

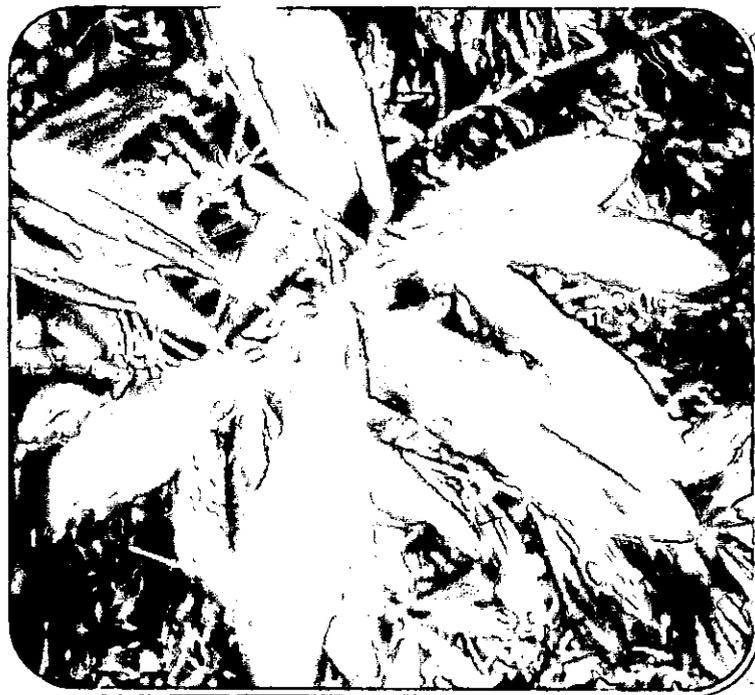
Bio. 266



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TRABALHO DE CULMINAÇÃO DE CURSO

Laboratório Final



**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO
ÁCIDO 3-INDOL BUTÍRICO E ÁCIDO -NAFTALENO ACÉTICO NA
FORMAÇÃO DE RAÍZES ADVENTÍCIAS EM ESTACAS CAULINARES
DE *Warburgia salutaris* (Bertol f. Chiov), "CHIBAHA".**

Autor: Dizimalta dos Santos Fernando Miquitaio



**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

TRABALHO DE CULMINAÇÃO DE CURSO

Relatório Final

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO ÁCIDO 3-INDOL
BUTIRICO E ÁCIDO NAFTALENOACÉTICO NA FORMAÇÃO DE RAÍZES
ADVENTÍCIAS EM ESTACAS CAULINARES DE *Warburgia salutaris*
(Bertol f. Chiov). "CHIBAHA".**

Supervisor:

Prof. Dr. Orlando Quilambo

Departamento de Ciências Biológicas, UEM

Co-Supervisores:

dr^a Célia Martins

dr. Alexandre Siteo

dr^a Annae Senkoro

Departamento de Ciências Biológicas, UEM

Autor: Dizimalta dos Santos Fernando Miquitaio

Maputo, Novembro de 2006

Agradecimentos:

- Ao meu supervisor Prof. Doutor Orlando Quilambo, pela paciência e pelo privilégio de tê-lo como a fonte primária dos meus conhecimentos em fisiologia vegetal.
- A dr^a Célia Martins e a dr^a Annae Senkoro pelo acompanhamento e sugestões prestadas durante a realização deste trabalho.
- Ao dr. Alexandre Siteo pelo apoio prestado na análise estatística dos dados.
- A Dona Helena e ao Sr. Siteo do laboratório de Fisiologia Vegetal, pelo apoio durante a preparação das soluções.
- Ao dr. Maurício, ao Sr. Domingos, ao Sr. Simião e ao Sofrimento Matsimbe pelo apoio concedido durante a montagem do ensaio.
- Ao Régulo de Licuáti por ter permitido a colheita das estacas.
- À minha mãe Matilde e ao meu padrasto Lastone e aos meus irmãos, Nelito, Jacy, Paizinho, Marília e Milton pelo amor, carinho, apoio e sacrifício demonstrados ao longo de toda minha carreira estudantil.
- À minha tia Paula Virade, por ter aceite o desafio de ser a minha segunda mãe durante a minha formação. Aos meus primos Mineu, Helena, Chinho e Cris pela renovação mental que inculciam em mim.
- Aos meus tios Gonçalves e Dinha, Francisca e Agostinho e a minha avó Maria.
- Aos meus colegas do curso Joaquim Chivambo, Francisco Azevedo e Valda Madau pelo encorajamento e inspiração.
- Àqueles que foram meus colegas de quarto: Justino Bonaze, Carlos de Sousa, Momad Juma, Eng^o Sérgio Preciso, dr. Lelo Tayob, José Mussagy, Daniel Pantie e aos meus amigos Nélio Mboana, Edson Belshior, Adilson Silva e Sara Salomão pelo consolo nos momentos difíceis.
- A todos os docentes e funcionários do Departamento de Ciências Biológicas que directa ou indirectamente contribuíram na minha formação.
- A todos os meus colegas que ingressaram no Departamento de Ciências Biológicas no ano 2002/2003, pelo carinho e amizade demonstrados.

Declaração de honra

Declaro por minha honra que o presente trabalho é da minha autoria e que os dados nele apresentados reflectem a realidade do ensaio.

Dizimalta dos Santos Fernando Miquitaio

Dizimalta dos Santos Fernando Miquitaio

Dedicatória

Dedico esta tese a minha querida mãe Matilde Virade Chapatica, aos meus amados irmãos e a minha flor Thabs pela força, pela inspiração e por terem acreditado em mim.

À memória do meu falecido pai Fernando Miquitaio, homem inteligente e estudioso, que mesmo no seu leito de morte acreditava que eu chegaria a universidade e que seria doutor.

ABREVIATURAS

- AIA — Ácido Indol-Acético
- ANA— Ácido α -Naftaleno – Acético
- AIB – Ácido 3-Indol-Butírico
- C – Controle
- N1— Tratamento com 5000mg/L ou 0,5% ou 0,005M de ANA
- N2— Tratamento com 7500mg/L ou 0,75% ou 0,0075M de ANA
- N3— Tratamento com 10000mg/L ou 1% de ou 0,01M de ANA
- B1— Tratamento com 5000mg/L ou 0,5% ou 0,005M de AIB
- B2— Tratamento com 7500mg/L ou 0,75% ou 0,0075M de AIB
- B3— Tratamento com 10000mg/L ou 1% ou 0,01M de AIB
- C1 – Controle no segundo experimento (anexo 4)
- N11— Tratamento com 5000mg/L ou 0,5% ou 0,005M de ANA no segundo experimento (anexo 4)
- N11— Tratamento com 5000mg/L ou 0,5% ou 0,005M de ANA no segundo experimento (anexo 4)
- N21— Tratamento com 7500mg/L ou 0,75% ou 0,0075M de ANA no segundo experimento (anexo 4)
- N31— Tratamento com 10000mg/L ou 1% de ou 0,01M de ANA no segundo experimento (anexo 4)
- B11— Tratamento com 5000mg/L ou 0,5% ou 0,005M de AIB no segundo experimento (anexo 4)
- B21— Tratamento com 7500mg/L ou 0,75% ou 0,0075M de AIB no segundo experimento (anexo 4)
- B31 — Tratamento com 10000mg/ ou 1% ou 0,01M de AIB no segundo experimento (anexo 4)

RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido com o objectivo de avaliar o efeito de diferentes concentrações de duas hormonas sintéticas, o Ácido Naftaleno - Acético (ANA) e o Ácido 3-Indol-Butírico (AIB) na propagação vegetativa por estacas caulinares da *Warburgia salutaris* (Bertol. f.) Chiov.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em factorial 4 x 2, com quatro concentrações diferentes de AIB e ANA (0; 5000; 7500 e 10000 mg/L) e dois substratos de enraizamento (solo do Rio Incomáti e mistura do solo do Rio Incomáti e solo dos arredores da Estufa de propagação do Departamento de Ciências Biológicas).

O ensaio consistiu de dois experimentos. No primeiro, as estacas foram imersas durante três a cinco segundos em soluções de AIB e ANA nas seguintes concentrações: 5000 mg/L (0,5%), 7500 mg/L (0,75%) e 10000 mg/L (1%) e em seguida foram colocadas para enraizamento em vasos contendo solo do Rio Incomáti. O segundo consistiu da imersão das estacas nas mesmas soluções e da sua posterior colocação em vasos contendo mistura de solo do Rio Incomáti e dos arredores da Estufa de Propagação na proporção de 1:1, para enraizamento.

Decorridos 120 dias do ensaio, os resultados mostraram que nas condições em o mesmo decorreu, a utilização de ANA e AIB nas concentrações já mencionadas e os substratos de enraizamento referidos não promove a formação de raízes adventícias em estacas caulinares de *Warburgia salutaris*. A sobrevivência das estacas em geral foi baixa. Os tratamentos com ANA a 1% no primeiro experimento e ANA a 0,75 e 1% e AIB a 0,5% no segundo experimento apresentaram 0% de sobrevivência no final do ensaio. Embora tenha havido formação de brotos, a média não passou de 1 unidade em todos tratamentos em ambos experimentos. Em geral notou-se maior número de brotos e maior percentagem de sobrevivência nos tratamentos com AIB em ambos experimentos.

O baixo número de brotos formados, a ausência de formação de raízes e a baixa sobrevivência, permitem concluir que a *Warburgia salutaris* é uma espécie de propagação difícil pelo método aqui apresentado.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	8
2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A PROPAGAÇÃO VEGETATIVA	12
2.1 Fases da propagação vegetativa.....	13
2.2 Estabelecimento da nova planta.....	13
2.3 Factores que afectam a regeneração de plantas a partir de estacas.....	14
2.3.1 Factores ligados a planta mãe.....	15
2.3.2 Factores ligados ao ambiente.....	16
2.4 Vantagens e desvantagens da propagação por estacas.....	18
3. OBJECTIVOS	19
3.1 Objectivo geral.....	19
3.2 Objectivos específicos.....	19
4. HIPÓTESE	19
5. ÁREA DE ESTUDO	19
6. MATERIAL E MÉTODO	20
6.1 Material vegetal.....	20
6.2 Substrato de enraizamento (solo).....	20
6.3 Material e equipamento experimental.....	21
6.4 Soluções e reagentes.....	21
6.5 Esterilização do solo (substrato de enraizamento).....	22
6.6 Colheita e preparação das estacas.....	22
6.7 Montagem do ensaio.....	23
6.8 Análise dos dados.....	24

7. RESULTADOS	25
7.1 Efeito de ANA e AIB na formação de raízes adventícias.....	25
7.2 Efeito de ANA e AIB na sobrevivência das estacas no experimento usado unicamente solo do Rio Incomáti	25
7.3 Efeito de ANA e AIB na sobrevivência das estacas no experimento usado mistura do solo do Rio Incomáti e dos arredores da estufa	26
7.4 Efeito de AIB e ANA no número médio de brotos formados no experimento usado unicamente solo do Rio Incomáti.	27
7.5 Efeito de AIB e ANA no número médio de brotos formados no experimento usado mistura do solo do Rio Incomáti e dos arredores da estufa	29
8. DISCUSSÃO.....	33
Efeito do AIB e ANA no enraizamento e sobrevivência das estacas	33
Efeito do AIB e ANA no número de brotos formados	38
9. CONCLUSÕES.....	41
10. RECOMENDAÇÕES.....	42
11. LIMITAÇÕES.....	42
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
ANEXOS.....	48

1. INTRODUÇÃO

A *Warburgia salutaris* (Bertol. f.) Chiov. é uma planta medicinal pertencente a família tropical Canellaceae (van Wyk *et al.*, 1997). O termo *salutaris* em latim significa "saudável" (van Wyk & Gericke, 2000) em referência as propriedades medicinais da planta (Pooley, 1993).

A *Warburgia salutaris* ocorre na África do Sul (Jansen & Mendes 1990; van Wyk *et al.*, 1997), Zimbábwe e Suazilândia (Golding, 2002) e na Zâmbia e Malawi (Palgrave, 1981). Em Moçambique a planta encontra-se apenas nas florestas abertas sub-montanhas do extremo sul do país (Jansen & Mendes, 1990).

A casca da *Warburgia salutaris* contém tiamina e manitol e a sua parte interna é avermelhada, amarga e tem uma variedade de aplicações medicinais (van Wyk, 1994; van Wyk *et al.*, 1997). A casca contém também numerosos sesquiterpenóides tais como a Warbuganal e poligodial (Brooks & Draffan, 1969b; van Wyk *et al.*, 1997; Zschocke *et al.*, 2000; Manguroa *et al.*, 2003ab; Wube *et al.*, 2005) que tem efeitos anti-fúngico, anti-microbiano, insecticida (Brooks & Draffan, 1969a; Kioy *et al.*, 1990; Manguroa *et al.*, 2003ab; Wube *et al.*, 2005) e anti-bacteriana (Rabe & van Staden, 2000; Mashimbye *et al.*, 1999).

Em Moçambique a casca é aplicada no tratamento de Anginas e constipação, inflamação das gengivas em crianças e doenças da garganta (Jansen & Mendes, 1990). A casca é usada também no tratamento da influenza, reumatismo, doenças venéreas, dores de cabeça, dores de dente, úlceras gástricas (van Wyk *et al.*, 1997; van Wyk & Gericke, 2000), dores estomacais (Wube *et al.*, 2005), malária (Rabe & van Staden, 2000), constipação comum, feridas na boca, inflamações na garganta, perturbações peitorais, perturbações pulmonares e sinusites (Jansen & Mendes, 1990).

A *Warburgia salutaris* tem sido excessivamente explorada por colectores para propósitos medicinais tradicionais, sendo maioritariamente usada a casca (Jansen & Mendes, 1990; Rabe & van Staden, 2000).

Por causa da excessiva exploração a *Warburgia salutaris* é aparentemente quase extinta nas suas populações naturais. Existem apenas seis áreas protegidas na África do Sul, onde poucos espécimes de *Warburgia salutaris* crescem. A casca é frequentemente importada ilegalmente do Zimbábwe, Suazilândia e de Moçambique, onde as reservas desta planta estão a diminuir rapidamente (Pooley, 1993; Zschocke *et al.*, 2000; Golding, 2002).

Referindo-se a situação da planta em Moçambique Fato (1995) faz menção de lenhadores, carvoeiros e cortadores de material de construção que trazem regularmente a *Warburgia salutaris* ao mercado, aumentando activamente o seu fluxo e em grande medida o risco de extinção que a planta corre.

Em muitos países em desenvolvimento como Moçambique a excessiva exploração de reservas naturais de plantas medicinais está estritamente ligada a rápida expansão populacional e aumento da urbanização. Nestes países, onde a medicina Ocidental é inacessível, muito cara ou não aceita, a maioria da população continua confiando nos medicamentos tradicionais a base de plantas (Rabe & van Staden, 2000).

Na Europa, China e Índia, as plantas medicinais são na sua maioria cultivadas em grande escala para responder a grande demanda por medicina a base de plantas, ao passo que em África, a prática comum continua sendo a colecta de plantas medicinais nas populações naturais (florestas) (Rabe & van Staden, 2000).

Espécies de plantas que tem um crescimento e reprodução lentos são especialmente vulneráveis a excessiva colecta por parte do homem. Consequentemente muitas destas espécies estão ameaçadas ou em perigo de extinção (Wube *et al.*, 2005).

Estudos têm mostrado que as árvores de florestas são altamente vulneráveis a exploração excessiva principalmente porque a casca é a parte das plantas mais usada (Zschocke *et al.*, 2000).

No sul de África, região da qual o nosso país faz parte, a casca é usada em cerca de 83% das árvores com aplicação medicinal (Rabe & van Staden, 2000).

Existem várias estratégias possíveis para solucionar o problema da extracção da casca (Zschocke *et al.*, 2000). Uma delas pode ser o estabelecimento de áreas de conservação e leis reforçadas contra a colecta de casca. Outra pode ser o cultivo em larga escala das plantas, o que pode não ser viável a curto prazo para suprir quantidade suficiente de casca visto que estas plantas têm um crescimento bastante lento. Uma terceira sugestão, que não recebe muita atenção, é o encorajamento dos colectores a usar partes alternativas das plantas como por exemplo as folhas. Há evidências que indicam que a colheita de folhas e frutos não danifica as plantas comparativamente a extracção de casca (Rabe & van Staden, 2000).

O uso de partes alternativas das plantas medicinais, pode ser uma estratégia importante de conservação de plantas medicinais no Sul de África. Há necessidade de se intensificar as investigações das folhas e outras partes das plantas que não são tradicionalmente usadas (Rabe & van Staden, 2000).

A composição química similar entre as várias partes duma mesma planta é obviamente de grande importância neste respeito. Em várias espécies, vários compostos activos encontrados na casca também foram encontrados nas folhas. Investigações como estas podem proteger mais espécies da extinção e permitir a recuperação de muitas plantas medicinais ameaçadas (Rabe & van Staden, 2000).

No presente trabalho dá-se total ênfase ao cultivo em larga escala da *Warburgia salutaris* através da propagação vegetativa por meio de estacas com aplicação de auxinas sintéticas como forma de minimizar o risco de extinção que a planta corre.

«Tal opção se deve ao facto de Salim *et al.* (2002) referirem que a *Warburgia salutaris* pode ser propagada a partir de sementes, mas estas são muitas vezes infestadas por insectos e que sem a ocorrência de infestação a taxa de germinação é boa (cerca de 80% em cerca de 15 dias). Segundo os mesmos autores o método mais fácil de propagação da planta é a partir de estacas caulinares.

As auxinas são as hormonas sintéticas com maior efeito na formação de raízes em estacas (Carr, 1972; Hartmann *et al.*, 1997).

No presente trabalho, para a promoção de enraizamento em estacas de *Warburgia salutaris* foram empregues duas auxinas sintéticas, o Ácido 3-Indol-Butírico (AIB) e o Ácido Naftaleno-Acético (ANA) porque segundo Carr (1972) e Hartmann *et al.* (1997) são as auxinas sintéticas mais usadas na propagação por estacas por não se desintegrarem prontamente quando aplicadas aos tecidos vivos.

O Ácido Indol-Acético (AIA), de ocorrência natural, é sensível a luz e é prontamente inactivada e pode ser destruída por oxidação pela enzima AIA oxidase (Salisbury & Ross, 1969; Carr, 1972; Hartmann *et al.*, 1997).

Segundo van Wyk *et al.* (1997) e Salim *et al.* (2002) muitas plantas desta espécie têm sido propagadas a partir de estacas numa tentativa de reduzir a pressão sobre a sua população natural. Com a mesma finalidade, foi realizado um ensaio visando a propagação desta planta no Viveiro do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Eduardo Mondlane, no qual foram usadas 528 estacas desta planta, porém apenas uma formou raízes (Senkoro, em comunicação pessoal, 2006).

Além deste estudo, Gomane (2005) analisou os efeitos da inoculação por fungos endomicorrízicos na propagação vegetativa de *Warburgia salutaris* porém o enraizamento resultante nas estacas foi fraco.

No presente estudo, é testado um outro método de propagação da planta que consiste da avaliação do potencial de diferentes concentrações de auxinas sintéticas (ANA e AIB) na formação de raízes adventícias em estacas caulinares de *Warburgia salutaris*.

Visto que segundo Hartmann *et al.* (1997) o tratamento de estacas com auxinas aumenta a percentagem de estacas que formam raízes e que poderão se desenvolver como plantas independentes, o presente estudo tem como objectivo principal identificar a partir da técnica de propagação de estacas caulinares por imersão em diferentes concentrações de hormonas (auxinas), um tratamento apropriado de propagação que melhor influencie a formação de raízes adventícias em estacas caulinares de *Warburgia salutaris*, de modo a promover-se o cultivo massivo desta espécie e delas extrair-se a casca com a finalidade de diminuir a pressão exploratória sobre a população natural da espécie.

2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A PROPAGAÇÃO VEGETATIVA

A propagação de plantas envolve a sua multiplicação e produção usando propágulos que representam um determinado genótipo. O propágulo é qualquer parte duma planta usada para produzir uma nova planta ou população de plantas. Propágulos específicos incluem sementes, estacas, explantes, brotos, enxertos e vários tipos de estruturas especializadas como bolbos, colmos e tubérculos (Hartmann *et al.*, 1997).

A propagação por estacas ou estaquia é um dos métodos mais importantes no processo de propagação vegetativa, destacando-se por promover a multiplicação de plantas-matrizes seleccionadas, mantendo as características desejáveis da mesma (Meletti, 2000 citado por da Costa *et al.*, 2003).

No entanto, existem espécies que apresentam facilidade em emitir raízes adventícias de suas estacas em relação a outras (Tofanelli, 1999 citado por da Costa *et al.*, 2003). A propagação comercial de mudas por estaquia é viável, mas é dependente da capacidade de enraizamento de cada espécie, da qualidade do sistema radicular formado e do

desenvolvimento posterior da planta (Fachinello *et al.*, 1995 citados por da Costa *et al.*, 2003).

A dificuldade de enraizamento das estacas, envolvendo a participação tanto de factores relacionados à própria planta como também ao ambiente, constitui um dos mais sérios problemas, sendo importante a busca de técnicas auxiliares, como o uso de reguladores de crescimento, para assim proporcionar uma melhoria no enraizamento (Biasi, 1996 e Mayer, 2001 citados por da Costa *et al.*, 2003).

2.1 Fases da propagação vegetativa

O processo de propagação propriamente dito não é mais do que uma das diversas fases de produção vegetal. As fases da produção vegetal constam da selecção de material a partir do qual se fará a propagação, da sua preparação tendo em vista transmitir-lhe uma capacidade de regeneração elevada, do fornecimento de condições adequadas sob as quais possa ocorrer a regeneração do referido material e por último, assegurar a sobrevivência até a fase final em que a nova planta se pode considerar estabelecida e autónoma (Browse, 1979).

2.2 Estabelecimento da nova planta

Logo após a regeneração do material vegetal segue-se a última fase da propagação, isto é, o estabelecimento do novo material como uma planta nova, completa e independente (Garner e Chaudhri, 1976).

A principal dificuldade na obtenção de plantas a partir de estacas caulinares reside no facto de um ramo ter de sobreviver, após a separação da planta mãe, iniciar um processo de produção de raízes e estabelecer-se como uma planta individualizada (Garner & Chaudhri, 1976).

Segundo Browse (1979), o facto de a estaca obtida a partir de um ramo produzir raízes não implica, só por si, a existência de uma nova planta pois ambos os sistemas devem

...crescer harmoniosamente de modo a conseguir-se um crescimento equilibrado e completo. Assim, segundo o mesmo autor, muitas vezes torna-se relativamente simples induzir uma estaca a regenerar uma parte em falta, mas é sempre mais difícil a obtenção do estabelecimento do material vegetal e tal consegue-se retirando o material do ambiente de protecção e tornando mais severas as condições do meio até se obter um indivíduo independente que possa desenvolver-se bem num ambiente normal.

Além da selecção rigorosa do material a propagar, a formação de raízes adventícias é outro pré requisito para o sucesso da propagação por estacas e do próprio estabelecimento da planta. A propagação por estacas requer unicamente que se forme um novo sistema de raízes adventícias (Hartmann *et al.*, 1997).

Segundo Raven *et al.* (2001), raízes adventícias são aquelas que se formam a partir do caule, que junto com as suas raízes laterais dão origem a um sistema radicular fasciculado, no qual nenhuma raiz é mais proeminente que outra.

A formação de raízes adventícias e brotos é dependente da diferenciação, isto é, da capacidade das células previamente desenvolvidas de iniciar a divisão celular e formar novos meristemas. As raízes adventícias em caules, normalmente se originam de células vivas do parênquima, do floema secundário, cilindro vascular, do câmbio, *callus* ou lenticelas. O *callus* é uma massa irregular de células de parênquima em vários estágios de divisão que comumente se desenvolvem na parte basal da estaca (Hartmann *et al.*, 1997).

2.3 Factores que afectam a regeneração de plantas a partir de estacas

A habilidade das estacas formarem raízes varia de espécie para espécie. Estacas caulinares de algumas espécies formam raízes com maior facilidade e fornecem maiores percentagens de enraizamento que outras espécies. Algumas espécies são mais difíceis de enraizar e o mesmo só ocorre sob influência de determinados factores específicos e quando mantidas sob óptimas condições (Hartmann *et al.*, 1997).

Segundo Hartmann & Kester (1965) estacas de algumas variedades não formam raízes em nenhuma circunstância!

2.3.1 Factores ligados a planta mãe

Seleccção das estacas para regeneração

Segundo Lewis (1965) a escolha do material vegetal a propagar é o primeiro passo para o sucesso da propagação por estacas. Só devem marcar-se para a propagação as melhores formas e partes de uma planta, constituídas por um material saudável e sem infecções por vírus (Browse, 1979).

Estado nutricional da planta mãe

Há evidência considerável de que a nutrição da planta mãe exerce uma forte influência no desenvolvimento de raízes e folhas das estacas a serem propagadas. Quando a planta mãe cresce sob deficiências em cálcio, fósforo, potássio, magnésio, a formação de raízes nas estacas colhidas dela é fraca relativamente àquelas colhidas de plantas crescendo em ambientes ricos em nutrientes (Hartmann & Kester, 1965).

Idade da planta mãe

Segundo Lewis (1965) e Browse (1979), o melhor e mais rápido desenvolvimento radicular obtém-se com plantas jovens, isto é, ainda imaturas e incapazes de formarem flores ou frutos. Garner e Chaudhri (1976) sugerem que as melhores estacas são as obtidas a partir de plantas jovens que tenham entre 2 a 3 anos.

Em plantas fáceis de propagar a partir de estacas, faz pouca diferença a idade da planta mãe, mas em plantas difíceis de enraizar a idade da planta mãe é um factor importante a considerar. A facilidade com a qual as raízes se formam, usando estacas colhidas de plantas de um ano de idade, normalmente decresce com aumento da idade (Hartmann & Kester, 1965).

Material vegetal usado como estaca

Na obtenção do material para estacas, há muitas alternativas relativo ao tipo de material a usar, que pode ser a raiz, o caule ou a folha. Aqui também existem muitos factores que afectam o enraizamento das estacas, e é impossível estabelecer um único tipo de material que seria efectivo em todas as plantas. O que pode ser ideal para um tipo de planta pode ser um fracasso em outra. Por exemplo, a capacidade de formar raízes das porções basais pode ser consideravelmente elevada em relação as porções apicais (Hartmann & Kester, 1965).

Período de colheita das estacas

As estacas podem ser colhidas em qualquer período do ano. Certas espécies podem facilmente formar raízes em qualquer período do ano, outras porém formam raízes se forem obtidas em períodos definidos do ano, isto é, quando o material (estaca) está sob determinado estágio de desenvolvimento (Hartmann & Kester, 1965).

O estado vegetativo ou de floração da planta também precisa ser levado em conta. A remoção das flores em si não aumenta a percentagem de enraizamento, o que indica que a presença de flores em si não inibe a formação de raízes, mas as condições anatómicas e fisiológicas associadas a sua presença (Hartmann *et al.*, 1997).

2.3.2 Factores ligados ao ambiente

A luz

A luz afecta profundamente o crescimento e desenvolvimento das plantas de duas maneiras. Primeiro, é a fonte de energia que conduz o processo fotossintético, o processo pelo qual as plantas criam o substrato orgânico necessário ao crescimento. Segundo, a luz ou, mais propriamente, a ausência de luz - regula o desenvolvimento da nova planta através do fenómeno denominado fotoperiodismo, no qual períodos de escuridão diária

de menos de 10 horas estimulam a alongação e formação activa dos rebentos, ao passo que períodos de escuridão diária superiores a 14 horas estimulam a dormência (Duryea & Landis, 1984; Hartmann & Kester, 1965).

O efeito da luz na formação de raízes em estacas varia de acordo com o tipo de estaca. É bem sabido que a ausência de luz no tecido do caule (etiolação) contribui para a iniciação em primórdios radiculares de algumas plantas. Por outro lado, estacas foliares requerem uma exposição das folhas a luz para que haja a formação de raízes (Hartmann & Kester, 1965).

Temperatura

Segundo Duryea e Landis (1984) as temperaturas ótimas para iniciação radicular para espécies tropicais situam-se entre 25°C a 32°C. Temperaturas excessivamente elevadas devem ser evitadas porque estas tendem a promover um maior desenvolvimento de rebentos do que das raízes, acelerando a perda de água pelas folhas (Hartmann *et al.*, 1997).

É importante que o desenvolvimento de raízes seja avançado em relação ao das folhas para que haja rápida compensação da água perdida pelas folhas (Hartmann & Kester, 1965).

Humidade

Assim como a luz, a humidade influencia o crescimento e desenvolvimento da planta pela sua presença ou ausência. A taxa da fotossíntese, pode ser severamente reduzida pelo défice de humidade, mas também pode ser reduzida por solos saturados, que produzem um ambiente anaeróbico ou que promovem o crescimento de patógenos (Duryea & Landis, 1984).

Substrato de enraizamento (solo)

Segundo Free (1957), o meio de enraizamento tem três funções: (a) acomodar a estaca durante o período de enraizamento, (b) prover humidade a estaca e (c) prover ar na base da estaca. O meio de enraizamento ideal é aquele que provê porosidade suficiente para permitir uma boa aeração e drenagem e tem de ser relativamente livre de fungos e bactérias (Browse, 1979; Baker, 1992).

A disponibilidade de oxigénio no meio de enraizamento é essencial para a produção de raízes, embora a exigência varie de espécie para espécie (Hartmann & Kester, 1965).

A areia segundo Hartmann e Kester (1965) é o substrato de enraizamento mais usado na propagação por estacas. Ainda segundo os mesmos autores a areia tem de ser suficientemente fina para permitir alguma retenção de água a volta das estacas e ao mesmo tempo permitir uma boa drenagem da água.

2.4 Vantagens e desvantagens da propagação por estacas

Segundo Hartmann & Kester (1965) as vantagens da propagação por estacas são: a regeneração de muitas plantas num espaço limitado, rapidez, simplicidade, ausência de problemas de compatibilidade e a obtenção de uma grande uniformidade pela ausência de variação ou seja o facto de a planta mãe ser reproduzida exactamente sem modificação genética.

Entre as desvantagens Hartmann & Kester (1965) referem a necessidade de o material a ser usado ser resistente a algumas condições adversas do solo, como por exemplo alguns patógenos.

3. OBJECTIVOS

3.1 Objectivo geral

- Avaliar o efeito de diferentes concentrações do Ácido 3 – Indol-Butírico (AIB) e Ácido Naftaleno-Acético (ANA) na formação de raízes adventícias em estacas caulinares da *Warburgia salutaris* (Bertol. f.) Chiov. em dois substratos de enraizamento.

3.2 Objectivos específicos

- Determinar o efeito de diferentes concentrações do AIB e ANA nos seguintes parâmetros:
 - percentagem de enraizamento.
 - número médio e comprimento médio e máximo das raízes adventícias formadas.
 - número médio de brotos formados por estaca.
 - sobrevivência das estacas.

4. HIPÓTESE

Segundo Garner e Chaudhri (1976) e Hartmann *et al.* (1997) o Ácido 3 – Indol-Butírico é a auxina mais eficaz na promoção de enraizamento e conseqüentemente mais eficaz na propagação vegetativa por estacas em relação ao Ácido Naftaleno-Acético.

5. ÁREA DE ESTUDO

O presente ensaio foi realizado na Estufa pertencente ao Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Eduardo Mondlane que se localiza no Campus Universitário da mesma (anexo 5). A intensidade média da luz na estufa durante o período decorrente do ensaio (Fevereiro a Junho de 2006) foi de 60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ durante as manhãs, 80

$\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ao meio dia, $65 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ao meio da tarde e finalmente cerca de $10 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ nos finais de tarde.

Não foi possível medir a temperatura e a humidade na Estufa, devido a avaria dos respectivos aparelhos de medição.

6. MATERIAL E MÉTODO

6.1 Material vegetal

- Estacas caulinares de *Warburgia salutaris* de mais ou menos 10-12 cm comprimento e 0,3 a 0,5 cm de diâmetro, colhidas na reserva florestal do Licuáti, situada no distrito de Matutuine na província de Maputo.

6.2 Substrato de enraizamento (solo)

- Solo colhido nos arredores da estufa do Departamento de Ciências Biológicas, no Campus principal da Universidade Eduardo Mondlane. Segundo Quilambo (2000) citando Malithano *et al.* (1993), este solo é arenoso e é composto de 85,6% de areia, 13,4% de limo, 1% de argila, 0,12% de matéria orgânica, 0,08% de Nitrogénio total e 0,07% de carbono.
- Solo colhido no Rio Incomáti, Província de Maputo, do qual não foi possível fazer-se a análise da sua composição.

Estes substratos de enraizamento foram seleccionados por serem arenosos, e segundo Duryea e Landis (1984) e Hartmann e Kester (1965), são os mais apropriados para indução de raízes em estacas por apresentarem as seguintes características: rápida drenagem do excesso de água do solo, alta resistência a compactação, baixa adesão do solo as raízes formadas, retenção de suficiente humidade, suficiente porosidade, permitem a drenagem da água e têm adequada aeração.

6.3 Material e equipamento experimental

- 490 sacos plásticos (vasos) de tamanho 1
- Tesoura de poda
- Pá escavadora
- Estufa de esterilização de solo
- Baldes plásticos
- Baldes de metal
- Regador
- Balão volumétrico de 1000 ml
- Etiquetas
- Pipeta de 50 ml
- Régua
- Cronómetro
- Papel de alumínio
- Marcador
- AIB e ANA em pó
- Balança electrónica

6.4 Soluções e reagentes

- ANA e AIB a 0,5% (5000mg/L ou 0,005M); 0,75% (7500mg/L ou 0,0075M) e 1% (10000mg/L ou 0,01M) respectivamente.
 - Álcool etílico a 50%
 - Água destilada
- Para preparar 1% (0,01M) de solução do AIB ou ANA pesou-se 10g de auxina e dissolveu-se em 15 a 20 ml de álcool etílico a 50% em um balão volumétrico de 1000 ml, daí preencheu-se o recipiente até 1000 ml (1litro) com álcool etílico à 50% (Hartmann *et al.*, 1997).

- Preparou-se 0,5% (0,005M) de solução do AIB ou ANA a partir de uma solução de auxina a 1%, adicionando-se 500 ml da solução de 1% e 500 ml de álcool à 50% num balão volumétrico de 1000 ml.
- Preparou-se 0,75% (0,0075M) de solução do AIB e ANA a partir de uma solução de auxina a 1%, adicionando-se 750 ml da solução de 1% e 250 ml de álcool à 50% num balão volumétrico de 1000 ml.

Nota: os ácidos em pó foram inicialmente dissolvidos em álcool para facilitar a penetração dos mesmos nos tecidos da planta (Hartmann *et al.*, 1997). As concentrações aqui apresentadas são as melhores a aplicar às espécies de difícil iniciação radicular segundo Hartmann *et al.* (1997).

6.5 Esterilização do solo (substrato de enraizamento)

As amostras de solo usadas passaram por um processo de esterilização, para reduzir a incidência de pragas, doenças e ervas daninhas (Browse, 1979; Katan & DeVay, 1991; Metting, 1992). O solo foi esterilizado numa estufa a 100 °C durante 30 minutos (DeVay, 1991).

6.6 Colheita e preparação das estacas

Os ramos foram colhidos nas primeiras horas da manhã quando estavam túrgidos, para que se garantisse que tivessem bom suprimento de água no momento da colheita (Garner & Chaudhri, 1976).

Usando tesouras de poda cortou-se vários ramos da planta mãe e foram colocados em baldes contendo água da torneira para evitar que os ramos perdessem água (Garner & Chaudhri, 1976).

Dos ramos colhidos foram preparadas pequenas estacas de 10 a 12 cm de comprimento e 0,3 a 0,5 cm de diâmetro (Hartmann *et al.*, 1997).

Algumas folhas das pequenas estacas foram cortadas para reduzir a perda de água por transpiração (Lewis, 1965; Garner e Chaudhri, 1976; Hartmann *et al.*, 1997) e colocadas em baldes com água da torneira até o momento do tratamento com as hormonas.

6.7 Montagem do ensaio

O ensaio teve a duração de 120 dias (quatro meses), de Fevereiro a Junho de 2006. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em fatorial 4 x 2, com quatro concentrações diferentes de AIB e ANA (0; 5000; 7500; 10000 mg/L) e dois substratos de enraizamento com 35 réplicas por tratamento.

O ensaio consistiu de dois experimentos, sendo no primeiro usado unicamente o solo ou substrato de enraizamento colhido no Rio Incomáti e no segundo, a mistura de solo colhido no Rio Incomáti e o colhido nos arredores da Estufa de Propagação na proporção de 1:1 (Tabela 1).

Não foi usado o solo dos arredores da estufa de forma singular porque em anteriores tentativas fracassadas de propagação da presente espécie foi usado unicamente este solo.

Foram usadas 490 estacas, isto é, 245 para cada experimento e divididas em 7 grupos de 35 estacas cada em ambos experimentos (Tabela 1 e anexo 6).

O tratamento controle consistiu da imersão das estacas em água da torneira e posterior colocação em vasos contendo solo do Rio previamente humedecidos com água da torneira. Os restantes tratamentos consistiram da imersão das estacas pela parte basal até 2 cm em cada uma das soluções de AIB e ANA a 0,5%; 0,75% e 1% de concentração respectivamente, durante 3 a 5 segundos (Hartmann *et al.*, 1997) e em seguida foram

plantadas em vasos contendo meio de enraizamento previamente humedecidos com água da torneira.

Após a montagem do ensaio, os vasos foram mantidos numa estufa e regados regularmente duas vezes por dia com água da torneira. Um mês depois e até o final da experiência a rega foi efectuada uma vez por dia. Semanalmente fez-se a contagem das estacas vivas e mensalmente fez-se a contagem dos brotos formados por estaca. A observação do nível de enraizamento das estacas foi realizada no final do ensaio, isto é depois de 120 dias decorrentes do ensaio.

Tabela 1. Desenho experimental

Experimento	Controlo (Neutro)	Tratamento e número de estacas						Total
		ANA (Concentração em %)			AIB (Concentração em %)			
		0,5	0,75	1	0,5	0,75	1	
1	35	35	35	35	35	35	35	245
2	35	35	35	35	35	35	35	245

6.8 Análise dos dados

No final do ensaio os dados referentes ao número médio de brotos formados por estaca foram analisados através do pacote estatístico *Statistix*. Os mesmos dados foram submetidos à análise de variância e ao teste Tukey e os níveis de AIB e ANA à regressão linear, ao nível de 0,05 de probabilidade (Berquó *et al.*, 1981; Pereira, 2003; Spiegel *et al.*, 2004). A análise de sobrevivência foi feita mediante o cálculo da percentagem semanal de estacas vivas e posterior análise das curvas de sobrevivência.

7. RESULTADOS

7.1 Efeito de ANA e AIB na formação de raízes adventícias

Nas condições em que o presente ensaio decorreu, a aplicação das diferentes concentrações do AIB e ANA (a 0%, 0,5%; 0,75% e 1% de concentração respectivamente) empregando o solo do Rio Incomáti e a mistura do solo dos arredores da estufa e do Rio Incomáti não resultou na formação de raízes, isto é, a percentagem de estacas enraizadas em todos tratamentos no final do ensaio foi de 0%.

A não formação de raízes não permitiu o cálculo e análise dos parâmetros relacionados a raiz, isto é, o número médio de raízes adventícias formadas, o comprimento médio e máximo das raízes formadas por estaca por tratamento.

7.2 Efeito de ANA e AIB na sobrevivência das estacas no experimento usado unicamente solo do Rio Incomáti

Neste experimento, a mortalidade das estacas foi mais acelerada no tratamento com ANA a 1% onde na quarta semana a percentagem de estacas vivas já era de 0%. A maior percentagem de sobrevivência no final do ensaio verificou-se no tratamento com AIB a 0,5% cuja percentagem foi de 11,42% (Fig. 1).

Nos restantes tratamentos o comportamento de sobrevivência das estacas foi idêntico e percentagem de sobrevivência no final do ensaio foi de 2,85% (Fig 1).

Do total de estacas presentes neste experimento no início do ensaio, apenas 3,7% permaneciam vivas no final do ensaio.

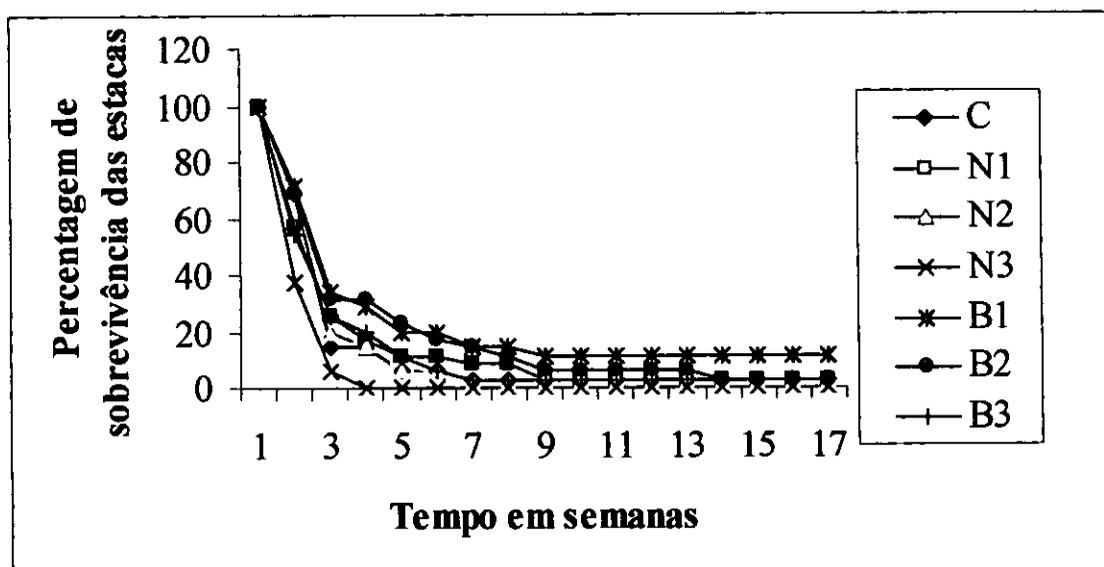


Figura 1. Sobrevivência das estacas nos tratamentos com ANA e AIB no experimento usado unicamente solo do Rio Incomáti, durante 120 dias. C - controlo, N1- ANA a 5%, N2 - ANA a 0,75%, N3- ANA a 1%, B1- AIB a 0,5%, B2 - AIB a 0,75%, B3 - AIB a 1%.

7.3 Efeito de ANA e AIB na sobrevivência das estacas no experimento usado mistura do solo do Rio Incomáti e dos arredores da estufa

A mortalidade das estacas neste experimento foi mais acentuada no tratamento com ANA a 1%, no qual a partir da terceira semana a mortalidade já era de 100% (isto é, 0% de estacas vivas). Os tratamentos com ANA a 0,5% e 1% e com AIB a 0,5% também apresentaram 0% de sobrevivência no final do ensaio (Fig. 2).

A mortalidade atingiu os 100% no tratamento com ANA a 0,5% a partir da oitava semana e a partir da décima primeira semana no tratamento com AIB a 0,5%. Nos restantes tratamentos a sobrevivência das estacas foi similar e a sobrevivência das estacas no final do ensaio foi de 2,85% (Fig. 2).

Do total de estacas presentes neste experimento no início do ensaio, apenas 1,63% permaneciam vivas no final do ensaio.

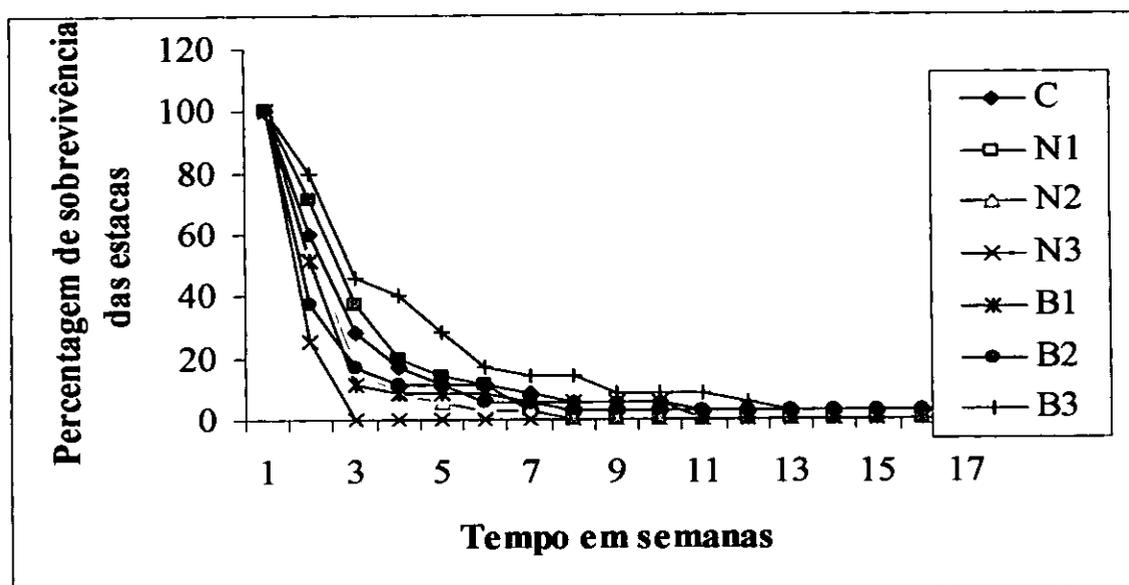


Figura 2. Sobrevivência das estacas nos tratamentos com ANA e AIB no experimento usado mistura do solo do Rio Incomáti e dos arredores da estufa, durante 120 dias. C - controle, N1- ANA a 5%, N2 - ANA a 0,75%, N3 - ANA a 1%, B1- AIB a 0,5%, B2 - AIB a 0,75%, B3 - AIB a 1%.

7.4 Efeito de AIB e ANA no número médio de brotos formados no experimento usado unicamente solo do Rio Incomáti.

Algumas estacas formaram brotos, porém a média do número de brotos formados em todos os tratamentos decorridos os 120 dias não passou de uma unidade (Tabela 2).

A análise de variância (ANOVA) mostrou que as médias do número de brotos nos diferentes tratamentos com ANA e AIB apresentavam diferenças significativas ($P < 0,05$). O teste de Tukey a 5% de nível de significância permitiu a identificação do tratamento com AIB a 0,5% como o que apresentou a média de brotos diferente dos restantes (Anexo 2).

A Figura 3 mostra que na regressão linear para o tratamento com ANA o aumento da concentração desta hormona não corresponde ao aumento o número de brotos nas estacas de *Warburgia salutaris*, isto é, não há relação entre o aumento da concentração e

o aumento do número médio de brotos. Pode-se ver que as médias mais baixas do número de brotos formados correspondem a mais altas concentrações das hormonas e vice-versa, isto é a correlação entre a concentração de ANA e o número médio de brotos é negativa forte ($r^2 = 0,9255$).

Para o tratamento com AIB nota-se também que aumento da concentração desta hormona não corresponde ao aumento o número de brotos nas estacas de *Warburgia salutaris*, isto é, não há relação entre o aumento da concentração e o aumento do número médio de brotos, o que é explicado pelo facto de a correlação entre a concentração de AIB e o número médio de brotos ser negativa fraca ($r^2 = 0,0808$) (Fig. 4).

Tabela 2. Número médio de brotos por estaca nos tratamentos com AIB e ANA no final de 120 dias, no experimento usado unicamente solo do Rio Incomáti.

Nota: Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de nível de significância.

Factor	Níveis de factor	Nº total de brotos	Nº médio de brotos
ANA	0%	11	0,31±0,01a
	0,5%	7	0,20±0,07 a
	0,75%	5	0,14±0,04 a
	1%	0	0,00±0,00 a
AIB	0,5%	30	0,85±0,07 b
	0,75%	10	0,28±0,05 a
	1%	5	0,14±0,04 a

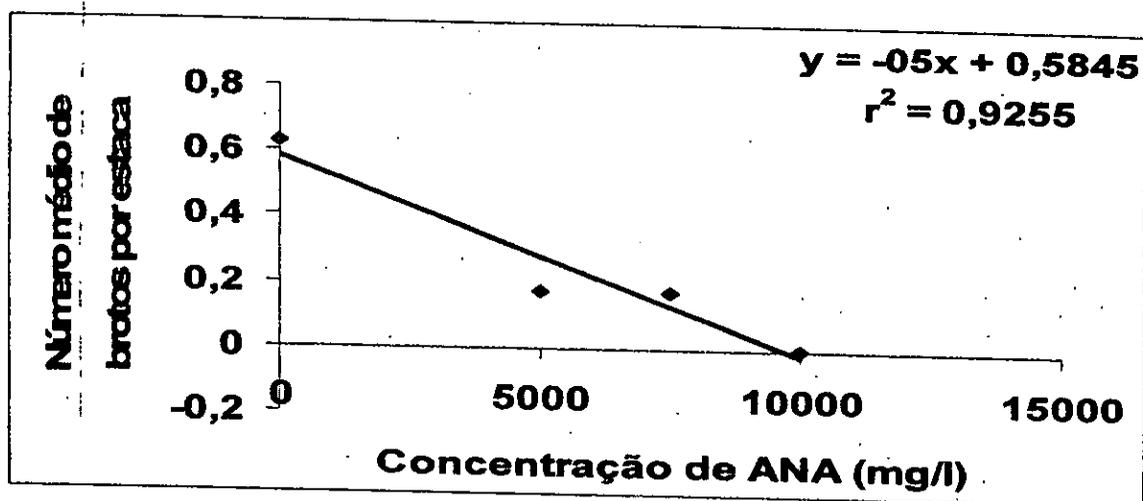


Figura 3. Relação entre o número médio de brotos formados por estaca e as concentrações de ANA no experimento usado unicamente solo do Rio Incomáti após 120 dias.

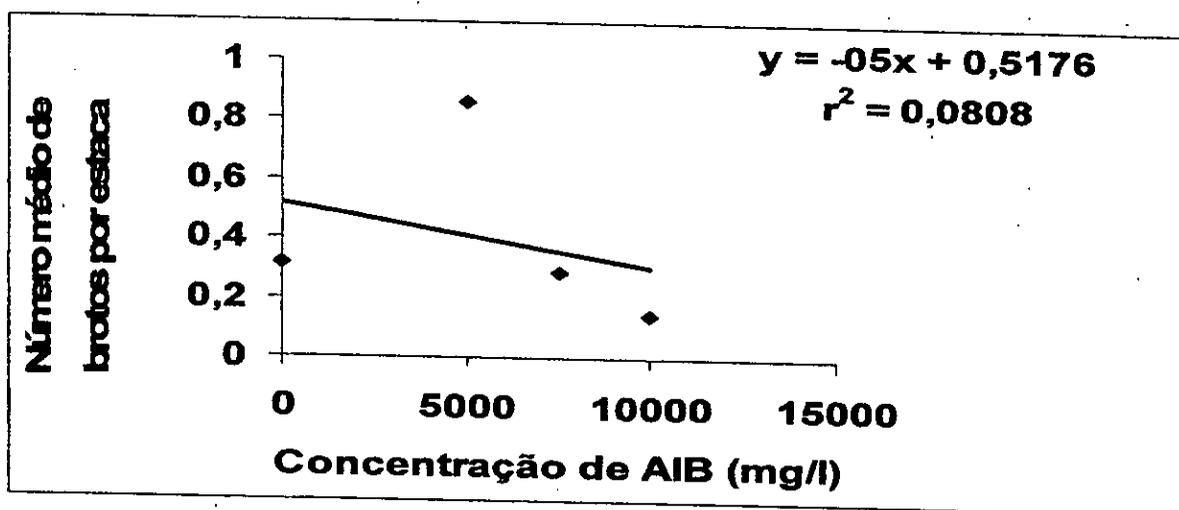


Figura 4. Relação entre o número médio de brotos formados por estaca e as concentrações de AIB no experimento usado unicamente solo do Rio Incomáti após 120 dias.

7.5 Efeito de AIB e ANA no número médio de brotos formados no experimento usado mistura do solo do Rio Incomáti e dos arredores da estufa

A média do número de brotos formados em todos os tratamentos decorridos os 120 dias também não passou de uma unidade neste experimento (Tabela 3).

A análise de variância mostrou que as médias do número de brotos nos diferentes tratamentos com ANA e AIB apresentavam diferenças significativas ($P < 0,05$). O teste de Tukey a 5% de nível de significância permitiu a identificação do controle e os tratamentos com AIB a 0,75% e 1% como os que apresentaram médias de brotos diferentes dos restantes tratamentos (Anexo 3).

A Figura 5 mostra que na regressão linear para o tratamento com ANA o aumento da concentração desta hormona não corresponde ao aumento o número de brotos nas estacas de *Warburgia salutaris*, isto é, não há relação entre o aumento da concentração e o aumento do número médio de brotos. Pode-se ver que as médias mais baixas do número de brotos formados correspondem as mais altas concentrações das hormonas e vice-versa, ou seja a correlação entre as concentrações de ANA e o número médio de brotos é negativa forte ($r^2 = 0,9446$).

Para o tratamento com AIB nota-se também que aumento da concentração desta hormona não corresponde ao aumento o número de brotos nas estacas de *Warburgia salutaris*, isto é, não há relação entre o aumento da concentração e o aumento do número médio de brotos, o que é explicado pelo facto de a correlação entre a concentração de AIB e o número médio de brotos ser negativa fraca ($r^2 = 0,1992$) (Fig. 6).

Tabela 3. Número médio de brotos por estaca, nos diferentes tratamentos com AIB e ANA no final de 120 dias, no experimento usado mistura do solo do Rio Incomáti e dos arredores da estufa. Nota: Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de nível de significância.

Factor	Níveis do factor	Nº total de brotos	Nº médio de brotos
ANA	0%	22	0,63±0,10 a
	0,5%	6	0,17±0,09 b
	0,75%	6	0,17±0,05 b
	1%	0	0,00±0,00 b
	0,5%	3	0,09±0,04 b
AIB	0,75%	13	0,37±0,10 c
	1%	9	0,26±0,05 d

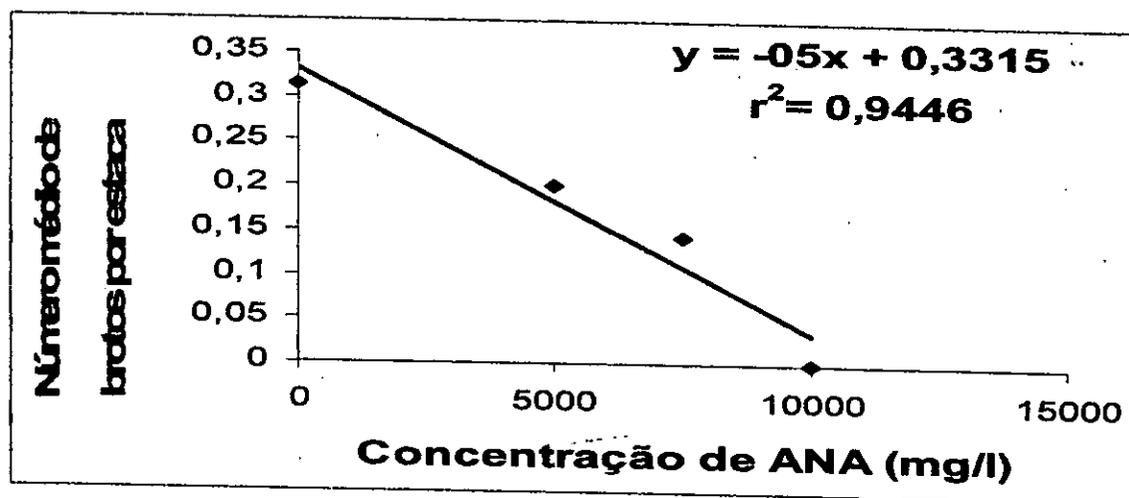


Figura 5. Relação entre o número médio de brotos formados por estaca e as concentrações de ANA no experimento usado mistura do solo do Rio Incomáti e dos arredores da estufa após 120 dias

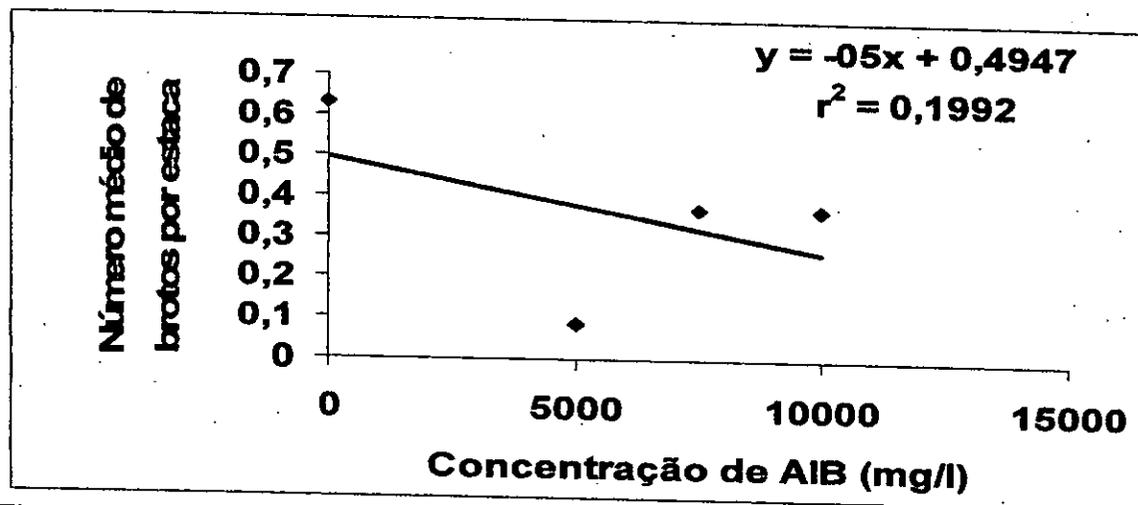


Figura 6. Relação entre o número médio de brotos formados por estaca e as concentrações de AIB no experimento usado mistura do solo do Rio Incomáti e dos arredores da estufa após 120 dias.

8. DISCUSSÃO

Efeito do AIB e ANA no enraizamento e sobrevivência das estacas

Os resultados do presente ensaio mostram que a aplicação das auxinas sintéticas ANA e AIB a 0,5%, 0,75% e 1%, empregando o substrato de enraizamento colhido no Rio Incomáti e a mistura do substrato colhido nos arredores da estufa e o colhido no Rio Incomáti não permitiu a formação de raízes, durante os 120 dias decorrentes do ensaio. A mortalidade das estacas numa forma geral foi elevada devido a não formação de raízes.

Vários factores podem provavelmente estar associados ao facto de as estacas não terem formado raízes e com isso terem apresentado baixa sobrevivência. Entre estes destacam-se: a emissão de brotos antes das raízes, a presença de folhas, concentrações intoleráveis das hormonas usadas, colheita das estacas no período próximo ao da floração da espécie, o rápido depauperamento das reservas alimentares, as baixas temperaturas no período decorrente do ensaio e o estado nutricional da planta mãe, que são discutidos a seguir.

O primeiro factor que provavelmente terá contribuído na fraca sobrevivência das estacas e na ausência de formação de raízes, foi a formação de brotos antes do início da formação de raízes (fig. 3,4,5 e 6). Segundo Hartmann *et al.* (1997), se uma estaca emitir brotos antes do seu enraizamento esta irá morrer devido a perda excessiva de água pelas folhas. A ausência de raízes se associa a incapacidade de absorção de nutrientes e água do substrato de enraizamento (Hartmann & Kester, 1965).

O segundo factor associado a incapacidade de formação de raízes e a consequente baixa sobrevivência das estacas é a presença de folhas nas estacas. Embora tenha havido diminuição do número de folhas nas estacas antes da sua colocação nos vasos, é provável que as que sobraram tenham sido suficientes para prejudicar a regeneração das estacas em plantas independentes.

Embora a presença de folhas em estacas estimule fortemente a formação de raízes, a perda de água das folhas pode possivelmente reduzir o conteúdo de água das estacas a níveis tão baixos que podem prejudicar o próprio processo de formação de raízes. Em espécies que formam rapidamente raízes, a perda de água pelas folhas pode rapidamente ser compensada, mas em espécies que formam raízes lentamente (como é o caso da *Warburgia salutaris*), a transpiração das folhas das estacas tem que ser reduzida ao mínimo (Hartmann & Kester, 1965).

A diminuição do número de folhas pode proporcionar melhores resultados, visto Segundo da Costa *et al.* (2003) a presença de dois pares de folhas em estudos com estacas semi-lenhosas de aceroleira proporcionou maior número e massa seca das raízes que em estacas que apresentavam mais do que dois pares de folhas.

O terceiro factor que pode estar associado a fraca sobrevivência e a não formação de raízes podem ter sido as concentrações das hormonas aplicadas as estacas neste ensaio que podem ter sido superiores as toleradas por esta espécie. Isto porém contraria Hartmann *et al.* (1997) que recomendam estas concentrações para espécies cujas estacas são de difícil enraizamento.

Segundo Gontijo *et al.* (2003) citando Hartmann *et al.* (1990) a aplicação de auxinas na base das estacas promove o enraizamento até uma determinada concentração, a partir da qual o efeito passa a ser inibitório. Bacarin *et al.* (1994) citados por Gontijo *et al.* (2003) constataram que a aplicação de AIB em imersão lenta, à concentração de 100 mg/L na cultivar Rica de *Psidium guajava*, proporcionou maior percentagem de enraizamento que a aplicação 200 mg/L.

Figueiredo *et al.* (1995) citados por Gontijo *et al.* (2003) observaram um efeito fitotóxico na aplicação de 2000 mg/L de AIB em estacas de goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana* Berg.), uma vez que a percentagem de enraizamento decresceu com o aumento da aplicação da auxina, o que pode estar relacionada à maior disponibilidade de auxinas endógenas. Portanto, a maior disponibilidade de auxinas nos tecidos das estacas de

Warburgia salutaris; associada à aplicação de AIB e ANA, podem ter proporcionado a anulação do enraizamento (Hartmann *et al.*, 1997).

Estes resultados contrariam a constatação de Pereira *et al.* (1991) citados por da Costa *et al.* (2003), que estudando o efeito do AIB em estacas de goiabeira Rica e Paluma, observaram a acção positiva da auxina na precocidade da iniciação radicular e no maior número de raízes e Kersten e Ibañez (1993) também citados por da Costa *et al.* (1991) que obtiveram resultados superiores na formação de raízes com a utilização de AIB em imersão rápida, em estacas de goiabeira Kumagai, quando comparadas com a não utilização desta auxina.

Mesmo que as concentrações das hormonas sejam as ideais para o enraizamento, Hartmann *et al.* (1997) recomendam o uso de combinações de hormonas e não o uso isolado das mesmas, argumentando que combinações de hormonas produzem melhores resultados.

Embora a sobrevivência das estacas tenha sido fraca em praticamente todos os tratamentos, os tratamentos com ANA foram em geral os que apresentaram menor percentagem de sobrevivência. Isto está de acordo com a hipótese de Garner e Chaudhri (1976) e Hartmann *et al.* (1997) de que ANA é menos eficiente que AIB na propagação das estacas.

O período de colheita das estacas é outro factor a levar em conta. As estacas foram colhidas na parte final do mês de Fevereiro, muito próximo do período de floração da espécie, que em Moçambique segundo Jansen e Mendes (1990) vai de Março até Maio.

Em alguns casos, as estacas obtidas em qualquer período do ano quando a planta mãe se encontra no estado vegetativo formam raízes muito bem, mas as estacas obtidas de plantas que já tinham iniciado a floração, falharam em enraizar. A base para isso é provavelmente encontrada nas auxinas, sabido que altos níveis de auxina que são favoráveis a formação de raízes adventícias em estacas caulinares, podem inibir a

formação de flores (Hartmann & Kester, 1965). Por exemplo em estacas do morango *Vaccinium atrococcum* colhidas durante o estado vegetativo, 39% enraizaram, mas quando as estacas foram obtidas de plantas no estado de floração, nenhuma estaca formou raiz (Hartmann & Kester, 1965).

A ausência de enraizamento também pode estar associada a estrutura anatômica desta espécie. Segundo Hartmann e Kester (1965) e Hartmann *et al.* (1997), a presença de uma camada contínua circular de células esclerenquimáticas entre o floema e o córtex exterior em relação ao ponto de origem de raízes adventícias constitui uma barreira para a emergência das raízes. Esta barreira é verificada apenas em plantas que dificilmente formam raízes, como é o caso da *Warburgia salutaris* ao passo que em espécies de fácil enraizamento a estrutura do caule não influencia no potencial de enraizamento.

O fracasso do enraizamento, segundo Maluleque (2005) citado por Salência (2005), pode ser também atribuído ao pequeno diâmetro das estacas. A razão do maior enraizamento de estacas com maior diâmetro deve-se ao facto estas apresentarem alto conteúdo em carboidratos apresentando por isso óptimo comportamento de crescimento nos estágios iniciais de desenvolvimento da planta.

Embora os diâmetros das estacas usados no presente trabalho sejam os recomendados por Hartmann *et al.* (1997), é provável que não os sejam para a *Warburgia salutaris*.

O pequeno diâmetro das estacas está associado a baixa quantidade de carboidratos. Assim pode ter havido um rápido depauperamento das reservas alimentares (carboidratos) antes da formação de raízes. As reservas alimentares de uma estaca caulinar são utilizadas não só para o início da produção de raízes, mas também para manter viva a estaca até se transformar numa nova planta bem estabelecida. Portanto o encorajamento para a produção de raízes de uma estaca deve ser promovido o mais cedo possível, para se evitar a degradação das reservas alimentares (Browse, 1979).

Outro factor associado ao fracasso da formação de raízes pode ter sido a idade da planta mãe. A facilidade com a qual as raízes se formam, usando estacas colhidas de plantas de um ano de idade, normalmente decresce com aumento da idade (Hartmann & Kester, 1965).

Segundo Hartmann e Kester (1965), pouco se sabe do motivo do efeito do estado juvenil no processo de enraizamento. Para os mesmos autores é provável que a diferença entre o estado maturo e o juvenil das estacas na sua habilidade de formar raízes reside nas diferenças nos factores bioquímicos relativamente as diferenças na estrutura anatómica.

Geralmente, a estrutura interna do caule das plantas na fase juvenil é muito similar a dos caules das plantas na fase madura, porém as condições bioquímicas favoráveis a formação de raízes dentro das estacas juvenis provavelmente desaparecem com o aumento da idade (Hartmann & Kester, 1965).

Outro factor que provavelmente terá influenciado negativamente na sobrevivência e na formação de raízes nas estacas é a temperatura. O ensaio decorreu no período corresponde a estação fria em Moçambique e segundo Browse (1979), as raízes que se desenvolvem com muita dificuldade sobrevivem melhor em temperaturas mais elevadas. Além disso, Zschocke *et al.* (2000) referem que a *Warburgia salutaris* é uma espécie sensível ao frio.

Outro factor que pode ter estado na origem da fraca sobrevivência bem como na ausência de formação de raízes é o fraco estado nutricional da planta mãe. Há evidência considerável de que a nutrição da planta mãe exerce uma forte influência no desenvolvimento de raízes e folhas das estacas colhidas da planta. Quando a planta mãe cresce sob deficiências em cálcio, fósforo, potássio, magnésio, a formação de raízes nas estacas colhidas dela é pobre em relação àquelas colhidas de plantas crescendo sob ambientes ricos em nutrientes (Hartmann & Kester, 1965).

Os substratos de enraizamento usados no ensaio também devem ser levados em conta. No presente ensaio foi usado solo simples, sem adição de qualquer espécie de fertilizante.

Segundo Hartmann & Kester (1965), quando usadas sozinhas, partículas finas ou grossas de areia não dão bons resultados com as estacas da maioria das madeiras. Segundo os mesmos autores pode-se usar a vermiculite, visto que a mistura de partes iguais de vermiculite e areia algumas vezes dão resultados satisfatórios que quando estes materiais são usados de forma separada.

Um outro factor a mencionar que terá influenciado negativamente nos resultados do presente ensaio é o tipo de vaso usado. As aberturas para a drenagem da água dos vasos deixavam escapar muito solo no momento da rega. O facto de os solos usados serem essencialmente arenosos, contribuía ainda mais para a sua perda no momento da rega. Esta perda conduzia a um rápido esgotamento de água nos vasos.

Segundo Free (1957), o solo tem de acomodar a estaca durante o período de enraizamento. A perda de solo no momento da rega dava origem a exposição das estacas e obrigava a constante reposição com novo solo, com o que as estacas tinham naturalmente de estabelecer novas relações tendentes a formação de raízes.

Efeito do AIB e ANA no número de brotos formados

No final do ensaio, embora alguns tratamentos tenham apresentado maior média de brotos formados por estaca que outros, os valores não passaram de 1 unidade em todos os tratamentos, o que indica que as concentrações usadas não são as indicadas para que se tenha suficiente número de brotos que se transformarão em folhas e que garantirão a actividade fotossintética nas novas plantas (Tabelas 2 e 3).

Duma forma geral nota-se a partir dos gráficos da relação entre a concentração das hormonas e o número médio de brotos que o aumento da concentração das hormonas não

causa aumento do número de brotos. Em geral quanto menor fosse a concentração das hormonas maior era a média do número de brotos formados por estaca (fig. 2,3, 4, 5 e 6).

Este facto está de acordo com Hartmann *et al.* (1990) citados por da Costa *et al.* (2003) que afirmam que as hormonas passam a ter um efeito inibitório a partir duma determinada concentração. É provável que as concentrações das hormonas usadas neste trabalho tenha sido altas o suficiente para impedirem a formação tanto de raízes quanto de brotos.

Excepção verificou-se na correlação entre as concentrações de AIB e o número médio de brotos no experimento usado mistura de solos (fig.6), onde as concentrações mais altas apresentam maior número de brotos. Isto pode ter acontecido como indicação de que a hipótese da maior eficiência de AIB na propagação de estacas segundo Hartmann *et al.* (1997). De salientar ainda que em nenhum dos casos o tratamento com ANA apresentou maior número de brotos formados relativamente os tratamentos com AIB, o que também reforça a anterior hipótese.

O fracasso das estacas em formar raízes pode ter contribuído para o baixo número de brotos formados visto ser do solo que a planta obtém nutrientes para vários processos incluindo a formação de brotos em si.

Outro factor associado ao fracasso na formação de brotos pode ter sido o esgotamento precoce das reservas alimentares das estacas. As reservas alimentares de uma estaca segundo Browse (1979), são utilizados não só para o início da produção de raízes, mas também para manter a estaca até se transformar numa nova planta bem estabelecida. O estabelecimento da nova planta em si está dependente da formação de brotos que se devem transformar em folhas para que se garanta a actividade fotossintética.

No experimento usado mistura de solos, o tratamento que mostrou diferenças no número médio de brotos em relação aos restantes foi o tratamento com AIB a 0,5% (Tukey a nível de significância de 5%), que apresentou maior média (Tabela 2 e anexo3). No

segundo experimento, os tratamentos com AIB nas concentrações mais baixas apresentaram valores do número médio de brotos também superiores que os tratamentos com ANA. Estes resultados reforçam o facto de que menores concentrações podem ser melhores no processo de formação de brotos e que o AIB é melhor que o ANA na propagação vegetativa por estacas, segundo a hipótese de Garner e Chaudhri (1976) e Hartmann *et al.* (1997).

Outro factor associado ao baixo nível de formação de brotos pode ter sido o facto de o ensaio ter decorrido na época em que os períodos de escuridão diários eram superiores aos de luz. Segundo Duryea e Landis (1984) e Hartmann e Kester (1965) períodos de escuridão diária de menos de 10 horas estimulam a elongação e formação activa dos rebentos, ao passo que períodos de escuridão diária superiores a 14 horas estimulam a dormência.

O teste estatístico envolvendo a interacção de ambos substratos de enraizamento mostrou que o tratamento com AIB a 5% no experimento usado somente solo do Rio Incomáti se destacou com uma média de brotos diferente dos restantes tratamentos (anexo 4), porém a sobrevivência no final foi de 0% (fig. 1). Isto está de acordo com a hipótese já referida de Hartmann *et al.* (1997), que refere que se uma estaca emitir brotos antes do seu enraizamento esta irá morrer devido a perda excessiva de água.

9. CONCLUSÕES

Os resultados do presente ensaio permitiram concluir o seguinte:

- As diferentes concentrações de AIB e ANA usados não proporcionaram a formação de raízes nas estacas caulinares da *Warburgia salutaris*.
- Ainda que o número fosse baixo, o AIB e ANA proporcionaram a formação de brotos.
- Embora tanto a sobrevivência, como a formação de brotos tenham sido baixos, em geral notou-se maior percentagem de sobrevivência e maior número médio de brotos formados nos tratamentos com AIB em ambos tratamentos, o que está de acordo com a hipótese da maior eficiência de AIB em relação a ANA.
- O tratamento com AIB a 5% no segundo experimento, proporcionou maior número de brotos em relação aos restantes tratamentos.
- A maior percentagem de sobrevivência verificou-se no experimento usado unicamente solo do Rio Incomáti (primeiro experimento).
- O baixo número de brotos formados, a ausência de formação de raízes e a baixa sobrevivência, permitem concluir que a presente espécie é de difícil propagação pelo método aqui apresentado.

10. RECOMENDAÇÕES

- Recomenda-se que a propagação seja feita na época quente, devido a influência da temperatura na propagação vegetativa da espécie.
- Recomenda-se o uso de estacas provenientes de plantas mães juvenís.
- Reduzir ainda mais o número de folhas presente nas estacas a usar na propagação, para que se reduza ao máximo a perda de água por transpiração.
- Reduzir as concentrações das auxinas usadas.
- Sugere-se que as estacas sejam colhidas antes do período de floração.
- Aconselha-se o aumento do período do ensaio para mais de 120 dias, para se avaliar o efeito do tempo no enraizamento da espécie.
- Recomenda-se que se use combinações de hormonas em vez do seu uso isolado.
- Sugere-se que se aumente o diâmetro das estacas.
- Recomenda-se que se misture o solo com vermiculite.

11. LIMITAÇÕES

- Não foi possível medir a humidade relativa e a temperatura na Estufa de propagação.
- Não foi possível saber-se a idade da planta mãe da qual colheu-se as estacas usadas no ensaio.
- Não foi possível encontrar estudos similares com esta espécie para que se fizesse melhores comparações.
- Não foi possível fazer-se a análise de composição do solo do Rio Incomáti.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baker, F.W.G. (1992). Rapid Propagation of East-growing Woody Species. 125pp. Wallingford, C.A.B. International.
- Berquó, E.S., J.M.P. de Sousa, S.L.D. Gotlieb (1981). Biostatística. 350pp. São Paulo, Editora Pedagógica e Universitária.
- Brooks, C.J.W., G.H. Draffan (1969a). Sesquiterpenoids of Warburgia species-I: warburgin and warburgiadione. *Revista Pergamon Press*. 25: 2865-2885.
- Brooks, C. J. W., G. H. Draffan (1969b) Sesquiterpenoids of Warburgia species-II: ugandensolide and ugandensidial (cinnamodial). *Revista Pergamon Press*. 25:2887- 2898.
- Browse, P. M. (1979). A Propagação das Plantas: Sementes, Raízes, Bolbos e Rizomas, Mergulhia, Estacas de Madeira e Foliares, Enxertia de Borbulhia e de Cavalo e Garfo. 2ª edição, 228pp. Portugal, Publicações Europa-América.
- Carr, D.J. (1972). Plant Growth substances 1970. 837pp. New York, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- da Costa, W.H. jr, J. A. S. Filho, D. C. Bastos (2003). Estiolamento da planta matriz e uso de ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de goiabeiras. *Revista Brasil. Frutic.* 2 (25):301-304.
- Duryea, M.L., T.D. Landis (1984). Forest Nursery Manual, Production of Bareroot Seedlings. 385pp. Boston, Junk Publishers.

- Fato, P.(1995). Plantas Medicinais na Cidade de Maputo: sua aplicação, proveniência e comercialização. Trabalho de Licenciatura.66pp. Maputo, Universidade Eduardo Mondlane.
- Free, M. (1957). Plant propagation in pictures. 249pp. London, Museum Press.
- Garner, R.J., S.A. Chaudhri (1976). The Propagation of Tropical Fruit Trees. 566pp. England, Commonwealth Agricultural Bureaux.
- Golding, J. (2002). Southern African Plant Red Data Lists. 237pp. Pretoria, SABONET.
- Gomane, S.T. (2005). Efeito da inoculação por Fungos Endomicorrízicos (visículo-arbusculares) na Propagação Vegetativa da *Vangueira infausta*, *Securidaca longipedunculata* e *Warburgia salutaris*.Tese de Licenciatura.38 pp. Maputo, Universidade Eduardo Mondlane.
- Gontijo, T.C.A., J. D. Ramos, V. Mendonça, R. Pio, S. E. A. Neto, F. L. O. Corrêa (2003). Enraizamento de Diferentes Tipos de Estacas de Aceroleira Utilizando Ácido Indolbutírico. Revista *Brasil Frutic*. 2(25):290-292.
- Hartmann, H. T, D.E Kester (1965). Plant Propagation, Principles and Practices. 559pp. United States of America, PRENTICE-HALL, INC.
- Hartmann, H. T, D. E Kester, F. T Davies, R.L. Geneve (1997). Plant Propagation: Principles and Practices. 6th edition, 770pp. New Jersey, Prentice-Hall Inc.
- Jansen, P.C.M., O. Mendes (1990). Plantas Medicinais, seu Uso Tradicional em Moçambique. 302pp. Maputo, Imprensa do Partido.

- Katan, J., J.E. DeVay (1991). Soil Solarization. 267pp. EUA, CRC Press Inc.
- Kioy, D., A.I. Gray, P.G. Waterman (1990). A comparative study of the stem-bark drimane sesquiterpenes and leaf volatile oils of *Warburgia ugandensis* and *W. stuhlmannii*. *Revista Pergamon Press*. 29: 3535-3538.
- Lewis, C.C. (1965). The Green House. 222pp. Oxford, Pergamon Press.
- Manguroa, L.O.A., I. Ugib, P. Lemmenb, R. Hermannb (2003a). Flavonol glycosides of *Warburgia ugandensis* leaves. *Revista Elsevier*. 64: 891-896.
- Manguroa, L.O.A, I. Ugib, R. Hermannb, P. Lemmenb, R. Hermannb (2003b) Flavonol and drimane-type sesquiterpene glycosides of *Warburgia stuhlmannii* leaves. *Revista Elsevier*. 63:497-502.
- Mashimbye, M.J., M. C. Maumela, S.E. Drewes (1999). A drimane sesquiterpenoid lactone from *Warburgia salutaris*. *Elsevier*. 51:435-438.
- Metting, F.B. Jr. (1992). Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management. 646pp. New York, Marcel Dekker Inc.
- Palgrave, K. C. (1981). Trees of Southern Africa. 2nd edition, 959pp. Cape Town, Tien Wah Press (Pte) Ltd.
- Pereira, A. (2003). SPSS, Guia Prático de Utilização, Análise de Dados para Ciências Sociais e Psicologia. 4^a edição, 205pp. Lisboa, Edições Sílabo.
- Pooley, E. (1993). The Complete Field Guide to Trees of Natal Zululand and Transkei. 512pp. Durban, Natal Flora Publications Trust.

- Quilambo, O.A. (2000). Functioning of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Under Nutriente Deficiency and Drought Stress in Relation to Symbiotic Associations. PhD Thesis. 168pp. Groningen, Van Denderen B.V.
- Rabe, T, J. van Staden (2000) Isolation of an antibacterial sesquiterpenoid from *Warburgia salutaris*. *Revista Elsevier*. 73:171-174.
- Raven, P.H., R.F. Evert, S.E. Eichhorn (2001). Biologia Vegetal. 6ª edição, 906pp. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- Salência, H.R. (2005). Indução da radiciação e avaliação do potencial de propagação vegetativa em estacas semi-lenhosas de *Litchi chinensis* (Litch) e *Azelia quanzensis* (Chanfuta). 38pp, Tese de Licenciatura, Maputo, Universidade Eduardo Mondlane.
- Salim, A.S., A.J. Simons, C. Orwa, Cheque J., Owuor B., Mutua A. (2002). A Tree Species Reference and Selection Guide. *Revista Agroforestry Database*. 2: 1-3.
- Salisbury, F.B., C. Ross (1969). Plant Physiology. 747pp. Califórnia, Wadsworth Publishing Company, Inc.
- Spiegel M.R., J. Schiller, R.A. Srinivasan (2004). Probabilidade e Estatística. 2ª edição, 398pp. Rio de Janeiro, Editora Bookman.
- van Wyk, P. V. (1994). Field Guide to the Trees of the Kruger National Park. 272pp. Cape Town, Struik Publishers.
- van Wyk, B., B.V. Oudtshoorn, N. Gericke (1997). Medicinal Plants of South Africa. 304pp. Pretoria, Briza Publications.

- van Wyk, B., N. Gericke (2000). People's Plants: A Guide to Useful Plants of South Africa. 351pp. Pretoria, Briza Publications.

- Wube, A.A., F. Bucar, S. Gibbons, K. Asres (2005) Sesquiterpenes from *Warburgia ugandensis* and their antimycobacterial activity. *Revista Elsevier*. 66:2309- 2315.

- Zschocke, S, T. Rabe, J.L.S. Taylor, A.K. Jager, J. van Staden (2000). Plant part substitution – a way to conserve endangered medicinal plants? *Revista Elsevier*. 71:281-292.

Efeito de diferentes concentrações do Ácido Naftaleno-Acético e Ácido 3-Indol-Butírico na formação de raízes adventícias em estacas caulinares da *Warburgia salutaris* (Bertol. f.) Chiov. ("Chibaha")

ANEXOS

Anexo 1. Descrição da espécie

Família: Canellaceae

Nome vernacular: Chibaha

Espécie: *Warburgia salutaris* (Bertol. f.) Chiov.

É uma planta arbórea esbelta, geralmente com 5 a 10 metros de altura, embora em algumas áreas atinja 20 metros (Palgrave, 1981).

Descrição botânica

As folhas são simples, alternas, pecioladas, coriáceas, glabras, com pontas perlúcidas; pecíolo 2-5 mm de comprimento; limbo oblanceolado até oblongo ou elíptico, até 10 x 2 cm, base acunhada, margem inteira, às vezes ligeiramente involuta, ápice agudo. As flores são axilares, solitárias ou cimeiras de 2-3; pedicelo até 1,5 mm de comprimento; sépalas em número de 3, suborbiculares, 2 x 3 mm, finamente ciliadas; corola em 2 verticílios de 5 pétalas; pétalas do verticílio externo obovadas, 4-5 x 3 mm; os estames são 10, formando um tubo de 3-4 mm de comprimento. O fruto é uma baga, sub globoso até ovóide, com diâmetro até 2,5 cm, com pericarpo coriáceo, enrugado, perpúreo-azul, escuro e com várias sementes (Jansen e Mendes, 1990).

Anexo 2. Teste estatístico para o experimento usado unicamente solo do Rio Incomati (primeiro experimento).

STATISTIX FOR WINDOWS

TUKEY (HSD) COMPARISON OF MEANS
HOMOGENEOUS GROUPS

VARIABLE	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
B1	14.000	I
N2	4.0000	.. I
B2	3.2500	.. I
N1	3.0000	.. I
B3	1.5000	.. I
C	1.5000	.. I
N3	0.0000	.. I

THERE ARE 2 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

CRITICAL Q VALUE	4.597	REJECTION LEVEL	0.050
CRITICAL VALUE FOR COMPARISON	7.9427		
STANDARD ERROR FOR COMPARISON	2.4434		

STATISTIX FOR WINDOWS

ONE-WAY AOV FOR: B1 B2 B3 C N1 N2 N3

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
BETWEEN	6	519.929	86.6548	7.26	0.0003
WITHIN	21	250.750	11.9405		
TOTAL	27	770.679			

AT LEAST ONE GROUP VARIANCE IS NEAR ZERO; VARIANCE-EQUALITY TESTS CANNOT BE COMPUTED.

COMPONENT OF VARIANCE FOR BETWEEN GROUPS	18.6786
EFFECTIVE CELL SIZE	4.0

VARIABLE	MEAN	SAMPLE SIZE	GROUP STD DEV
B1	14.000	4	8.6023
B2	3.2500	4	0.9574
B3	1.5000	4	1.2910
C	1.5000	4	1.0000
N1	3.0000	4	1.6330
N2	4.0000	4	1.8257
N3	0.0000	4	0.0000
TOTAL	3.8929	28	3.4555

CASES INCLUDED 28 MISSING CASES 0

Anexo 3. Teste estatístico para o experimento usado mistura do solo do Rio Incomati e dos arredores da estufa (segundo experimento).

STATISTIX FOR WINDOWS

TUKEY (HSD) COMPARISON OF MEANS

VARIABLE	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
C	10.000	I
B2	7.2500	I I
B3	4.7500	.. I I
N2	2.0000 I
N1	1.5000 I
B1	0.7500 I
N3	0.0000 I

THERE ARE 3 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

CRITICAL Q VALUE	4.597	REJECTION LEVEL	0.050
CRITICAL VALUE FOR COMPARISON	5.1459		
STANDARD ERROR FOR COMPARISON	1.5830		

STATISTIX FOR WINDOWS

ONE-WAY AOV FOR: B1 B2 B3 C N1 N2 N3

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
BETWEEN	6	334.000	55.6667	11.11	0.0000
WITHIN	21	105.250	5.01190		
TOTAL	27	439.250			

AT LEAST ONE GROUP VARIANCE IS NEAR ZERO; VARIANCE-EQUALITY TESTS CANNOT BE COMPUTED.

COMPONENT OF VARIANCE FOR BETWEEN GROUPS	12.6637
EFFECTIVE CELL SIZE	4.0

VARIABLE	MEAN	SAMPLE SIZE	GROUP STD DEV
B1	0.7500	4	1.5000
B2	7.2500	4	1.5000
B3	4.7500	4	0.9574
C	10.000	4	4.0825
N1	1.5000	4	3.0000
N2	2.0000	4	2.0000
N3	0.0000	4	0.0000
TOTAL	3.7500	28	2.2387

CASES INCLUDED 28 MISSING CASES 0

Anexo 4. Teste estatístico envolvendo interação entre os dois experimentos (1 e 2).

STATISTIX FOR WINDOWS

TUKEY (HSD) COMPARISON OF MEANS

VARIABLE	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
B1	14.000	I
C1	10.000	I I
B21	7.2500	I I I
B31	4.7500	.. I I
N2	4.0000	.. I I
B2	3.2500	.. I I
N1	3.0000	.. I I
N21	2.0000 I
B3	1.5000 I
C	1.5000 I
N11	1.5000 I
B11	0.7500 I
N3	0.0000 I
N31	0.0000 I

THERE ARE 3 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

CRITICAL Q VALUE	5.027	REJECTION LEVEL	0.050
CRITICAL VALUE FOR COMPARISON	7.3171		
STANDARD ERROR FOR COMPARISON	2.0587		

Continuação do anexo 4.

STATISTIX FOR WINDOWS

ONE-WAY AOV FOR: B1 B11 B2 B21 B3 B31 C C1 N1 N11 N2 N21 N3 N31

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
BETWEEN	13	854.214	65.7088	7.75	0.0000
WITHIN	42	356.000	8.47619		
TOTAL	55	1210.21			

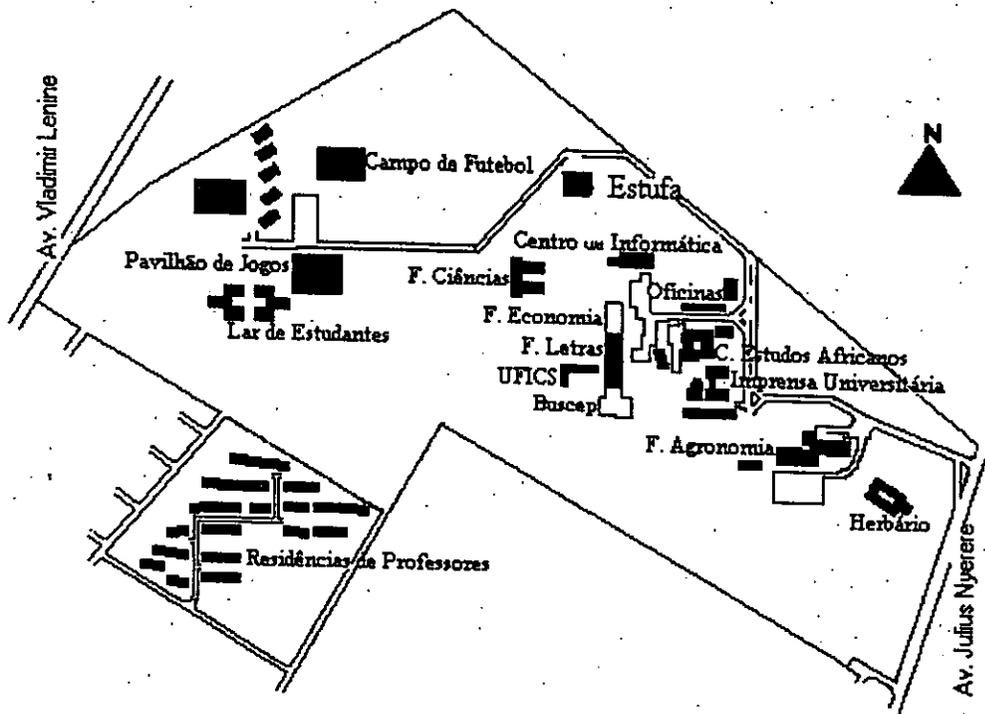
AT LEAST ONE GROUP VARIANCE IS NEAR ZERO;
VARIANCE-EQUALITY TESTS CANNOT BE COMPUTED.

COMPONENT OF VARIANCE FOR BETWEEN GROUPS 14.3082
EFFECTIVE CELL SIZE 4.0

VARIABLE	MEAN	SAMPLE SIZE	GROUP STD DEV
B1	14.0000	4	8.6023
B11	0.7500	4	1.5000
B2	3.2500	4	0.9574
B21	7.2500	4	1.5000
B3	1.5000	4	1.2910
B31	4.7500	4	0.9574
C	1.5000	4	1.0000
C1	10.0000	4	4.0825
N1	3.0000	4	1.6330
N11	1.5000	4	3.0000
N2	4.0000	4	1.8257
N21	2.0000	4	2.0000
N3	0.0000	4	0.0000
N31	0.0000	4	0.0000
TOTAL	3.8214	56	2.9114

CASES INCLUDED 56 MISSING CASES 0

Anexo 5: Localização geográfica da estufa de propagação (Adaptado de <http://www.uem.mz>, acessado em Maio de 2006).



Anexo 6: Disposição dos vasos no ensaio

