20 a 25 dias (LOUREIRO *et al.*, 1979).

E considera uma madeira nobre, de maior valor econômico no mundo, características como sua cor, estabilidade dimensional e características organolépticas, proporcionam fácil acabamento e diversidade nos usos (VERÍSSIMO *et al.*, 1995). A madeira é moderadamente pesada (0,55 a 0,70 g/cm<sup>3</sup>), altamente resistente ao ataque de fungos e insetos e de fácil trabalhabilidade (LOUREIRO *et al.*, 1979).

A árvore também possui potencial paisagístico, podendo ser usado na arborização urbana (LOUREIRO *et al.*, 1979; LAMB, 1996; GROGAN *et al.*, 2002; LIMA & GALVÃO, 2005).

Por sua ampla utilização e rentabilidade, vem sofrendo forte pressão de exploração, colocando a espécie em risco de extinção. A exploração predatória da espécie vem provocando a destruição do germoplasma das árvores com características mais desejáveis para a produção madeireira, as quais representam potencial de conservação como árvores matrizes.

Segundo a Instrução Normativa N° 6, de 23 de setembro de 2008, a espécie *Swietenia macrophylla* encontra-se na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção. Por essa razão, o uso do mogno em plantios comerciais ou em reflorestamentos tem sido dificultada. Técnicas de propagação vegetativa podem ser consideradas como estratégias na preservação de espécies nativas ameaçadas de extinção e na formação de bancos de germoplasma (SANTOS, 1994).

Além disso, o cultivo do mogno apresenta dificuldades, visto sua susceptibilidade ao ataque pela broca-do-ponteiro, uma mariposa (*Hypsipyla grandella*). A larva deste inseto ataca as mudas ou plantas, em desenvolvimento no campo, danificando o botão terminal, o que causa a perda da dominância apical, resultando em um fuste mal formado (LOUREIRO *et al.*, 1979; LIMA & GALVÃO, 2005).

### 2.1.2 *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose

Pertencente à família Bignoniaceae, o ipê-amarelo (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose) é uma espécie arbórea que atinge de 5 a 25 metros de altura, possui tronco cilíndrico, fissurado, com desprendimento de pequenas placas (LORENZI, 1992).

Ocorre na Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Peru, Suriname, Trinidad & Tobago, Venezuela e no Brasil, onde é encontrada desde a Amazônia e Nordeste até o estado de São Paulo; é característica de florestas pluviais densas, preferindo ambientes

de solos bem drenados (CARVALHO, 1994; FERREIRA *et al.*, 2004; SALMAN *et al.*, 2008).

A madeira é pesada, muito dura e resistente ao apodrecimento e ataque de xilófagos. Essa é moderadamente difícil de ser processada, porém de secagem fácil é rápida. A madeira é empregada em marcenaria, construções pesadas e estruturas externas, tanto civis quanto navais. É também utilizada em paisagismo e arborização urbana por causa de suas atrativas flores amarelas (FERREIRA *et al.*, 2004). O seu princípio ativo é o lapachol, uma naftoquinona que está presente tanto nas cascas do caule como na serragem da madeira (MATOS, 2000). Seu grande porte e sistema radicular superficial limitam sua utilização em calçadas (FERREIRA *et al.*, 2004; SALMAN *et al.*, 2008).

É uma planta decídua, heliófila, característica de florestas pluviais densas, sendo encontradas também em formações secundárias como capoeiras. Habita preferencialmente solos bem drenados situados nas encostas (LORENZI, 1992). As folhas são opostas, digitadas e penta-foliolada. Possuem flores hermafroditas e os principais agentes polinizadores são abelhas. A floração é sincronizada, rápida e anual, ocorrendo logo após ou durante a queda completa das folhas (FERREIRA *et al.*, 2004).

As sementes (Figura 2) numerosas são retangulares, laminares, leves com asas curtas. A dispersão é feita pelo vento, devendo sua coleta ser realizada diretamente da árvore, ainda no fruto. Estes devem ser secos ao ambiente, quando fissurados, pode-se proceder à liberação das sementes (FERREIRA *et al.*, 2004). Floresce entre julho e agosto e frutifica de outubro a novembro. Em geral as flores surgem juntamente com as folhas jovens (RIZZINI, 1978).



Figura 2 - Sementes aladas de ipê-amarelo (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose)

A propagação dessa espécie ocorre, principalmente, por sementes (CARVALHO, 1994). A germinação é epígea e a espécie não possui dormência. Em torno de seis dias já é possível identificar a profusão da raiz primária. Possui elevado percentual de germinação, podendo chegar a 100% (FERREIRA *et al.*, 2004).

## 2.2 PROPAGAÇÃO SEXUADA DE ESPÉCIES ARBÓREAS

A propagação via semente e a principal forma de propagação de plantas (FACHINELLO *et al.*, 2005). O processo germinativo pode ser influenciado por fatores internos, como dormência, qualidade da semente e potencial germinativo da espécie, e fatores externos, como luz, água, gases e temperatura (HOFFMANN *et al.*, 1998).

Quando se busca a produção de mudas para fins ambientais, como recuperação de áreas degradadas e recomposição de áreas de proteção ambiental, a propagação seminal é tecnicamente mais recomendada, pois permite uma maior variabilidade genética. Quando o objetivo são plantios comerciais esse tipo de propagação se torna inapropriado.

Grande parte dos estudos relacionados à propagação de espécies florestais está relacionada com a propagação sexual destas plantas visto a falta de informações silviculturais, o menor domínio técnico e menores custos iniciais desta prática (DIAS *et al.*, 2012).

Porém, alguns aspectos relacionados a sementes, inviabilizam seu uso, como dificuldade de armazenamento, produção irregular, falta de informações fenológicas e heterogeneidade do material vegetal. O uso de sementes para a propagação de espécies resulta em indivíduos não uniformes, sujeitos a baixa qualidade e grande variação genotípica, refletindo na produtividade das espécies (DIAS *et al.*, 2012).

A propagação do mogno por meio de sementes esbarra na difícil execução de coletas devido ao porte da árvore e à perda da viabilidade em um curto espaço de tempo quando em campo (LAMEIRA, *et al.*, 2006).

## 2.3 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE ESPÉCIES ARBÓREAS

A propagação vegetativa de espécies florestais constitui uma alternativa na superação do gargalo na propagação de plantas por sementes, gerando indivíduos uniformes (HARTMANN *et al.*, 2002). A propagação assexuada, quando aplicada em indivíduos selecionados, possibilita melhoria na qualidade dos produtos, gerar indivíduos resistentes a pragas e doenças, adaptações a condições específicas e de rápido incremento no número de

plantas, já que se pode produzir inúmeras mudas a partir de uma única planta matriz (FERRI, 1997). Além disso, a propagação vegetativa assume grande importância quando se deseja multiplicar um genótipo com características superiores (PAIVA & GOMES, 2005), favorecendo programas de melhoramento genético.

A propagação vegetativa ou clonal já representa importância na produção comercial de espécies ornamentais e frutíferas e pode ser uma alternativa para a reprodução de plantas que produzem poucas sementes, ou que germinem com dificuldade e também para aquelas cuja propagação por sementes tenha alto custo, como é o caso de algumas plantas nativas.

As técnicas de propagação vegetativa são alternativas de superação de dificuldades na propagação de espécies nativas, auxiliando em atividades de fim comercial, no resgate e conservação de recursos genéticos florestais (DIAS, *et al.*, 2012).

Dentre as desvantagens desta técnica pode-se citar o estreitamento da base genética das espécies, tornando-as pouco flexíveis às mudanças ambientais e mais vulneráveis a doenças (ASSIS, 1986). Para contornar esse problema, o número de plantas matrizes para a coleta do material vegetal deve variar entre 30 a 50 indivíduos (ASSIS, 1986).

As principais técnicas de propagação vegetativa são mergulhia, enxertia, estaquia e micropropagação.

### 2.3.2 Estaquia de espécies florestais

Dentre as técnicas de propagação vegetativa, a estaquia se destaca como um método econômico viável para o estabelecimento de plantios clonais, pois permite a produção de novos indivíduos em um período curto de tempo e com baixos custos (CHAPMAN, 1989; PAIVA & GOMES, 2005).

Esta técnica consiste na produção de uma nova planta a partir de partes de uma planta matriz, onde se coloca em meio adequado para que forme um sistema radicular adventício e também desenvolva a parte aérea (PAIVA & GOMES, 2005).

É uma técnica de propagação vegetativa amplamente utilizada na propagação de eucalipto, podendo ser viável em espécies nativas (PAIVA & GOMES, 2005). O enraizamento de estacas tem sido comumente utilizada para a clonagem de plantas lenhosas (XAVIER *et al.*, 2009).

As estacas podem ser obtidas de diferentes partes da planta, como folhas, raízes ou caule (PAIVA & GOMES, 2005). As estacas foliares e radiculares possuem pouca aplicação em silvicultura, sendo mais comuns estacas foliares na floricultura e jardinagem. Estacas

caulinares representam o método mais difundido na propagação vegetativa (GOMES, 1987), são mais vantajosas pela fácil obtenção e disponibilidade do material (ONO & RODRIGUES, 1996).

Quando retirada do caule, as estacas podem ser herbáceas ou lenhosas. Estacas lignificadas tendem a apresentar difícil enraizamento, sendo estacas mais herbáceas, portanto mais jovens, as de maior capacidade de regeneração (BROWSE, 1979).

A capacidade de um caule emitir raiz depende de características genéticas da planta, do tratamento recebido, e da interação de fatores que se encontram presentes nas células daquela estaca, mas também das substâncias transportáveis produzidas nas suas folhas e gemas. Dentre essas substâncias estão às auxinas, os carboidratos (HARTMANN & KESTER, 2002, compostos nitrogenados e as vitaminas, sendo que as substâncias que agem em conjunto com as auxinas para atuar na formação de raízes podem ser denominadas cofatores do enraizamento. Fatores extrínsecos à planta, como temperatura, umidade e oxigênio, desempenham papel importante neste processo (JANICK, 1966).

#### 2.3.2.1 Fatores internos que influenciam o enraizamento

Entre os fatores internos destaca-se a concentração de hormônios vegetais. Naturalmente as estacas já possuem fitohormônios endógenos, que podem promover ou inibir o enraizamento, sendo necessário o balanceamento entre auxinas, giberilinas, citocininas e cofatores (HARTMANN *et al.*, 2002).

As auxinas são consideradas as principais substâncias indutoras do enraizamento adventício (HARTMANN & KESTER, 2002), principalmente para espécies de difícil enraizamento. O ácido indol acético (AIA) é uma auxina natural, que atua em conjunto com carboidratos, compostos nitrogenados e vitaminas na indução ao enraizamento. Este fitohormônio é sintetizado principalmente no meristema apical e em folhas jovens e é transportado em sentido polarizado, do meristema apical até as extremidades das raízes (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O ácido Indolbutírico (AIB) e o ácido naftaleno acético (ANA) também são exemplos de auxinas. O AIB é considerado um dos melhores estimulantes de enraizamento adventício, tanto na estaquia como na miniestaquia de espécies florestais (WENDLING *et al.*, 2005), visto que é foto estável e não degradado por processos enzimáticos. Já a auxina AIA pode ser degradada na planta por meio da foto-oxidação e por oxidação enzimática

(WACHOWICZ & CARVALHO, 2002), e a ANA é um composto tóxico a planta (ALVARENGA & CARVALHO, 1983; HARTMANN *et al.*, 2002).

Estacas que apresentam difícil enraizamento em condições naturais devem ser tratadas com reguladores de crescimento, o que pode estimular a iniciação do sistema radicular, elevar os percentuais de estacas enraizadas, acelerar o tempo de desenvolvimento das raízes, reduzindo assim o tempo de enraizamento (ALVARENGA & CARVALHO, 1983).

Estes compostos podem ser aplicados nas bases das estacas de três formas, imersas em soluções, misturadas a talco ou em pastas (PADUA, 1983). A aplicação do talco é muito utilizada por ser de fácil manuseio, porém pode ser lixiviado com o tempo, e por não se ter uma homogênea aplicação, acarreta em enraizamento não uniforme (FORTES, 1998). O uso de soluções possibilita uma aplicação homogênea, mais neste caso, o tempo de exposição da estaca e a concentração da solução geram variações no percentual de enraizamento ou até toxicidade ao tratamento (ONO & RODRIGUES, 1996).

Para o enraizamento é necessário que haja equilíbrio entre auxinas, carboidratos e compostos nitrogenados (ONO & RODRIGUES, 1996). As auxinas, além de atuar nas células envolvidas na iniciação radicular, podem atuar na movimentação direcional dos nutrientes. Assim, a acumulação de auxinas exógenas na base das estacas, pode afetar no acúmulo de outros compostos necessários para o enraizamento.

As gemas e folhas exercem influência sobre o enraizamento de estacas, pois atuam na produção de auxinas e outras substâncias essenciais no enraizamento (PAIVA & GOMES, 2005). Estacas com folhas, em geral, respondem com maior sucesso ao enraizamento, apresentando maior indução radicular, maior número e comprimento de raízes, principalmente quando tratadas com auxinas exógenas (XAVIER *et al.*, 2003).

Segundo Hartmann *et al.* (2002), as plantas podem ser classificadas, de acordo com sua capacidade de enraizamento, em três grupos:

1. Plantas de fácil enraizamento: possuem em seus tecidos substâncias endógenas necessárias à iniciação radicular e não é necessária a aplicação de qualquer substância exógena para que as estacas formem raízes;
2. Plantas relativamente fáceis de enraizar: possuem em seus tecidos os cofatores necessários, mas não possuem auxinas suficientes. Neste caso, com a aplicação de auxinas exógenas, obtêm-se sucesso no enraizamento das estacas;

3. Plantas de difícil enraizamento: não apresentam um ou mais cofatores, independentemente da quantidade de auxinas endógenas. Neste caso, somente a aplicação de auxinas exógenas não é suficiente para o enraizamento das estacas.

Um bom enraizamento, portanto, depende ainda de cofatores, que são substâncias endógenas capazes de atuar sinergicamente com auxinas no estímulo ou inibição do enraizamento (ALVARENGA & CARVALHO, 1983).

A concentração de carboidratos na estaca também se relaciona com o enraizamento. Os carboidratos representam fonte de energia para a produção de produtos metabólicos, mas durante o período de enraizamento, podem também interferir no número de raízes formadas e no desenvolvimento destas, não necessariamente controlando todo o mecanismo (VEIERSKOV, 1988). Em várias espécies ocorre aumento da concentração de carboidratos totais após as estacas serem tratadas com auxina, seguindo de um gradual decréscimo durante os estágios de desenvolvimento das raízes (BASAK *et al.*, 1995).

Durante o enraizamento, as taxas de fotossíntese são baixas ou nulas, sendo uma alternativa para o fornecimento de energia, a quebra de amido armazenada nas estacas. A condição de irradiação da planta matriz e sua produção fotossintética podem interferir na produção e acúmulo de fotoassimilados e no potencial de enraizamento das estacas (DAVIS, 1988).

#### 2.3.2.2 Fatores externos que influenciam o enraizamento

Muitos fatores ambientais podem regular o desenvolvimento radicular das estacas, incluindo umidade, substrato, temperatura, luz e reguladores de crescimento (PAIVA & GOMES, 2005). Uma condição ambiental favorável contribui para a redução do estresse e consequente estímulo radicular.

É necessário manter a turgescência da estaca através do controle da umidade relativa dentro da casa de vegetação, o que é possível através de sistema de nebulização. Essa fina película de água que se formará sobre as folhas da estaca, reduz a transpiração e mantém a temperatura relativamente constante. Recomenda-se a manutenção da umidade relativa do ar na região da folha em torno de 80 a 100% para se evitar a elevada transpiração (PAIVA & GOMES, 2005). A manutenção das funções da folha pode ser decisiva no enraizamento de algumas espécies (HARTMANN *et al.*, 2002).

A morte da estaca por dessecação é uma das principais causas de não enraizamento, já que a ausência de sistema radicular impossibilita a absorção de água mesmo com a continua

perda de água pela transpiração de brotações e folhas (JANCIK, 1966). O excesso de água também é prejudicial, pois pode dificultar as trocas gasosas e favorecer o aparecimento de enfermidades, o que resulta em não enraizamento e morte da estaca (XAVIER & SANTOS, 2002).

A temperatura representa importante função na regulação do metabolismo das estacas, fornecendo condições para que haja a indução, desenvolvimento e crescimento das raízes nas bases da estaca, como também na parte aérea, para a manutenção e sobrevivência de folhas e gemas, sendo a flutuação de temperatura prejudicial (BERTOLOTTI; GONÇALVES, 1980).

Devem-se evitar altas temperaturas, pois o aumento do metabolismo, apesar de estimular o enraizamento, estimula também à perda de água.

A luminosidade é de fundamental importância na emissão radicular, uma vez que é fonte de energia na fotossíntese. Segundo JANICK (1966), o papel da luz como estimuladora do enraizamento varia conforme a espécie e o método de propagação. Estacas semilenhosas e herbáceas reagem positivamente à luz, devido sua ação sobre a síntese de carboidratos, enquanto nas estacas lenhosas, possuidoras de reserva suficiente, o enraizamento é melhor na ausência de luz, sendo, provavelmente devido ao acúmulo de auxinas e de outras substâncias, que são instáveis na presença desta.

Para estacas com folhas, deve-se fornecer luminosidade a fim de se permitir a fotossíntese e o acúmulo na estaca de substâncias indutoras de enraizamento (HARTMANN & KESTER, 2002). Nas condições brasileiras, a elevada taxa de luminosidade, principalmente na região amazônica, pode causar a insolação excessiva da estaca, sendo necessária a proteção com sombreamento de 50% (PAIVA & GOMES, 2005).

O substrato tem a função de sustentar as estacas durante o enraizamento, proporcionando umidade, ambiente escuro, reduzindo a insolação na base da estaca e permitindo aeração (HARTMANN & KESTER, 2002). O oxigênio é fundamental na respiração celular durante o processo de formação de calos e emissão das raízes (HARTMANN *et al.*, 2002).

A qualidade do sistema radicular também é afetada pelo substrato (JANICK, 1966; PAIVA & GOMES, 2005). Os mais usados são vermiculita, turfa, serragem, casca de arroz carbonizada, moinha de carvão, terriço, espuma de poliuretano, turfa e diversas misturas destes, não sendo consenso o uso desses, devendo-se observar as características da espécie e condições de desenvolvimento da estaquia (PAIVA *et al.*, 1996).

A época do ano, em algumas situações, exercer influencia sobre o enraizamento. Para espécies de fácil enraizamento, esse fator pode não interferir, mas aquelas de difícil enraizamento, o período de maior enraizamento coincide com a estação de repouso ou com a estação de crescimento (HARTMANN *et al.*, 2002).

MURAYAMA (1973) recomenda a coleta de estacas durante o período de repouso vegetativo, quando os ramos estariam com maior acumulo de reserva. Além do nível endógeno de auxina, as estações do ano estão relacionadas com a presença ou ausência de cofatores e inibidores do enraizamento.

A técnica de miniestaquia é uma versão da estaquia convencional, na qual variam o tamanho e a origem da estaca. Em geral, a técnica dispensa a utilização de reguladores de crescimento ou estes, são usados em baixas concentrações, visto a utilização de material vegetativo mais responsivo ao enraizamento adventício (HARTMANN *et al.*, 2002).

Sampaio *et al.* (2010) em trabalhos com preciosa (*Aniba canelilla*), encontraram elevados percentuais de enraizamento mesmo sem a aplicação de AIB. Xavier *et al.* (2003), em trabalhos com o cedro (*Cedrela fissilis*) encontraram 100% de enraizamento sem o uso de regulador.

Quando o interesse não é formação de florestas produtivas, recomenda-se a coleta de propágulos de plantas novas, oriundas de sementes. Desta forma facilita a obtenção de variabilidade genética, maior facilidade de coleta das brotações com menor custo (WENDLING, 2005).

De acordo com Santos *et al.* (2011), o enraizamento de miniestacas feito em tubetes coletadas de minicepas produzidas via semente e viável para jequitibá rosa (*Cariniana legalis*), cedro rosa (*Cedrela fissilis*) e sete cascas (*Samanea inopinata*).

Conforme Alfenas *et al.* (2009), a miniestaquia pode ser dividida em cinco fases: 1) Produção de brotos – tratos culturais da minicepa; 2) Enraizamento; 3) Aclimação à sombra; 4) Crescimento; e 5) Rustificação.

Para a formação de minicepas, usam-se as brotações oriundas de muda de semente, de estaca, microestaca ou mesmo miniestaca. Essas brotações são podadas quando apresentam uma altura média de 15 cm a cerca de 10 cm de sua base para estimular a formação de brotações laterais. O minijardim clonal é formado pelo conjunto de minicepas (WENDLING *et al.*, 2005; ALFENAS *et al.*, 2009).

Existem diversas formas de condução da minicepa, podendo ser realizada em sacos plásticos, vasos e tubetes (WENDLING *et al.*, 2005). A produtividade das miniestacas varia de acordo com a genética do material e com o sistema de minijardim. Para manter a

miniestaca produtiva e seu sistema radicular ativo, a coleta de brotações tem de ser contínua (cada 4 a 10 dias, dependendo das condições climáticas relativas à estação do ano) evitando-se podas drásticas.

A miniestaquia representa o principal método adotado pelo setor florestal brasileiro para a clonagem de *Eucalyptus* (ALFENAS *et al.*, 2009), demonstrando vantagens como a redução da área necessária, redução de custos com transporte e coleta de brotações, melhor qualidade do sistema radicular e maior percentual de enraizamento (XAVIER *et al.*, 2009).

## 2.4 CULTURA DE TECIDOS OU MICROPROPAGAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS

As técnicas da propagação *in vitro*, ou micropropagação, permitem a produção massal em meio nutritivo de indivíduos com características genéticas desejáveis, alto padrão de sanidade das mudas (GEORGE, 1993), em ambiente asséptico e controlado (PAIVA & GOMES, 2005).

Configura-se como importante técnica na silvicultura moderna, pois possibilita a regeneração de milhares plantas com um pequeno número de explante, essas com genótipo idêntico a planta matriz, em curto espaço temporal, menor esforço físico comparado a outras técnicas, eliminação de contaminantes (SOUZA *et al.*, 2006) e propagação contínua, independente de fatores ambientais e época do ano (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Dentre as técnicas de cultura de tecidos, a micropropagação tem representado a maior importância para o melhoramento florestal. Após a seleção da planta matriz, Murashige (1974) cita três fases: 1) seleção do explante, desinfestação e cultivo *in vitro* sob condições assépticas; 2) multiplicação dos propágulos por sucessivos subjuntivos em meio de cultura adequado; 3) enraizamento e posterior aclimação em condições *ex vitro* (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Os explantes mais indicados para a organogênese direta são gemas e ápices caulinares, já que estes possuem determinação para o crescimento vegetativo que, se bem nutridos, irão naturalmente desenvolver uma planta inteira. Contudo, espécies lenhosas apresentam grandes problemas com contaminação dessas partes, por estarem expostas a intempéries (BONGA, 1982) e, portanto, sujeitos a infecções internas e externa por microrganismos difíceis de serem eliminadas. Sendo assim, o uso de sementes, facilita a

obtenção de material propagativo asséptico através da germinação *in vitro* para desenvolver um protocolo de propagação de espécies lenhosas (ANDRADE *et al.*, 2000).

A contaminação interna e externa dos tecidos de plantas lenhosas é uma dificuldade para o estabelecimento *in vitro* que pode tentar ser contornada com processos de descontaminação, através do uso de substâncias germicidas. As substâncias mais comuns na desinfestação de explantes são o etanol, compostos a base de cloro (hipoclorito de sódio ou de cálcio), cloreto de mercúrio, ácido clorídrico, cloreto de benzalcônio e peróxido de hidrogênio (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Outra dificuldade comum em lenhosas é o escurecimento dos explantes pela oxidação (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). O acúmulo de polifenóis e produtos da oxidação modificam a composição do meio de cultura e alteram a absorção de metabólitos, prejudicando o desenvolvimento da plântula (ANDRADE *et al.*, 2000). A lavagem em água corrente antes da desinfestação pode reduzir este problema, pois lixivia os compostos fenólicos. Outra opção é a adição de antioxidantes no meio de cultura, o carvão ativado é usado comumente com esse objetivo (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

A escolha do meio de cultura também é uma decisão fundamental para espécies lenhosas. Existe uma grande variedade de meios de cultura adaptados para diversas espécies, diferindo, sobretudo, na constituição e concentração de nutrientes (MANTOVANI & FRANCO, 1998). Os meios comumente usados com espécies florestais são o MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) e o WPM (Woody Plant Medium), desenvolvido especialmente para espécies lenhosas por Lloyd e McCown (1981). A presença de reguladores de crescimento no meio de cultivo é normalmente importante nas fases de multiplicação e enraizamento.

#### 2.4.2 O cultivo *in vitro* através de sementes

Devido às dificuldades de descontaminação de explantes provenientes de campo, tem-se preferido a utilização de material vegetal oriundos de sementes germinadas em condições assépticas (COELHO, 1999), já que em diversas espécies florestais tem-se resultados que indicam a possibilidade de obtenção, de grandes quantidades de novas plantas a partir de um único explante, em subcultivos periódicos *in vitro* (XAVIER, 2007).

Entre os protocolos de assepsia de sementes de espécies arbóreas florestais, o hipoclorito de sódio e a substância mais utilizada, já havendo relatos de uso para sementes de

mogno (COUTO et al., 2004), canjarana (ROCHA, 2005), cedro (NUNES et al., 2002) e *Miconia* sp. (CID et al., 1997).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Conduzir estudos para definição de estratégias de propagação vegetativa das espécies *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- i. Avaliar o potencial de enraizamento das espécies, utilizando diferentes tipos de estacas e concentrações de ácido Indolbutírico (AIB);
- ii. Relacionar o fator juvenildade ao potencial de enraizamento das estacas;
- iii. Desenvolver protocolo de estabelecimento *in vitro* das espécies via semente.

### 4 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DO MOGNO (*Swietenia macrophylla* King.) e IPÊ (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose) ATRAVÉS DA ESTAQUIA

#### 4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento de estaquia foi conduzido em viveiro do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Campus III (V8) cujas coordenadas geográficas são: latitude de 02°08'07"S, longitude de 60°01'38" W, localizado em Manaus – AM, durante o ano de 2014. O clima local é do tipo “Ami” na classificação de Köppen, com precipitação média anual de 2.458 mm e umidade relativa do ar em torno de 83%. A temperatura média anual é de 25,6°C, respectivamente com estação seca de junho a outubro (Ribeiro, 1976).

O viveiro utilizado conta com sistema de nebulização intermitente (Figura 3), em condições normais de temperatura e umidade, com sombreamento de 70%.



Figura 3 - Viveiro com sombreamento (70%) e irrigação intermitente usado no experimento.

O sistema de nebulização foi controlado por uma balança e bomba d'água, a qual mantém a umidade na superfície foliar independente da evapotranspiração do meio, pois em temperaturas mais altas o dispositivo dispara em menor intervalo de tempo e durante a noite, ou dias nublados, o intervalo de tempo de disparo é mais longo.

O controle de fungos fitopatogênicos e pragas foram feitos por meio de métodos preventivos relacionados à limpeza do viveiro e ao manejo do jardim clonal.

#### 4.2 COLETA E PREPARO DAS ESTACAS

Foram utilizadas estacas caulinares, obtidas de mudas com três anos de idade, produzidas via semente. Para manter as condições de vigor e turgescência do material vegetativo, as hastes coletadas foram armazenadas em recipientes com água, sendo protegidas da radiação solar a fim de evitar a desidratação, até o preparo das estacas.

As estacas foram preparadas com 10 cm de comprimento, sendo uma retirada da parte apical da planta e outra da região basal. Nas estacas apicais, mantiveram-se dois pares de folhas reduzidas à metade de seu tamanho original. Efetuou-se na extremidade inferior das estacas, um corte em bisel logo após a última gema, e corte reto na extremidade superior, conforme proposto por Hartmann & Kester, 2002.

Para o enraizamento, foram utilizadas bandejas de plástico rígido com dimensões de 16,5 cm de altura, 40 cm de largura e 56 cm de comprimento, totalizando uma capacidade de

33 litros. Como substrato, utilizou-se vermiculita de textura média e areia em proporções volumétricas iguais (v/v). Para avaliar o efeito do AIB, a base das estacas foi imersa, a aproximadamente 3 cm, em soluções de AIB por 10 segundos, e, posteriormente, dispostas no substrato, com atenção a centralização, retidão, profundidade e firmeza, sob nebulização intermitente.

#### 4.3 ESTABELECIMENTO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido entre os meses de dezembro de 2013 a maio de 2014. As concentrações do ácido Indolbutírico (AIB), foram: 0 (apenas água), 1.000, 2.000 e 4.000 mg.L<sup>-1</sup>. As soluções de AIB foram preparadas diluindo-se o regulador na forma de pó em solução alcoólica 50%, completadas com água destilada.

Após 60 dias, as estacas foram retiradas para avaliação do experimento, observou-se o percentual de estacas enraizadas (com raízes de, no mínimo, 1 mm de comprimento, podendo ou não apresentar calos); número de brotação de estacas enraizadas; número de brotos por estaca; diâmetro da raiz mais grossa; comprimento da raiz mais grossa; comprimento da maior raiz; porcentagem de sobrevivência (porcentagem de estacas vivas que não apresentavam indução radicial nem formação de calos); porcentagem de estacas mortas (porcentagem de estacas que se encontravam com tecidos necrosados); percentual de estacas com calos (porcentagem de estacas vivas, com formação de massa celular indiferenciada na base e sem raízes); número de raízes por estaca (total de raízes emitidas na base da estaca); retenção foliar (percentual de estacas que não perderam as folhas); e massa seca das raízes, obtida através secagem em estufa de circulação de ar a 65 ° C até peso constante.

#### 4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O experimento foi disposto em delineamento experimental de blocos casualizados, com arranjo fatorial 2x4, onde 2 são as diferentes posições da estaca (base e ápice) e 4 são as concentrações de AIB (0, 1.000, 2.000 e 4.000 mg.L<sup>-1</sup>). A unidade experimental utilizada para o experimento com mogno foi composta por seis estacas e cada tratamento teve quatro repetições, o que resultou em um total de 192 estacas. Já com a espécie *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose a unidade experimental foi composta por cinco estacas e cada tratamento teve duas repetições, o que resultou em um total de 80 estacas.

Após a verificação da normalidade dos dados e da homogeneidade da variância, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.5.2 MOGNO (*Swietenia macrophylla* King.)

#### 4.5.2.1 SOBREVIVÊNCIA E ENRAIZAMENTO DAS ESTACAS

Para a variável sobrevivência das estacas, não houve interação significativa entre os fatores concentração e posição, nem efeito significativo isolado de qualquer um deles. A média geral de sobrevivência foi 91,67%, aos 60 dias.

O elevado percentual de sobrevivência das estacas não foi encontrado quando a espécie foi conduzida em sistema de câmara úmida. A elevada umidade neste sistema contribui com o aparecimento de fungos que podem causar a mortalidade das estacas, conforme Miranda e Miranda (2000). O uso de sistema de nebulização controlado por uma balança e moto-bomba, manteve a umidade na superfície foliar independente da evapotranspiração do meio, pois em temperaturas mais altas o dispositivo dispara em menor intervalo de tempo e em temperaturas mais amenas, o tempo entre os disparos é mais longo, regulando melhor a umidade e consequente sobrevivência das estacas. A alta porcentagem de sobrevivência das estacas no viveiro pode estar ligada as condições ambientais, as quais o experimento este exposto, o que pode garantir a manutenção da sobrevivência dos propágulos vegetativos para formação das raízes (WENDLING E XAVIER, 2005).

Em estudos com o mogno africano (*Khaya senegalensis* A.Juss), espécie da mesma família do mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King.), a porcentagem de sobrevivência das estacas foi de 100% aos 45 dias da estaquia, não havendo também o efeito dos tratamentos com AIB nesta espécie (VASCONCELOS, 2012).

Os resultados da análise de variância da porcentagem do enraizamento de estacas de Mogno (*Swietenia macrophylla* King.) quando submetidas a tratamentos com AIB mostram diferenças significativas entre os tratamentos com diferentes posições de origem da estaca, considerando o nível de 5% de probabilidade.

Quando realizado o teste de comparação de médias para a porcentagem de enraizamento (Tabela 1), observou-se maior enraizamento nas estacas produzidas a partir da base das mudas, ou seja, das estacas que não apresentaram folhas quando estabelecidas.

Tabela 1 - Comparação de médias da porcentagem de enraizamento de estacas de Mogno (*Swietenia macrophylla* King.) submetidas ao tratamento com AIB

Posição	Concentração de regulador (mg.L <sup>-1</sup> )				Médias
	0	1.000	2.000	4.000	
Base	91,67	100,00	95,83	83,33	92,71 a
Topo	54,17	70,83	70,83	87,50	70,83 b
Médias	72,92 A	85,42 A	83,34 A	85,42 A	

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e mesma letra maiúscula na horizontal não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Ao longo da estaca existe variação na composição química do tecido vegetal, o que tende a diferir em relação a capacidade de enraizamento quando utilizada diferentes porções do ramo. Assim, quando usadas estacas lenhosas, geralmente se tem melhores resultados com o uso da porção basal. Isso pode ser devido ao acúmulo de substâncias de reserva e um menor teor de nitrogênio, resultando uma relação C/N mais favorável, e à presença de raízes iniciais pré-formadas nessa região (VASCONCELOS, 2012).

O inverso pode se observar quando utilizadas estacas semilenhosas, onde os maiores percentuais de enraizamento são encontrados como uso de estacas obtidas da porção mais apical. A explicação pode se dá pela maior concentração de promotores do enraizamento, gerada pela proximidade dos sítios de síntese de auxinas, e à menor diferenciação dos tecidos.

Em estudos com o mogno africano (*Khaya senegalensis* A.Juss), aos 45 dias da estaquia, a porcentagem média de estacas enraizadas foi de 95,74% (VASCONCELOS, 2012), fato que, segundo o autor, pode estar relacionado à presença de folha nas estacas e a indução de sistema radicular por reguladores internos.

E importante destacar que as estacas produzidas da base da muda de mogno não apresentou enfolhamento, visto que a espécie apresenta folhas apenas em seu apice.

Gontijo et al. (2003), estudando estacas semilenhosas de aceroleira (*Malpigia glabra* L.), concluíram que a presença de folhas é importante para o enraizamento de estacas da espécie, já que em estacas sem folhas à formação de raízes não ocorreu.

Estacas produzidas a partir de material lignificado e, portanto, menos juvenil, geralmente apresentam maior dificuldade de enraizamento do que estacas de consistência mais herbácea e semi-lenhosa (FACHINELLO et al., 2005).

A elevada porcentagem de enraizamento pode então estar relacionada à idade das mudas (36 meses) das quais foram obtidas as estacas, que conferiram características juvenis aos propágulos. Estacas provenientes de plantas jovens enraízam com mais facilidade e esse fato está relacionado com o maior número de cofatores do enraizamento e menor conteúdo de inibidores (FACHINELLO et al., 2005).

Alcantara et al. (2007) avaliaram o efeito da idade da muda no enraizamento de *Pinus taeda*, usando estacas de 60, 90, 120 e 150 dias encontrou a maior porcentagem de enraizamento (85%) nas estacas mais jovens (60 dias), enquanto as estacas mais velhas apresentaram índices de formação de raízes de 33,75%; 8,75% e 17,50%, respectivamente. Segundo os autores, o maior enraizamento das mudas mais jovens de *P. taeda*, está relacionado com o balanço adequado entre os diferentes reguladores vegetais, facilitando, assim, o processo de iniciação radicial.



Figura 4 – Estacas produzidas da base de mudas de Mogno submetidas a 0, 100, 200 e 400 mg.L<sup>-1</sup> de AIB (da esquerda para direita) enraizadas.

Sobre o uso de AIB, Miranda e Miranda (2000) também não encontraram diferença estatística entre as diferentes concentrações de AIB utilizadas no enraizamento de estacas de mogno em câmara úmida, considerando que devido ao elevado índice de apodrecimento das estacas causado pelo ataque de fungos, não foi possível uma comparação efetiva entre os tratamentos, sendo considerada a variável formação de calo como a percussora do enraizamento.

Para Vasconcelos (2012), em seu trabalho com Mogno africano (*Khaya senegalensis*), a produção de mudas da espécie pode ser obtida pela estaquia de ramos provenientes de mudas de origem seminal, sem o uso de AIB.

Santos et al. (2011) testando o enraizamento de estacas lenhosas de vinte diferentes espécies florestais também concluiu que a aplicação de AIB não influenciou os resultados obtidos para as espécies *Cestrum laevigatum* e *Salix humboldtiana*, que foram propagadas por estacas lenhosas independente da aplicação de AIB.

#### 4.5.2.2 PORCENTAGEM DE ESTACAS COM CALO

Quanto ao percentual de estacas com calos, não houve interação significativa entre os fatores concentração e posição, nem efeito significativo de qualquer um deles. A média geral de estacas que apresentaram formação de calo foi de 90,62% aos 60 dias.

Cabral (1986) após 90 dias de experimento com estacas semilenhosas de mogno, sem folhas, tratadas com ácido indolacético (AIA), produzidas em ambiente semelhante ao aplicado neste trabalho, relatou o baixo percentual de enraizamento e a inexistência de calos, dados contrários ao encontrado para estacas de mudas seminais de mogno nesta pesquisa.



Figura 5 – Calo em base de estaca de mogno.

Na produção de estacas de mogno em câmaras de enraizamento de baixo custo desenvolvidas por Miranda e Miranda (2000), também foram encontradas a produção de calos nas estacas, em maior proporção quando enraizadas em areia grossa, com 48,75% de estacas com formação calogena, metade do encontrando neste trabalho.

A formação de raízes adventícias pode se dar de forma direta, em proximidade ao sistema vascular e de forma indireta, onde células se dividem, incluindo a formação de calos, em um período de transição antes das células se dividirem em padrão organizado para iniciar a formação dos primórdios das radiculares (geralmente ocorre em espécies mais difíceis de enraizar) (HARTMANN et al., 2002).

Estacas semilenhosas de mogno, sem folhas, tratadas com ácido indolacético (AIA) aplicado por via talco nas concentrações de 0,02%; 0,05% e 0,10%, produzidas em casa de vegetação sob aspersão controlada, temperatura ambiente e utilizando-se areia lavada com granulometria média como substrato, avaliado após 90 dias, não apresentou a ocorrência de calos, bem como um baixo percentual de enraizamento (CABRAL, 1986).

O substrato areia mais vermiculita em mistura (50:50 v/v) neste experimento não impediu o desenvolvimento do sistema radicular das estacas. O substrato deve permitir boa aeração e drenagem e proporcionar suporte adequado para as estaca (Hartmann e Kester, 1972). Em trabalhos com estacas semilenhosas de *Cedrela odorata* L. na Costa Rica, testaram-se doses de AIB e diferentes substratos, não se encontrando diferença entre os substratos nem interação entre ele e as concentrações (MALDONADO et al. 1992).

O substrato areia mostra-se o mais indicado para o enraizamento de estacas semilenhosas de mogno (MIRANDA e MIRANDA, 2000), por isso foi usado como parte do substrato deste experimento, não sendo identificado nenhum empecilho ou desvantagem quanto ao seu uso associado a vermiculita.

#### 4.5.2.3 BROTAÇÃO DE ESTACAS ENRAIZADAS

Quando analisado o número de brotações de estacas que apresentaram sistema radicular, observou-se diferença entre as posições de origem da estaca (base e topo), bem como entre as concentrações de AIB e a interação entre esses fatores.

Quando comparadas as médias, observou-se que as estacas produzidas a partir da base das mudas apresentaram maior número de brotações (Tabela 2). Entre as concentrações de AIB o melhor resultado foi para a concentração de 1.000 mg.L<sup>-1</sup> e o pior tratamento o de 4.000 mg.L<sup>-1</sup>.

Tabela 2 - Comparação de médias do número de brotações de estacas de Mogno (*Swietenia macrophylla* King.) enraizadas.

Posição	Concentração de regulador (mg.L <sup>-1</sup> )				Médias
	0	1.000	2.000	4.000	
Base	1,46 aB	3,08 Aa	1,75 aB	1,04 aB	1,83 a
Topo	1,01 aA	0,79 bA	1,33 aA	0,71 aA	0,98 b
Médias	1,27 BC	1,94 A	1,54 AB	0,88 C	

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e mesma letra maiúscula na horizontal não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Dias et al. (2011), estudando estacas de cerejeira (*Prunus serrulata*), verificaram que concentrações de AIB de 0, 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup>, não influenciaram a porcentagem de plantas com brotações. A maior proximidade dos sítios de síntese de auxinas, e à menor diferenciação dos tecidos pode ter contribuído para uma maior brotação da região basal da estaca submetida a menor concentração de AIB.

#### 4.5.2.4 DIÂMETRO E COMPRIMENTO DA RAIZ MAIS GROSSA E COMPRIMENTO DA MAIOR RAIZ

Para a espécie estuda, não houve diferença estatística entre o diâmetro e comprimento radicular quando submetidas a diferentes concentrações de regulador de crescimento ou em relação as diferentes posições de produção da estaca. O comprimento médio da maior raiz foi de 14,26cm. O diâmetro médio das raízes mais grossa ficou em torno de 0,98 mm, e o comprimento médio da raiz mais grossa de 15,87 cm. Para a espécie *Sapium glandulatum*, as variáveis comprimento total de raízes e comprimento da maior raiz aumentaram conforme o incremento das concentrações de AIB, indicando que maiores concentrações do regulador promoveram antecipação de emissão de raízes (CUNHA et al., 2004), o que não pode ser constatado nas características comprimento total de raízes e comprimento da maior raiz para a espécie mogno neste trabalho.

#### 4.5.2.5 NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACA

Quando analisado o número médio de raízes por estaca percebeu-se que não houve efeito significativo entre as concentrações do regulador e entre as diferentes posições, ou a interação entre esses dois fatores, apesar de apresentar um número crescente de raízes à medida que se elevou as concentrações de regulador. A média geral foi de 4,45 raízes por estaca.

Da mesma forma, Vale et al. (2008), estudando as concentrações de AIB de 0, 100, 200 e 300 mg L<sup>-1</sup>, em estacas de goiabeira, verificaram que o aumento nas doses de AIB favoreceu o aumento do número de raízes de maneira linear. O mesmo foi observado em estacas de alecrim-do-campo (*Lippia alba*), quando tratadas pelo método de imersão lenta, sendo que as maiores concentrações (500 e 1000 mg L<sup>-1</sup> de AIB) proporcionaram maior número médio de raízes por estaca (PINTO e FRANCO, 2009).

#### 4.5.2.6 MASSA SECA DAS RAÍZES

Após processo de secagem do sistema radicular, foi obtida a massa seca das raízes de estacas de mogno. Houve diferença significativa entre as posições de origem das estacas (Tabela 3). A massa seca média do sistema radicular das estacas foi de 0,10g.

As estacas produzidas do topo da muda apresentaram maior massa de raízes do que aquelas produzidas da base. No mogno, isso pode ser explicado pela presença de folhas nas estacas apicais na produção das estacas.

Tabela 3 - Comparação de médias da massa seca de raízes de estacas de Mogno (*Swietenia macrophylla* King.)

Posição	Concentração de regulador (mg.L <sup>-1</sup> )				Médias
	0	1.000	2.000	4.000	
Base	0,08	0,07	0,07	0,07	0,07 b
Topo	0,11	0,12	0,14	0,16	0,13 a
Médias	0,10 A	0,093 A	0,11 A	0,11 A	

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e mesma letra maiúscula na horizontal não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Folhas atuam na produção de auxinas e os efeitos do transporte de auxina são observados no enraizamento na base da estaca (HARTMANN et al., 2002). Estacas sem folhas produziram menor massa seca de raiz, enquanto estacas do ápice, com folhas, apresentaram quase o dobro de raiz. A existência de folhas e gemas é essencial para o

enraizamento, pois elas produzem auxinas endógenas (HARTMANN et al., 2002), compostos fenólicos e outras substâncias não identificadas que se acumulam na zona de regeneração das raízes (PITA JÚNIOR, 2010), além de atuarem como reserva.

À presença de folhas nas estacas forneceram energia suficiente para sua manutenção por serem fontes de carboidratos (ALFENAS et al., 2004). Este efeito está relacionado à translocação de carboidratos para a base da estaca, além de auxina e outros cofatores importantes para o enraizamento.

Apesar da maior produção de raiz nas estacas produzidas da porção apical, o percentual de enraizamento nesta porção foi estatisticamente inferior as estacas basais.

#### 4.5.3 IPÊ (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose)

##### 4.5.3.1 SOBREVIVÊNCIA E ENRAIZAMENTO DAS ESTACAS

Quando avaliados os resultados da análise de variância da porcentagem de enraizamento de estacas de Ipê (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose) quando submetidas a tratamentos com AIB, pode-se notar que não houve diferenças significativas entre os tratamentos com diferentes posições e concentrações de AIB, considerando o nível de 5% de probabilidade.

A média geral de sobrevivência do experimento foi de 96,25%. Todas as estacas sobreviventes formaram sistema radicular. Este elevado percentual de sobrevivência também pode estar relacionada as condições ambientais as quais o experimento este exposto, o que pode garantir a manutenção da sobrevivência dos propágulos vegetativos para formação das raízes (WENDLING E XAVIER, 2005).

Em trabalho com Jequitibá-rosa (*Cariniana estrellensis* (RADDI) KUNTZE), Castro (2011) obteve 100% de sobrevivência das estacas (apicais e intermediarias) ao testar diferentes dosagens de AIB (0, 2.000 e 6.000 mg.L<sup>-1</sup>), indicando que as condições ambientais aliadas ao alto grau de juvenildade dos propágulos vegetativos de origem seminal foram favoráveis, semelhante ao encontrado para o ipê neste trabalho.

Quanto ao uso do AIB, no enraizamento de espécies nativas do cerrado (*Emmotum nitens*, *Euplassa inaequalis*, *Hirtella gracilipes*, *Protium almecega*, *Pseudolmedia laevigata*, *Richeria grandis* e *Xylopia emarginata*) estudadas em casa de vegetação, sob nebulização

intermitente durante 180 dias, não foi encontrado efeito significativo em estacas tratadas com AIB em concentrações de 2000, 4000 e 8000 ppm por imersão rápida (Oliveira, 2003).

Os resultados são semelhantes aos encontrados por Sampaio (1987), com estacas de material juvenil de Pau Rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em que o uso de AIB também não apresentou diferenças significativas entre as concentrações. Assim como em estudos de Miranda e Miranda (2000), na propagação vegetativa do mogno em câmara úmida e com estacas de mogno africano (*Khaya senegalensis* A.Juss) (VASCONCELOS, 2012).

#### 4.5.3.2 PERCENTAGEM DE ESTACAS COM CALOS

Foi observada a formação de calos na base das estacas em todos os tratamentos, porém não houve interação significativa entre os fatores concentração e posição, nem efeito significativo de qualquer um deles. A média geral de estacas que apresentaram formação calogena foi de 91,25%, semelhante ao encontrado para o mogno neste trabalho.



Figura 6 - Estacas de ipê produzidas do ápice e base (respectivamente) com presença de calo.

A formação de raízes adventícias de forma indireta, onde células se dividem, incluindo a formação de calos, em um período transitório antes das células se dividirem em

um padrão organizado para iniciar os primórdios das raízes adventícias geralmente ocorre em espécies mais difíceis de enraizar (HARTMANN et al., 2002).

#### 4.5.3.3 DIÂMETRO E COMPRIMENTO DA RAIZ MAIS GROSSA COMPRIMENTO DA MAIOR RAIZ

Quanto ao diâmetro da raiz mais grossa de Ipê (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose), não houve interação significativa entre os fatores concentração e posição da estaca, nem efeito significativo de qualquer um deles, sendo seu valor médio igual a 1,80 mm.

Também não apresentou significância quando avaliado o comprimento da raiz mais grossa entre os fatores concentração e posição da estaca, nem efeito significativo de qualquer um deles isoladamente.

Analisando o comprimento da maior raiz das estacas de Ipê (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose), não houve interação significativa entre os fatores concentração e posição da estaca, nem efeito significativo de qualquer um deles, sendo o comprimento médio da maior raiz de estacas de ipê foi de 20,53 cm.

Para a espécie pau-de-leite (*Sapium glandulatum*), as variáveis comprimento total de raízes e comprimento da maior raiz aumentaram conforme o incremento das concentrações de AIB, indicando que maiores concentrações do regulador promoveram antecipação de emissão de raízes, que pode ser constatado nas características comprimento total de raízes e comprimento da maior raiz (CUNHA et al., 2004), efeito não verificado neste trabalho.

#### 4.5.3.4 NÚMERO DE RAÍZES POR ESTACA

Para a variável número de raízes por estaca, houve significância entre as concentrações. Comparando as médias, foi possível observar que a maior concentração de regulador de crescimento contribuiu para a maior emissão de raízes (Tabela 4).

O tratamento com menor número de raízes por estaca foi onde não houve o uso de regulador de crescimento. Nestas estacas, o número médio de raiz foi de 4,55, menos do que a metade do melhor tratamento avaliado.

Tabela 4 - Comparação de médias do número de raízes por estacas de Ipê (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose) submetidas ao tratamento com AIB

Posição	Concentração de regulador (mg.L <sup>-1</sup> )				Médias
	0	1.000	2.000	4.000	
Base	5,10	6,10	7,10	10,30	7,15 a
Topo	4,00	7,00	8,90	9,30	7,30 a
Médias	4,55 B	6,55 AB	8,00 AB	9,80 A	

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical e mesma letra maiúscula na horizontal não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Um sistema radicular bem desenvolvido favorece a absorção de água e nutrientes, assim como a fixação das mudas no campo. Vale et al. (2008), estudando as concentrações de AIB de 0, 100, 200 e 300 mg L<sup>-1</sup>, em estacas de goiabeira, verificaram que o aumento nas doses de AIB favoreceu o aumento do número de raízes de maneira linear.

O mesmo foi observado em estacas de alecrim-do-campo (*Lippia alba*), quando tratadas pelo método de imersão lenta, sendo que as maiores concentrações (500 e 1000 mg L<sup>-1</sup> de AIB) proporcionaram maior número médio de raízes por estaca (PINTO e FRANCO, 2009), assim como verificado para a espécie de ipê estudada.

Vale et al. (2008), estudando as concentrações de AIB em estacas de goiabeira, verificaram que o aumento nas doses de AIB favoreceu o aumento do número de raízes de maneira linear. O mesmo foi observado em estacas de alecrim-do-campo (*Lippia alba*), (PINTO e FRANCO, 2009) é ipê neste trabalho.

#### 4.5.3.5 MASSA SECA DAS RAÍZES

Para a variável massa seca de raízes, não houve interação significativa entre os fatores concentração e posição da estaca, nem efeito significativo de qualquer deles isoladamente.

É importante destacar que todas as estacas de ipê produzidas apresentaram um par de folhas reduzidas pela metade. Folhas produzem auxinas e os efeitos do transporte de auxina são observados no enraizamento na base da estaca (HARTMANN et al., 2002).

## 5 MORFOGÊNESE E CULTIVO *IN VITRO* DO MOGNO (*Swietenia macrophylla* King.) E IPÊ (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose)

## 5.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Sementes da Fundação de Tecnologia do Acre – FUNTAC, Rio Branco – AC, no período de novembro de 2014 a fevereiro de 2015.

As sementes de Mogno (*Swietenia macrophylla* King.) foram obtidas de árvores matrizes na Floresta Estadual do Antimary, Acre, no período de 2014 e as de Ipê (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose) obtidas de árvores matrizes da Reserva Adolpho Ducke, Manaus, também no mesmo ano.

## 5.2 DESINFESTAÇÃO DE SEMENTES

Para definição de um protocolo eficiente de desinfestação superficial e germinação asséptica, as sementes, com tegumento, foram previamente lavadas com detergente comercial neutro em água corrente. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, os tegumentos foram retirados e as sementes foram submersas em solução de etanol 70% (v/v) por 3 minutos. A seguir foram submetidas à exposição em hipoclorito de sódio comercial na concentração 2,5% nos tempos 5; 10; 15; 20; 25 e 30 minutos. Após a imersão das sementes, foi realizada a trílice lavagem com água destilada esterilizada, conforme esquema da Figuras 10 e 11.

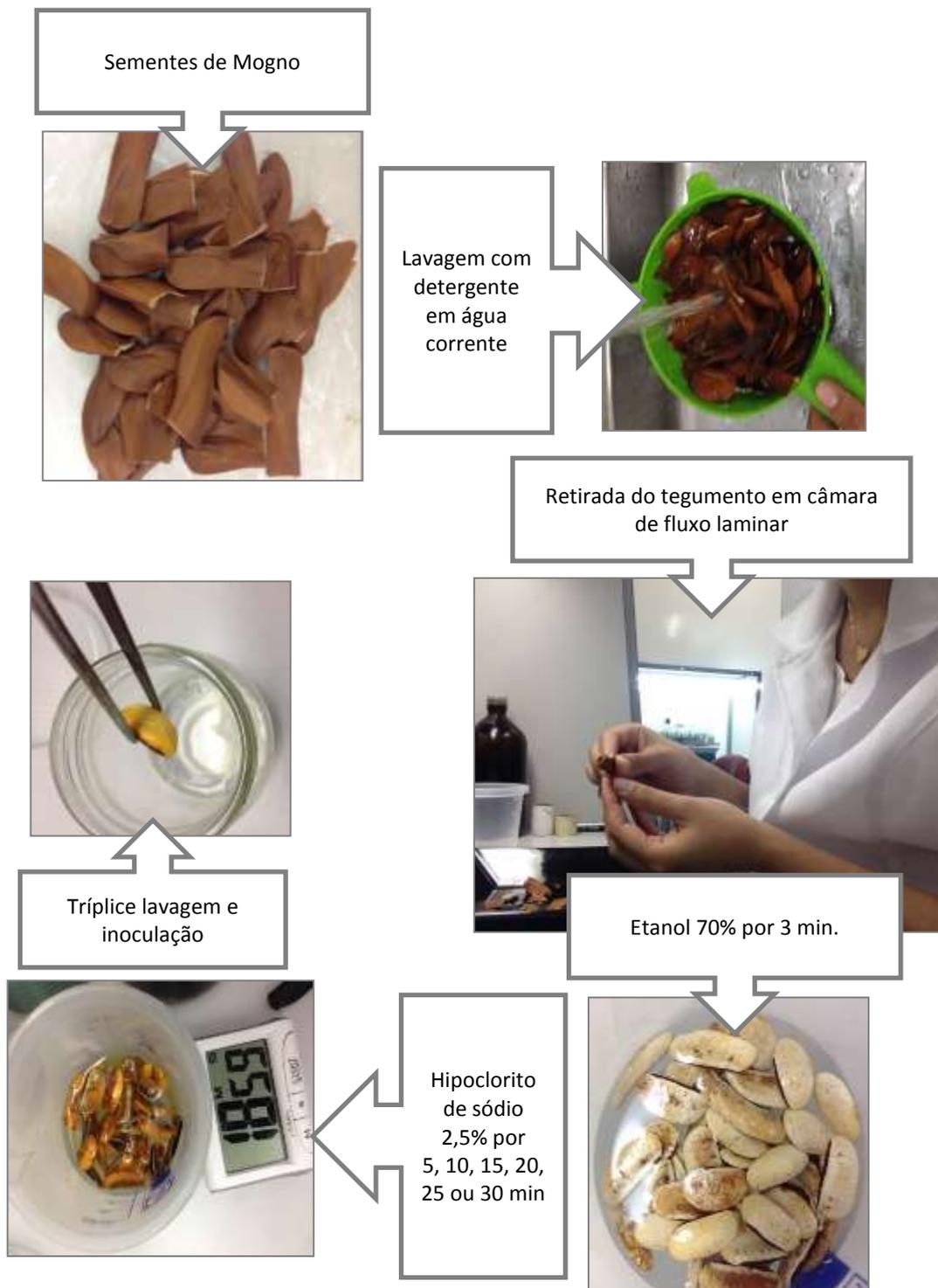


Figura 7 – Esquema do processo de desinfestação com sementes de Mogno.

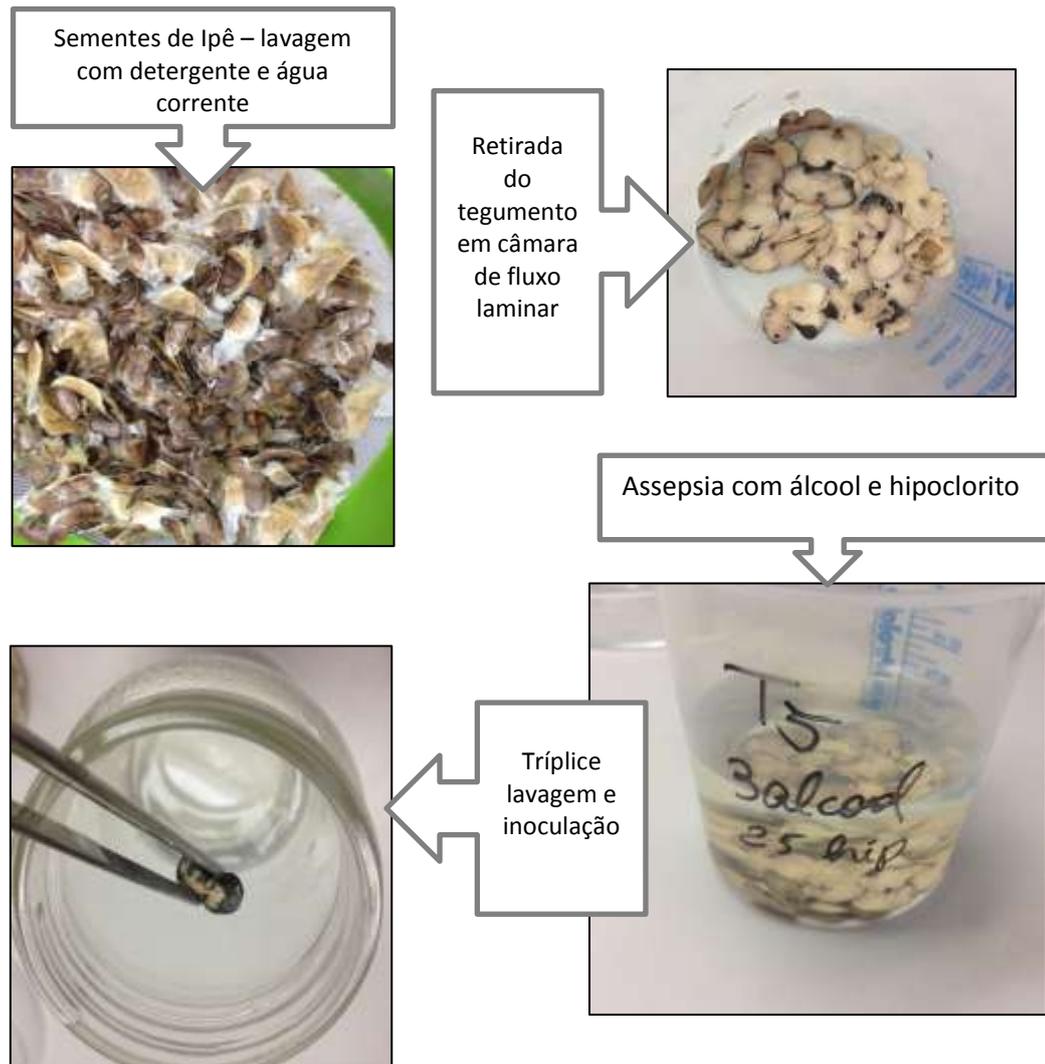


Figura 8 - Esquema do processo de desinfestação com sementes de Ipê.

Foi montado um tratamento testemunha onde as sementes sem tegumento foram apenas imersas em água destilada por 10 minutos e inoculadas.

### 5.3 GERMINAÇÃO DE SEMENTES

Após a desinfestação as sementes foram inoculadas em frascos de 250 mL, contendo 30 mL de meio de cultura composto de sais básicos de MS (MURASHIGE E SKOOG, 1962), autoclavados por 15 minutos à temperatura de 121°C e 1,1Kgf/cm<sup>2</sup>, suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 6 g L<sup>-1</sup> de ágar, 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol, pH ajustado para 5,8±0,1 e fechamento com tampa de polipropileno.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dispendo de lâmpadas fluorescentes Philips TDL ( $38\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) expostas ao fotoperíodo de 16h de luz, e umidade de 70% até os 60 dias após a semeadura.

As avaliações de contaminação ocorreram aos 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias após a inoculação das sementes. A germinação foi avaliada no mesmo intervalo de tempo, sendo que foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram profusão radicular maior ou igual a 0,5 cm.

#### 5.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, organizado em 7 tratamentos com 10 repetições por tratamento e três sementes por frasco, totalizando 210 sementes. Cada espécie foi considerada um experimento independente.

Para as análises estatísticas dos dados de germinação e presença de contaminação por fungos ou bactérias, foi utilizada a transformação radicial ( $\sqrt{X+1}$ ).

Foram realizadas análises de variância (ANOVA), e comparação de médias pelo teste de Tuckey, a 5% de probabilidade quando necessário.

### 5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.5.2 MOGNO (*Swietenia macrophylla* King.)

##### 5.5.2.1 GERMINAÇÃO E DESINFESTAÇÃO IN VITRO DE SEMENTES DE *Swietenia macrophylla* King.

Entre os diferentes tratamentos de assepsia da semente houve diferença estatística apenas no tratamento com lavagem em água destilada e autoclavada usado como testemunha. Neste, todas as sementes apresentaram contaminação (Tabela 5).

Tabela 5 – Efeito do tempo de exposição ao hipoclorito, álcool e imersão em água destilada estéril na desinfestação de explantes de mogno (*Swietenia macrophylla* King) após 60 dias de inoculação.

Tratamento	Tempo de exposição ao NaClO (min)	Germinação	Contaminação
0	0	0.00000 b	100.00000 a
1	5	86.66800 a	16.66600 b
2	10	86.66700 a	19.99900 b
3	15	96.76700 a	0.00000 b
4	20	96.66700 a	0.00000 b
5	25	96.66700 a	0.00000 b
6	30	100.00000 a	0.00000 b

Médias seguidas por letras diferentes (minúsculas na vertical) diferem entre si significativamente pelo teste de Tuckey ( $P > 0,05$ )

Com o aumento dos tempos de exposição das sementes ao hipoclorito de sódio, houve uma redução da contaminação, apesar de não significativo, isso pode contribuir para a redução do tempo na inoculação, aumentando a produtividade do laboratório, e consequente redução de gastos.

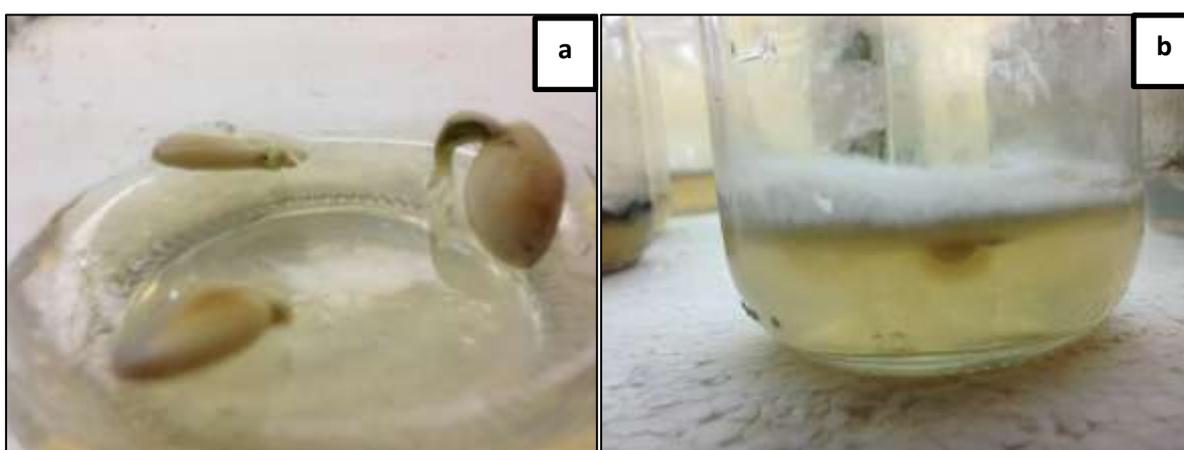


Figura 9 – a. Início da germinação de sementes de mogno. b. Contaminação fúngica e ausência de germinação em sementes submetidas a tratamento testemunha.

Percebeu-se que estas sementes contaminadas não apresentaram germinação. Em trabalho com germinação de sementes de *Acácia mearnsii* em condições *in vitro*, Corder &

Borges Júnior (1999), observaram que a presença de fungos e bactérias junto às sementes foi o fator principal para a não germinação das sementes, também encontrado para o Mogno neste trabalho.

A utilização do hipoclorito de sódio, associada ao álcool 70% já tem sido usada em assepsias de diferentes sementes. Andrade et al. (2000), que desinfestaram sementes de Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All) em álcool 70% por 30 segundos, seguido de hipoclorito de sódio a 1% por 10 minutos e lavados três vezes com água destilada não apresentaram nenhum tipo de contaminante.

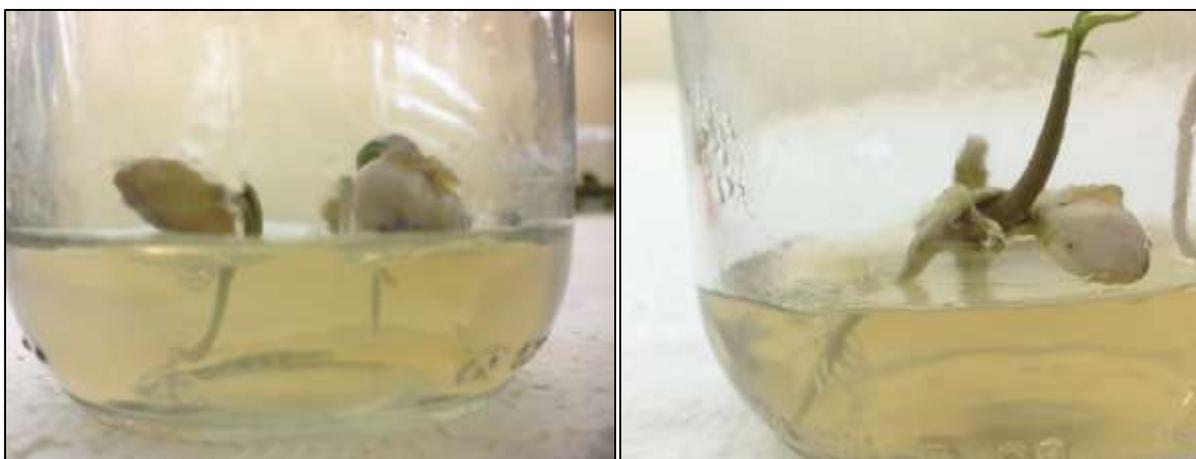


Figura 10 – Sementes de mogno germinadas.

Lopes (2000) concluiu que o mogno tem uma germinação rápida, levando seis dias para germinar. Lemos et al. (1998), obtiveram resultado similar ao inocular o mogno *in vitro*, observando o crescimento das plântulas que atingiram de 40 a 65 mm em dez dias, corroborados por este trabalho.

### 5.5.3 IPÊ (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose)

#### 5.5.3.1 GERMINAÇÃO E DESINFESTAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE

A germinação *in vitro* de ipê ocorreu em todos os tratamentos que utilizaram hipoclorito e álcool para a assepsia das sementes sem tegumento (Tabela 6). O tratamento testemunha com simples lavagem em água destilada e autoclavada causou a contaminação de 100% das sementes.

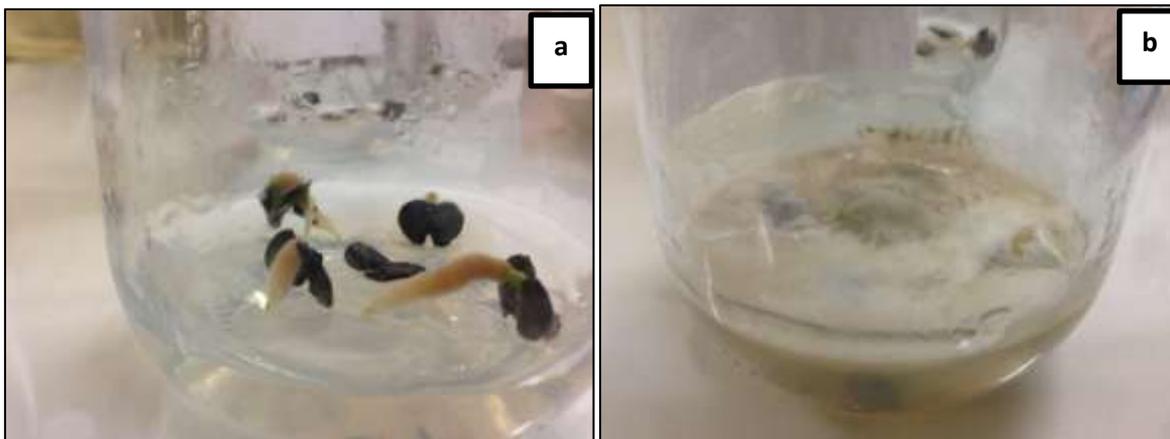


Figura 11 - a. Início da germinação de sementes de ipê. b. Contaminação fúngica e ausência de germinação em sementes submetidas a tratamento testemunha.

Percebeu-se que estas sementes contaminadas não apresentaram germinação, conforme Corder & Borges Júnior (1999), em trabalho com germinação de sementes de *Acácia mearnsii* em condições *in vitro*, e neste trabalho com a espécie *Swietenia macrophylla*, a presença de fungos e bactérias junto às sementes foi o fator principal para a não germinação das sementes.

Tabela 6 – Efeito do tempo de exposição ao hipoclorito, álcool e imersão em água destilada estéril na desinfestação de explantes de Ipê (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose) após 60 dias de inoculação.

Tratamento	Tempo de exposição ao NaClO (min)	Germinação	Contaminação
0	0	0 c	100 a
1	5	78 a	8 b
2	10	48 ab	10 b
3	15	36 b	10 b
4	20	58 ab	12 b
5	25	48 ab	0 b
6	30	56 ab	10 b

Médias seguidas por letras diferentes (minúsculas na vertical) diferem entre si significativamente pelo teste de Tuckey ( $P > 0,05$ )

Observou-se que as sementes de ipê quando submetidas a exposição de hipoclorito superiores a 5 minutos apresentaram menor poder germinativo, mesmo na ausência de

contaminantes. Houve alteração na coloração da semente após assepsia, conforme visto na Figura 12.



Figura 12 – Sementes de Ipê sem tegumento. À esquerda, semente sem passar por assepsia, e a direita, semente passou por assepsia com álcool e hipoclorito.

Fermino Junior & Scherwinski (2012) também utilizam para a germinação *in vitro*, a lavagem das sementes em água corrente e posterior imersão em álcool etílico e hipoclorito de sódio a 2,5% para a espécie cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith - FABACEAE) obtendo resultados positivos.

Mamedes e Silva (2010) usam para a desinfestação das embriões/sementes de *Dipteryx alata* uma solução comercial de hipoclorito de sódio com 2% (v/v) de cloro ativo por 20 minutos, acrescida de algumas gotas de tensoativo, e álcool 70% por 5 minutos.



Figura 13 - Germinação de sementes de Ipê anos 30 dias

Durante a micropropagação é comum ocorrerem perdas significativas devido à contaminação por microrganismos presentes na superfície dos explantes ou, endofíticos, principalmente fungos e bactérias. A ocorrência de contaminações é mais frequente quando se

realiza a micropropagação de espécies lenhosas, ou quando a assepsia é difícil de ser executada, devido às características do explante, ou por este estar localizado em regiões da planta matriz próximas do solo (Suzin, 2004).

Os resultados são concordantes com Pinheiro *et al.* (2001) que, na germinação *in vitro* da mangabeira (*Hancomia speciosa* G.), em diferentes meios de cultura, observaram que as sementes sem tegumento obtiveram maior porcentagem de germinação.

Itaya *et al.* (2005), estudando a germinação *in vitro* de aquênios de *Viguiera discolor* (Asteraceae), obtiveram 80% de germinação quando os envoltórios externos foram retirados das sementes.

Lima *et al.* (2007) verificaram, na germinação *in vitro* de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.), que a retirada do tegumento incrementou a porcentagem de germinação, apresentando-se como o melhor método para superar a dormência.

## 6 CONCLUSÃO

Considerando as condições em que o experimento foi conduzido, é tecnicamente viável a propagação vegetativa de *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose, por enraizamento, de mudas provenientes de cepas de material de origem seminal.

O ácido Indolbutírico (AIB) teve pouca influencia na propagação de *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose por estaquia.

Estacas basais de mogno apresentaram maior percentual de enraizamento, em relação às apicais.

A variável, número de raízes por estaca, teve crescimento com o aumento da concentração de AIB para a espécie *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose.

As espécies *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose formaram, na base das estacas, calos em mais de 90% das estacas, atuando provavelmente como percussores do enraizamento.

O uso de álcool 70% associado ao hipoclorito de sódio é eficiente na assepsia de sementes das espécies *Swietenia macrophylla* King e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose para a germinação *in vitro*;

## REFERÊNCIAS

- ALCANTARA, G. B.; RIBAS, L. L. F.; HIGA, A. R.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 399-404, 2007.
- ALENCAR, J. da C. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* HAYNE – LEGUMINOSAE, na Amazônia Central. 1 – Germinação. **Acta Amazônica**, v. 11, n. 1, p. 3-11. 1981.
- ALENCAR, J. da C. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* HAYNE – LEGUMINOSAE, na Amazônia Central. 2 – Produção de óleo-resina. **Acta Amazônica**, v. 12, n. 1, p. 75-89. 1982.
- ALENCAR, J. da C. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* HAYNE – LEGUMINOSAE, na Amazônia Central. IV. Interpretação de dados fenológicos em relação a elementos climáticos. **Acta Amazônica**, v. 18, n. 3-4, p. 199-209- 1988.
- ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G. ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2 ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2009. 500p.
- ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v.9, n.101, p.47-55, 1983.
- ANDRADE, M. W.; Luiz, J.M.Q.; LACERDA, A. S. Micropropagação da aroeira (*Muracrondruon urendeuva* Fr. All.). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 24, n.1, p. 174-180, 2000.
- ASSIS, T. F. Melhoramento genético do eucalipto. *Informe Agropecuário*. Belo Horizonte, v.12, n.141, p. 36-46, 1986.
- ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, v.1. 261p. 1998.
- BASAK, U. C.; DAS, A. B.; DAS, P. Metabolic changes during rooting in stem cuttings of five mangrove species. **Plant Growth Regulation**. Dordrecht, v.17, p.141-148, 1995.
- BERTOLOTTI, G.; GONÇALVES, A. N. **Enraizamento de estacas: especificações técnicas para construção do módulo de propagação**. Piracicaba: IPEF, 1980. 8p. (Circular técnica 94).
- BONGA, J. M. Tissue culture techniques. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. **Tissue culture in forestry**. 2ed., Dordrecht: Martinus Nijhoff, p. 4-35. 1982.
- BORGES, S. R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; MELO, L. A.; ROSADO, A. M. Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 425-434, 2011.

BRANDÃO, H. L. M.; SAMPAIO, P. T. B. **Propagação por estaquia de pau-d'arco-amarelo (*Tabebuia serratifolia* Nichols)**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 4 p., 2003.

BRASIL. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº6, de 23 de setembro de 2008**. Disponível em:<[http://www.mma.gov.br/estruturas/ascom\\_boletins/\\_arquivos/83\\_19092008034949.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/ascom_boletins/_arquivos/83_19092008034949.pdf)>. Acesso em 18 de novembro de 2013.

BROWSE, P. M. **A propagação das plantas**. Lisboa: Europa-America, 1979. 229 p.

BRUM, H. D., MESQUITA, M. R. & FERRAZ, I. D. K. Descrição comparativa dos propágulos e plântulas de *Copaifera multijuga* Hayne e *C. officinalis* Jacq. (Fabaceae). **Revista Brasileira de Biociências**. V. 5, p. 351-353. 2007.

BRUM, H. D., CAMARGO, J. L. C. & FERRAZ, I. D. K. Copaíba-roxa, *Copaifera mutlijuga* Hayne in: I. D. K. Ferraz & J. L. C. Camargo (Eds) **Manual de Sementes da Amazônia**. Fascículo 9, 12p. INPA, Manaus-AM, Brasil. 2009.

BUCKERIDGE, M.S.; DIETRICH, S.M.C. Galactomanans from Brazilian legume seeds. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 13, p. 109-112. 1990.

CABRAL, I. C. Estaquia de mogno. Silvicultura, 41. Ed. Espec. **Congresso Florestal Brasileiro**, 5. Olinda. 1986.

CAMARGO, J. L. C.; FERRAZ, I. D. K.; MESQUITA, M. R.; SANTOS, B. A.; BRUM, H. D. **Guia de Propágulos & Plântulas da Amazônia**. Manaus: INPA. 2008. 168 p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e usos da madeira**. Colombo: Embrapa Florestas, 1994. 640p.

CHAPMAN, D. J. Consider softwood cuttings for tree propagation. **American Nurseryman**. Rochester, v 15, p.45-49, 1989.

CID, L.P.B.; GOMES, A.C.M.; COSTA, S.B.R.; TEIXEIRA, J.B. Micropropagation of *Miconia* sp. a woody melastomataceae from Brazil, using Thidiazuron as plant growth regulator. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.9, n.1, p.21-27, 1997.

COELHO, M. C. F. **Germinação de sementes e propagação in vitro de sucupira branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.]**. 1999. 119 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

CORDER, M.P.M & BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* de Wil. **Ciência Florestal**, v.9, n.2, p.1-7, 1999.

COUTO, J. M. F.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, A. L.; FONSECA, E. de P. Desinfestação e germinação in vitro de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **R. Árvore**, Viçosa-MG, v.28, n.5, p.633-642, 2004.

CUNHA, A. C. M. C. M. da; WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. Influência da concentração do regulador de crescimento para enraizamento AIB na formação de mudas de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax por estaquia. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 49, p. 17-29, 2004.

DAVIS, T. D. Photosynthesis during adventitious rooting. In: DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E.; SANKHLA N. **Adventitious root formation in cuttings**. Oregon: Dioscorides Press., p.79-87. 1988.

DEUS, C. E., JUNIOR, R. W., KAGEYAMA, P. Y., VIANA, V. W., FERRAZ, P. A., BORGES, H. B. N., ALMEIDA, M. C., SILVEIRA, M., VICENTE, C. R. & ANDRADE, P. H. Comportamento de 28 espécies arbóreas tropicais sob diferentes regimes de luz em Rio Branco, Acre. UFAC. Parque Zoobotânico / Arboreto. Apoio: Fundação Ford. 170 p. 1993.

DIAS, M. M.; CHALFUN, N. N. J.; COELHO, S. J.; SANTOS V. A. dos. Meios de diluição e concentrações de ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de cerejeira ornamental. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 5, n. 4, p. 39-43, 2011.

DIAS, P. C.; OLIVEIRA, L. S. de.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.32, n. 72, p. 453-462. 2012.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMIT, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Annalical Chemistry**, v. 28, 350-356 p. 1956.

DUCKE, A.; Notas sobre a flora neotropica 2: as leguminosas da Amazônia Brasileira 2. ed. Belém: Boletim Técnico do Instituto Agrônômico do Norte n. 18. 1949.

DUCKE, A. Notas adicionais às leguminosas da Amazônia Brasileira. Boletim Técnico do Instituto Agrônômico do Norte, Belém, 36: p. 73-74. 1958.

EDMOND, J.B. *et al.* **Fundamentals of horticulture**. 4.ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 1957. p.197-208.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas, 2005. 221 p.

FERMINO JUNIOR, P. C. P.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Germinação e propagação *in vitro* de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A. C. Smith – Fabaceae). **Ciência Floresta**, Santa Maria, v. 22, n. 1, p. 1-9, 2012.

FERRI, C.P. Enraizamento de estacas de *citrus*. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Cruz das Almas, v.19, n.1, p.113-121, 1997.

FERREIRA, L.; CHALUB, D.; MUXFELDT, R. Ipê-amarelo: *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nichols. **Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia**, Manaus, v. 5, 2004.

FORTES, A. M. T. **Efeito de auxinas e ácido bórico em dois métodos de aplicação no enraizamento de estacas de rosa.** Botucatu, 95f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Botânica). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. 1998.

GARCIA, L. C. & LIMA, D. Comportamento de sementes de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne – Fabaceae-Caesalpinioideae), durante o armazenamento. **Acta Amazônica**, v. 30, n. 3, p. 369-375. 2000.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture.** Exegetics, Edington. V.1. 1993. 555p.

GOMES, A. L. **Propagação clonal:** princípios e particularidades. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 1987. 69 p. (Série Didática, Ciências aplicadas, 1).

GOULART, P. B.; XAVIER, A. Influência do acondicionamento, antioxidantes, auxinas e seus cofatores no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 34, n. 3, p. 407 - 415, 2010.

GRATTAPAGLIA, 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, p. 183-260. 1998.

GONTIJO, T. C. A.; RAMOS, J. D.; MENDONÇA, V.; PIO, R.; ARAÚJO NETO, S. E.; CORRÊA, F. L. O. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 290-292, 2003

GROGAN, J.; BARRETO, P.; VERÍSSIMO, A. **Mahogany in the Brazilian Amazon:** ecology and perspectives on management. Belém: Imazon. 2002. 58 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D.E.; DANIELS TR, F. T.D. GENEVE, R. L. **Plant propagation:** principles and practices. Prentice-Hall/Englewood Cliffs, New Jersey. 7 ed. Upper saddle River: Prentice Hall. 2002.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus*:** princípios básicos e a sua evolução no Brasil. Piracicaba: IPEF, 2000. 11 p. (Circular Técnica,192).

HOFFMANN, A.; CHALFUN, N. N. J.; ANTUNES, L. E. C.; RAMOS, J. D.; PASDER, M.; SILVA, C. R. R. **Fruticultura comercial:** propagação de plantas frutíferas. Lavras: UFLA, 1998. 292 p.

INOUE, M. T.; PUTTON, V. Macropropagação de 12 espécies arbóreas da floresta ombrófila mista. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 37, n. 1, p. 55-61, 2007.

ITAYA NM; VAZ APA; KERBAUY GB; FIGUEIREDO-RIBEIRO RCL. 2005. Produção de frutanos em calos e plântulas clonadas *in vitro* de *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae). **Acta Botânica Brasilica**, 19: 579-586.

JANICK, J. **A ciência da horticultura.** Rios de Janeiro: F. Bastos, 1966. 485p.

LAMB, F.B. Mahogany of tropical America: its ecology and management. Ann Arbor : University of Michigan Press, p. 219. 1996.

LAMEIRA, O. A. et al. **Plant Cell Cult.** Micropropag., Lavras, v. 2, n. 1, p. 15-19, 2006

LEMOS, O. F., LOPES, S.C., MENEZES, I.C., LAMEIRA, O.A., OLIVEIRA, M.S.P.O. Produção de plântulas para micropropagação do mogno (*Swietenia macrophylla* King.) In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 44. Águas de Lindóia – SP. setembro 1998. **Resumo.** Águas de Lindóia, 1998. p.216.

LIMA, M. J. V.; GALVÃO, M. S. **Informativo técnico rede de sementes da Amazônia.** nº 8, 2005.

LIMA RV; LOPES JC; SCHMILDT ER; MAIA AR. 2007. Germinação *in vitro* de urucum. **Revista Brasileira de Sementes** 29: 171-177.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia Latifolia* by use of shoot-tip. **Combined Proceedings of International Plant Propagation Society**, v. 30, 421-427, 1981.

LOPES, S.C. **Micropropagação de mogno (*Swietenia macrophylla*).** Pelotas, RS, 2000. 53p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal de Pelotas. Pelotas – Rio Grande do Sul.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa. SP: Ed. Plantarum, v.1.1996.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa, Plantarum. 1992. 352p.

LOUREIRO, A. A.; SILVA, M. F. da; ALENCAR, J. da C. **Essências Madeireiras da Amazônia.** Manaus, AM: INPA. v. 1. 1979. 245 p.

MALDONADO, E.R.A.D; SALAZAR, R.; MESÉN, F. **Enraizamento de estacas juveniles de *Cedrela odorata* L.** Turrialba, C.R.: CATIE, 1992.

MAMEDES, T. C.; SILVA, S. A. Cultivo *in vitro* de explantes de *Dipteryx alata*. VIII Seminário de Iniciação Científica e V Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Estadual de Goiás. Anais. 2010.

MANTOVANI, N. C.; FRANCO, E. T. H. Série técnica: Cultura de tecidos de plantas lenhosas, Santa Maria, v. 12, 132p. 1998.

MARTINS DA SILVA, R. C. V. **Taxonomia das espécies de *Copaifera* L. (Leguminosae-Caesalpinioideae) ocorrentes na Amazônia brasileira.** Tese de doutorado. UFRJ/MN, Rio de Janeiro. 258 p. 2006.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 2. ed. Fortaleza: UFC, 2000.

MENEZES, A. Propagação vegetativa de três espécies amazônicas: Pau Rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke), Copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne) e Breu (*Protium apiculatum* Swartz). Dissertação de mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonas/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 83p. 2006.

MIRANDA, E.M. de; MIRANDA, K.R. de. **Propagação vegetativa do mogno (*Swietenia macrophylla* King) por enraizamento de estacas semilenhosas em câmara úmida**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2000. 15p. (Embrapa Acre. Circular Técnica, 32).

MISSOURI BOTANICAL GARDEN. Disponível em: <[www.mobot.org](http://www.mobot.org)>. Acesso em outubro de 2013.

MURASHIGE, T. 1974. **Plant propagation through tissue cultures**. Ann. Rev. Plant Phys., 25:135-66.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 15: 473-497. 1962.

MURAYAMA, S.J. Fruticultura. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. 428p. 1973.

NOLETO, L. G.; SILVEIRA, C. E. S. Propagação *in vitro* de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Revista Brasileira Ciência e Desenvolvimento**, n. 33, p. 109-120, 2004.

NUNES, E.C.; CASTILHO, C.V.; MORENO, F.N.; VIANA, A.M. **In vitro culture of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae)**. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Dordrecht, v.70, p.259-268, 2002.

Oliveira, M.C. 2003. Enraizamento de estacas de dez espécies arbóreas nativas de matas de galeria. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília. Brasília, Distrito Federal. 149p.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. **Aspectos da Fisiologia do Enraizamento de Estacas Caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 83p. 1996.

PÁDUA, T. de. Propagação das árvores frutíferas. **Informativo Agropecuário**. Belo Horizonte, v.9, n.101, p.11-15, 1983.

PAIVA, H. N.; GOMES, J.M. **Propagação Vegetativa de Espécies Florestais**. Minas Gerais: Imprensa Universitária. 40p. 1993.

PAIVA, H. N. de; GOMES, J. M.; COUTO, L.; SILVA, A.. R. da. Propagação vegetativa de eucalipto por estaquia. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v.18, n.185, p.23-27, 1996.

PAIVA, H. N.; GOMES, J.M. **Propagação Vegetativa de Espécies Florestais**. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 2005.

PASSOS, L.P. **Métodos analíticos e laboratoriais em Fisiologia Vegetal**. Embrapa, Coronel Pacheco, MG: Embrapa-CNPGL, 1996. 223 p.

PINHEIRO, C.S.R.; MEDEIROS, D.N.; MACEDO, C.E.C.; ALLOUFA, D.A.I. 2001. Germinação *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura** 23: 413-416.

PINTO, F. A.; FRANCO, E. T. H. Propagação vegetativa de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown, (Verbenaceae). **Caderno de Pesquisa Série Biológica**, Santa Cruz do Sul, v.21, n. 2, p. 61-75, 2009.

Queiroz, L.P.; Martins-da-Silva, R.C.V. *Copaifera*. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB82967>>. Acesso em outubro de 2013.

RIGAMONTE-AZEVEDO, O. C., WADT, P. G. S. & WADT, L. H. O. **Copaíba**: ecologia e produção de óleo-resina. Rio Branco: Embrapa Acre. 28 p. 2004.

RIZZINI, C. T. **Árvores e Madeiras do Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, SUPREN, 1977. 86 p.

RIZZINI, C. T. **Árvores e Madeiras Úteis do Brasil**: Manual de Dendrologia Brasileira. São Paulo, SP: Ed. Blücher. 1978. 247 p.

ROCHA, S.C. **Micropropagação da canjarana (Cabralea canjerana)**. 85p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal doParaná, Curitiba, 2005.

SALMAN, A. K. D.; LÓPEZ, G. F. Z.; BENTES-GAMA, M. de M.; ANDRADE, C. M. S. de. **Espécies arbóreas nativas da Amazônia Ocidental Brasileira com potencial para arborização de pastagens**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia. 2008. 18 p.

SAMPAIO, P. T. B. Propagação vegetativa do pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) pelo método da estaquia. Tese Mestrado, INPA-FUA. 114p. 1987.

SAMPAIO, P. T. B. **Copaíba (Copaifera multijuga)**. p. 206-215. in: J. CLAY; P. DE T. B. SAMPAIO & C. R. CLEMENT. (Org.). Biodiversidade Amazônica: exemplos e estratégias de utilização. 1 ed. Manaus: SEBRAE/AM. 1999.

SAMPAIO, P. T. B.; SIQUEIRA, J. A. S. de.; COSTA, S.; BRUNO, F. M. S. Propagação vegetativa por miniestaquia de preciosa. *Acta Amazônica*, INPA, v. 40, n. 4, p. 687-692, 2010.

SANTOS, P. E. T. dos. O uso da clonagem na silvicultura intensa. **Revista Silvicultura**. São Paulo, v.15, p.28-30, 1994.

SANTOS, dos J. de P.; DAVIDE, A. C.; TEIXEIRA, L. A. F.; MELO, A. J. S.; MELO, L. A. de. Enraizamento de estacas lenhosas de espécies florestais. **Cerne**, Lavras, v. 17, n. 3, p. 293-301, 2011.

SOUSA, A. S.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, F. V. D. Introdução à cultura de tecidos de plantas. In: SOUSA, A. S.; JUNGHANS, T. G. Introdução à micropropagação de plantas, Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p.11-37. 2006.

SUZIN M. *Microrganismos e sua relação com plantas*. 2004. Passo Fundo: UPF – Instituto de Ciências Biológicas. 68p. (Monografia especialização).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 719 p. 2004.

VEIERSKOV, B. Relations between carbohydrates and adventitious root formation. In: DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E.; SANKHLA N. Adventitious root formation in cuttings. Oregon: Dioscorides Press. v.2, 1988. p.70-76.

VALE, M. R. do; CHALFUN, N. N. J.; MENDONÇA, V.; MIRANDA, C. S. de; COELHO, G. V. A. Ácido indolbutírico e sacarose no enraizamento de estacas de goiabeira cultivar Paluma. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 3, p. 69-74, 2008.

VASCONCELOS, R. T. de. **ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE *Khaya senegalensis* A. Juss. EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, SP. 2012

VEIGA JR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *Copaifera L.* **Química Nova**, v. 25 , n. 2, p. 273-286. 2002.

VERGER, M. *et al.* Bouturage horticole des ligneux. *Revue Horticole PHM*, n. 431, p.27-29, 2001.

VERÍSSIMO, A.; BARRETO, P.; TARIFA, R.; UHL, C. A. **Extraction of a high-value natural resource in Amazonia: the case of mahogany**. *Forest Ecology and Management*, Amsterdam, v. 72, p. 39-60, 1995.

WACHOWICZ, C. M.; CARVALHO, R. I. N. *Fisiologia Vegetal: Produção e pós-colheita*. Curitiba: Editora Universitária Champagnat, 2002, 424p.

WENDLING, I.; FERRARI, M.; DUTRA, L. F. **Produção de mudas de corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Bentham) por miniestaquia a partir de propágulos juvenis**. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. 5 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 130).

XAVIER, A. SANTOS, G. A. dos. Clonagem em espécies florestais nativas. IN: ROCHA, M. G. B. **Melhoramento de espécies arbóreas nativas**. Belo Horizonte: Instituto de Desenvolvimento Florestal Sustentável – IEF, 2002. 173p.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. dos; OLIVEIRA, M. L. de. Enraizamento de miniestaca caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.) **Revista Árvore**. Viçosa, v.27, n.3, p.351-356, 2003.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: Ed UFV, 2009. 272 p.

XAVIER, A.; OTONI, W.C.; PENCHEL, R.M. **Micropropagação e enxertia in vitro de espécies florestais.** In: BORÉM, A. (Ed.) Biotecnologia florestal. Viçosa: Editora UFV, 2007. p.55-74.