

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE
CANAFÍSTULA (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.),
MICROPROPAGAÇÃO E PRODUÇÃO DE MUDAS
MICORRIZADAS NO MATO GROSSO DO SUL.

DANIELLA ARAI ZANETTA BASSAN

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL

2019

**DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE
CANAFÍSTULA (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.),
MICROPROPAGAÇÃO E PRODUÇÃO DE MUDAS
MICORRIZADAS NO MATO GROSSO DO SUL.**

DANIELLA ARAI ZANETTA BASSAN

Engenheira Agrônoma

Orientadora: Prof^a. Dr^a. SILVIA CORREA SANTOS

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. LIVIA MARIA CHAMMA DAVIDE

Tese apresentada a Universidade
Federal da Grande Dourados, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Agronomia –
Produção Vegetal, para a obtenção do
título de Doutor.

Dourados
Mato Grosso do Sul
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

B317d Bassan, Daniella Arai Zanetta

Diversidade genética em populações de canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.), micropropagação e produção de mudas micorrizadas no Mato Grosso do Sul. [recurso eletrônico] / Daniella Arai Zanetta Bassan. -- 2020.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Silvia Correa Santos.

Coorientadora: Livia Maria Chamma Davide.

Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. procedências. 2. características dendrométricas. 3. teste de progênes. 4. agrupamento. I. Santos, Silvia Correa. II. Davide, Livia Maria Chamma. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

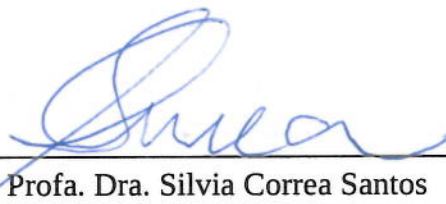
"Diversidade genética em populações de canafístula (Peltophorum dubium (Sprengel) Taub), micropropagação e inoculação micorrízica na produção de mudas no Mato Grosso do Sul"

por

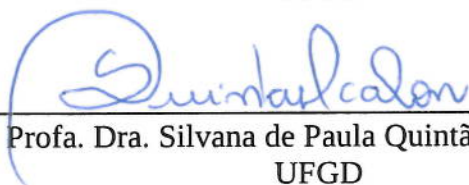
DANIELLA ARAI ZANETTA BASSAN

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTORA EM AGRONOMIA

Aprovada em: 13/12/2019.



Prof. Dra. Silvia Correa Santos
UFGD



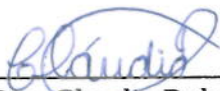
Prof. Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon
UFGD



Prof. Dr. Marco Aurélio Carneiro
IMASUL



Prof. Dr. Elias Silva de Medeiros
EMBRAPA – CPAO



Prof. Dra. Claudia Roberta Damiani
UFGD

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	v
GERAL ABSTRACT.....	vi
INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Silvicultura no Brasil.....	4
2.2. Canafístula: aspectos botânicos e econômicos.....	5
2.3. Diversidade Genética e Conservação de Germoplasma	8
2.4. Produção de Mudanças e Micropropagação	10
2.5. Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	13
3. OBJETIVOS GERAIS.....	16
4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
CAPÍTULO I. Diversidade genética em populações de canafístula (<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.), micropropagação e produção de mudas micorrizadas no Mato Grosso do Sul.....	24
RESUMO.....	26
ABSTRACT.....	27
1. INTRODUÇÃO.....	28
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4. CONCLUSÕES.....	49
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
CAPÍTULO II. Propagação <i>in vitro</i> da canafístula (<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.).....	54
RESUMO.....	55
ABSTRACT.....	56
1. INTRODUÇÃO.....	57
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	60
2.1. Estabelecimento <i>in vitro</i>	60
2.2. Multiplicação e enraizamento <i>in vitro</i>	61
2.2.1. Multiplicação <i>in vitro</i>	62
2.2.2. Enraizamento <i>in vitro</i>	62

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
3.1. Estabelecimento <i>in vitro</i>	64
3.2. Multiplicação <i>in vitro</i>	70
3.3. Enraizamento <i>in vitro</i>	75
4. CONCLUSÕES.....	77
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
CAPÍTULO III. Produção de mudas de canafístula (<i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub.) com fungos micorrízicos e fósforo.....	82
RESUMO.....	83
ABSTRACT.....	84
1. INTRODUÇÃO.....	85
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	87
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
4. CONCLUSÕES.....	109
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	115

Aos sempre amados Bruno, João e Onofre...

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e por todas as oportunidades.

À minha família pelo incentivo e paciência durante este período.

Ao programa de pós-graduação da UFGD.

À prof. Dr^a. Silvia Correa Santos pela orientação, amizade e carinho.

À prof. Dr^a. Livia Maria Chamma Davide pela orientação, apoio e incentivo.

À prof. Dr^a. Cláudia Roberta Damiani pelo acolhimento, generosidade e contribuição.

Ao prof. Dr. Elias Medeiros pelo auxílio imprescindível com as análises estatísticas.

Aos membros da banca examinadora pelas valiosas contribuições.

Aos colegas Luiz Guilherme, Maílson, Viviane, Gilmar, Fabrícia, Rafael, Jéssica e demais que, de alguma maneira contribuíram na elaboração deste trabalho.

Diversidade genética em populações de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.), micropropagação e produção de mudas micorrizadas em Mato Grosso do Sul

RESUMO GERAL

O Brasil configura dentre os países de megabiodiversidade, no entanto, atualmente os biomas Mata Atlântica e Cerrado, se encontram na lista dos “Hotspots” de biodiversidade, tornando evidente a necessidade de conservação e melhoramento dos recursos genéticos naturais. Estudos regionalizados para ampliar a base de espécies nativas e genótipos potenciais buscam maior conhecimento de espécies nativas de crescimento rápido e alta produtividade de madeira, como é o caso da canafístula. Para pesquisa sobre a diversidade genética da canafístula foi instalado em Dourados-MS, um teste de progênies e procedências de 64 genótipos de três regiões de MS e da microrregião de Lavras-MG. Os resultados mostraram a existência de variabilidade genética entre e dentro das populações para as características dendrométricas e agruparam as progênies em 03 grupos em função da divergência genética. Foram realizados também, experimentos de micropropagação *in vitro* para a espécie. Foram testados o tipo de explante e tempo de desinfestação para estabelecimento *in vitro*; concentrações de Zeatina (ZEA) 0; 2,5 e 5,0 mg L⁻¹ na fase de multiplicação de segmentos apicais e concentrações de ácido indolbutírico (AIB): 0; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹ para enraizamento dos segmentos nodais caulinares. No estabelecimento *in vitro* verificou-se superioridade de ápices caulinares sobre segmentos nodais, com alta porcentagem de estabelecimento sem influência do tempo de desinfestação. As concentrações de zeatina testadas não foram eficientes na multiplicação *in vitro* de canafístula. Não foi possível estabelecer um protocolo para multiplicação e rizogênese, sugerindo possível recalcitrância (formação de calos) da espécie. Efeitos da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora albida*, *Clareoideoglomus etunicatum* e controle sem FMA) e doses de fósforo (0, 60, 120, 180 e 240 mg kg⁻¹) na produção de mudas de canafístula, também foram objeto de estudo e constatou-se que *G. albida* e *C. etunicatum* foram os fungos mais promissores para o crescimento e desenvolvimento de mudas de canafístula e que o excesso de P foi prejudicial à micorrização.

PALAVRAS-CHAVE: divergência genética, progênies, cultura de tecidos, fungos micorrízicos arbusculares, doses de fósforo.

**Genetic diversity in canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.)
populations, micropropagation and mycorrhized seedling production in Mato
Grosso do Sul**

GERAL ABSTRACT

Brazil is among the megabiodiversity countries, however, currently the Brazilian biomes, Atlantic Forest and Cerrado, are on the list of biodiversity hotspots, making evident the need for conservation and improvement of natural genetic resources. Regionalized studies to broaden the base of native species and potential genetic materials seek greater knowledge of fast-growing native species and high wood productivity; as is the case with canafistula. For research on the genetic diversity of canafistula was installed in Dourados-MS, a progeny and provenances test of 64 genotypes from three regions of MS and the Lavras-MG microregion. The results showed the existence of genetic variability between and within populations for the dendrometric characteristics and grouped the progenies in 03 groups due to genetic divergence. *In vitro* micropropagation experiments were also performed with the species. Explant type and disinfection time for *in vitro* establishment were tested; concentrations of Zeatina (ZEA) 0; 2.5 and 5.0 mg L⁻¹ in the multiplication phase of apical segments and indolbutyric acid (IBA) concentrations: 0; 0.5 and 1.0 mg L⁻¹ for rooting of the nodal segments. *In vitro* establishment, superiority was verified of stem apex over nodal segments, with high establishment percentage without influence of the disinfection time. The zeatin concentration tested were not efficient *in vitro* multiplication of canafistula. It was not possible to establish protocol for multiplication and rhizogenesis, suggesting possible recalcitrance (callus formation) of the species. Effects of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora albida*, *Clareoideoglomus etunicatum* and control without AMF) and phosphorus doses (0, 60, 120, 180 and 240 mg kg⁻¹) on canafistula seedlings production, were also the object of study, where it was found that *G. albida* and *C. etunicatum* were the most promising fungi for the growth and development of canafistula seedlings and that excess P was detrimental to mycorrhization.

KEY-WORDS: genetic divergence, progenies, tissue culture, arbuscular mycorrhizal fungi, phosphorus doses.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil ocupa cerca da metade do continente sul americano e abrange notável diversidade climática, desde os trópicos úmidos até as zonas semi-áridas e temperadas, que contribuem para a formação de distintas zonas biogeográficas. A extensão territorial e a multiplicidade de biomas levam a uma ampla diversificação da flora, da fauna e dos microrganismos, sendo o principal país dentre aqueles de megabiodiversidade. Apresenta a mais diversa flora do mundo com número superior a 55 mil espécies descritas (22% do total mundial), bem como alguns dos ecossistemas mais ricos em número de espécies vegetais, a Amazônia, a Mata Atlântica e o Cerrado (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2019). Com área territorial de 851 milhões de hectares, somente 58% se encontra recoberto por vegetação nativa (ANUÁRIO BRASILEIRO DE SILVICULTURA, 2016), estando a rica biodiversidade do país ameaçada por atividades antrópicas, principalmente aquelas ligadas à conversão das paisagens naturais em áreas de produção agropecuária e ocupação imobiliária.

Altíssimos níveis de devastação ambiental colocaram a Mata Atlântica e o Cerrado, na lista dos “Hotspots” de biodiversidade, que são conjuntos de ecorregiões prioritárias para conservação em nível mundial (MYERS et al. 2000). De acordo com dados do Projeto Terra Class Cerrado (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2013), o Cerrado, bioma considerado o maior hotspot de biodiversidade do hemisfério Ocidental, apresenta aproximadamente 54% de sua cobertura natural, tendo sido 29,5% de sua área convertida em pastagem plantada, 8,5% em agricultura anual, 3,1% em agricultura perene, 2% silvicultura. O Bioma Mata Atlântica que cobria, originalmente, 1.300.000 km² em 17 estados do território brasileiro contém, atualmente, 29% de sua cobertura original em diferentes estágios de regeneração, dos quais apenas cerca de 7% estão bem conservados em fragmentos acima de 100 hectares (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2015).

O bioma e as florestas de maneira geral passam por processos de erosão genética devido à fragmentação e destruição do habitat (CARVALHO et al., 2009), principal causa da redução da biodiversidade (BORÉM, 2005). A derrubada das florestas para a instalação de atividade agropecuária, reflorestamento comercial, a urbanização e a industrialização, entre outros fatores, são responsáveis pelo aumento crescente de áreas degradadas e paisagens fragmentadas e, conseqüentemente, pela redução da

biodiversidade e pelo aumento do risco de extinção de espécies. A redução do tamanho das populações pode causar perda dos alelos e reduzir a heterozigosidade que juntamente com a redução da dispersão do pólen e sementes, provocada pelos efeitos da fragmentação, isola as populações, genética e demograficamente, causando a extinção local da espécie (LEAL et al., 2014). A exploração das árvores de potencial madeireiro dá-se de forma extrativista e juntamente com a degradação ambiental vêm reduzindo o número de indivíduos, uma vez que essas práticas são superiores aos esforços para a busca e manutenção da biodiversidade, levando assim à diminuição das populações e aumentando o risco de perda de material genético insubstituível (VIEIRA et al., 2011).

A conservação dos recursos genéticos, mesmo para aquelas populações que apresentam alta taxa de variabilidade genética e estão fora da lista de espécies ameaçadas de extinção é de suma importância para as futuras gerações, no que diz respeito ao melhoramento da espécie e ao aproveitamento de genes de interesse específico (FREITAS et al., 2006). Muitas espécies são pouco conhecidas, apesar de seu grande potencial (SILVA et al., 2009), necessitando de estudos básicos envolvendo a análise de sustentabilidade de sua exploração e principalmente técnicas que aumentem a viabilidade da produção de mudas (DUTRA et al., 2016).

Dentre as espécies de importância no cenário florestal brasileiro, está a canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.), planta decídua, heliófita, pertencente à família Fabaceae, subfamília Caesalpinioideae, nativa da América do Sul, de ampla ocorrência nas Florestas Estacionais Semidecíduais do Brasil nos estados da Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Paraná. A madeira é moderadamente pesada (densidade de 0,69 g/cm³) sendo utilizada na construção civil, marcenaria, tanoaria, carrocerias, dormente, serviço de torno. É também muito empregada na arborização de praças e rodovias como planta ornamental e devido à sua rusticidade e rápido crescimento, na composição de reflorestamentos mistos e recomposição de áreas degradadas (LORENZI, 2008).

A canafístula consta na lista de espécies recomendadas pelo órgão ambiental estadual de Mato Grosso do Sul para a restauração de áreas de preservação permanente e reservas legais degradadas nas regiões originais de Floresta Estacional Semidecidual do estado (IMASUL, 2016). No entanto, muito pouco se conhece sobre a diversidade genética e sistema de reprodução da espécie, aspectos fundamentais para a conservação genética e melhoramento genético (MORI et al., 2013). Ainda, de acordo com Dutra et

al. (2016), o sucesso de um projeto florestal, para fins comerciais ou conservacionistas, depende da qualidade da muda produzida.

Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade genética entre e dentro de populações no Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, assim como estabelecer protocolos de estabelecimento *in vitro*, multiplicação e enraizamento da espécie, e verificar o efeito do uso de fungos micorrízicos no desenvolvimento de mudas de canafístula na fase de viveiro.

Ainda, visando a aplicação de técnicas estatísticas adequadas para a análise das informações obtidas, os dados foram aplicados no ambiente computacional R, comumente empregado nas investigações internacionais e que começa a ganhar destaque no contexto brasileiro. A linguagem de programação limita sobremaneira o programa R, o que ocasiona dificuldades e frustrações para pesquisadores de áreas que não sejam relacionadas às Ciências da Computação, como as Ciências Agrárias. A dificuldade da interpretação da linguagem de códigos pode ser facilmente rompida, com ganhos excepcionais ao pesquisador, pois modelos mais parcimoniosos e complexos são encontrados apenas no R (CARVALHO, 2019).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A Silvicultura no Brasil

O Brasil se destaca no cenário internacional por suas extensas florestas nativas tropicais e pelo plantio de florestas homogêneas com espécies exóticas. Dos 851 milhões de hectares de sua área territorial, há um déficit de 85 milhões de hectares em Áreas de Preservação Permanente e Reserva Legal. Em contrapartida, o país contabiliza 7,7 milhões de hectares de florestas plantadas das espécies *Eucalyptus*, *Pinus* entre outras (*Araucaria angustifolia*, *Acacia mearnsii*, *Shizolobium amazonicum* e *Tectona grandis*) e detém as mais modernas tecnologias para florestas plantadas em todo mundo, destacando-se o eucalipto, em 70% destas áreas (ANUÁRIO BRASILEIRO DE SILVICULTURA, 2016; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2017).

De modo geral, estudos silviculturais no Brasil têm se voltado quase que exclusivamente para as espécies de rápido crescimento, visto a contribuição irrisória de outras espécies (não convencionais) no setor florestal brasileiro (7,2%) (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS, 2013). A disponibilidade de estudos sobre o emprego de espécies nativas para usos múltiplos é praticamente inexpressiva, sendo limitados pelo desconhecimento sobre os aspectos silviculturais e tecnológicos das espécies. Verifica-se, portanto, um verdadeiro descompasso ao se considerar que é incontestável a importância do descobrimento de matérias-primas alternativas (VIDAURRE et al., 2004).

A região central do Brasil permaneceu pouco desenvolvida em termos de silvicultura intensiva, tendo sido a produção madeireira sustentada pela exploração das florestas nativas até poucos anos. O Mato Grosso do Sul teve grande destaque no cenário florestal nacional desde 2006, ocupando o terceiro lugar em produção em volume de área de eucalipto, perdendo apenas para Minas Gerais e São Paulo (ANUÁRIO BRASILEIRO DE SILVICULTURA, 2016).

O Estado de Mato Grosso do Sul é representado por três biomas: Cerrado (savana), Pantanal (incluindo parte do Chaco) e parte da Mata Atlântica *lato sensu* (IBGE, 2014). Sua flora é considerada um mosaico vegetacional, ocasionado por influências da Floresta Amazônica ao norte, Mata Atlântica a leste, Chaco a oeste, Matas Sazonais da Bacia do Rio Paraná ao sul e Planalto Central do Cerrado ao centro

(COSTA et al., 2003). O Estado tem majoritariamente área de domínio do Cerrado (61% do território) e 18% de área de Mata Atlântica em formações de Florestas Estacionais Semidecíduais e Decíduais (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2019). Da área contabilizada, se encontram preservados 31,4% do Cerrado (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2013) e 11% da área original de Mata Atlântica cujos principais remanescentes estão concentrados em três áreas: Serra da Bodoquena, planície do Rio Paraná, próximo da divisa dos Estados de São Paulo e Paraná e, fragmentos isolados no interior das diversas áreas indígenas situadas na região sudoeste (IMASUL, 2016).

Embora os grandes plantios comerciais, constituídos essencialmente de espécies exóticas de rápido crescimento, tenham grande importância na moderação da exploração e na manutenção de espécies nativas, existe grande demanda por espécies nativas para reflorestamentos e recuperação de áreas degradadas, o que requer conhecimentos técnicos sobre a propagação e desenvolvimento das espécies com relação às variações ambientais (MARANHO et al., 2013). Freitas et al. (2015) ressaltam que o potencial produtivo das espécies florestais nativas, não pode ser equiparado às exóticas comercialmente conhecidas, mas tem significado econômico e socioambiental regional muito importante.

2.2. Canafístula: aspectos botânicos e econômicos

A espécie *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., anteriormente referida pelo basônimo *Caesalpinia dubia* Spreng. e pelas sinônimas botânicas *Cassia disperma* Vell. e *Peltophorum vogelianum* Benth., entre outras (MOBOT, 2019; PLANT LIST, 2019), está circunscrita à subfamília Caesalpinioideae e família Fabaceae. Nativa da América do Sul é conhecida no Brasil como canafístula ou angico-amarelo, tem porte médio, podendo atingir 40 m de altura; tronco com diâmetro em torno de 120 cm; folhas semidecíduas a decíduas, compostas, bipinadas e alternas de até 50 cm de comprimento por 25 cm de largura, com 16 a 21 pares de pinas, de cor verde-escura; cada pina com 24 a 30 pares de folíolos elípticos-oblongos, opostos; inflorescências em panículas terminais amarelo-vivas ou alaranjadas; fruto tipo vagem com uma a quatro sementes (Figuras 1 e 2) (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2019).

A espécie é heliófita, hermafrodita, polinizada principalmente por abelhas (CARVALHO, 2003) cuja reprodução ocorre através de cruzamentos, como na grande maioria das espécies arbóreas tropicais (SEBBENN et al., 2008).



Figura 1. Locais de ocorrência natural de canafístula no Brasil. Fonte: CARVALHO (2002).



Figura 2. *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (A) árvore; (B) folhas e flores; (C) fruto; (D) sementes; (E) casca; (F) madeira. Fonte: Adaptado de Lorenzi (2008).

A canafístula é uma espécie secundária, com características de pioneira, presente na formação das capoeiras e em florestas nativas onde, geralmente, existem poucos indivíduos, sempre de grande porte, que ocupam o dossel dominante na floresta primária, localizando-se principalmente nas clareiras e bordas das matas, devido a maior incidência da luz solar (CARVALHO, 2003). Espécie típica de estágio inicial, ou seja, presente no início da formação de uma floresta, pois tem uma grande facilidade na disseminação natural, sendo encontrada em formação de populações quase puras ou amplamente dominantes em formações secundária (BERTOLINI et al., 2015).

A espécie é recomendada para reflorestamentos mistos de áreas degradadas, paisagismo em geral, arborização de parques, praças e rodovias, propiciando ótima sombra e beleza, além de favorecer o desenvolvimento das espécies de sombra, auxiliando na formação da floresta (LORENZI, 2008). De acordo com Carvalho (2003) e Lorenzi (2008) apresenta aspectos que tornam a espécie interessante em reflorestamentos, tais como: i) rápido crescimento ($19,60 \text{ m}^3/\text{ha}/\text{ano}$) em relação a outras espécies nativas, ii) existência de germoplasmas adaptados a diferentes regiões fitogeográficas, quantidades e regimes de chuvas, tipos edafoclimáticos, temperaturas, dentre outros, iii) moderada tolerância ao déficit hídrico, a baixas temperaturas e ventos fortes, iv) possibilidade de clonagem de indivíduos superiores, v) usos em monocultivos, sistemas agroflorestais e na recuperação de áreas de preservação ambiental, vi) possibilidade de geração de produtos madeiráveis e não madeiráveis, que contribuem para a diversificação da renda do produtor rural.

Segundo Carvalho (1994) seu potencial para reflorestamento é em função de sua ocorrência natural em diversos tipos de solo, sua baixa exigência quanto à fertilidade química do solo e por possuir plasticidade adaptativa, isto é, a capacidade que um indivíduo apresenta para sobreviver e se reproduzir em condições ambientais adversas por meio de alterações morfológicas e/ou fisiológicas (GONDIN et al., 2014). É uma das espécies de interesse para a indústria madeireira, devido a seu rápido crescimento e propriedades tecnológicas compatíveis com as exigências do mercado, tal como a densidade da madeira (MODES et al., 2012). Embora, quando comparada à diversas espécies florestais nativas, apresente um crescimento relativamente rápido, são necessários estudos que visem maximizar a produção florestal da espécie, dentre eles, o melhoramento genético e o espaçamento necessário dependendo da finalidade do produto final (BERTOLINI et al., 2015).

2.3. Diversidade genética e conservação de germoplasma

O conhecimento da variabilidade genética de qualquer espécie vegetal é um passo importante para o extrativismo, conservação genética e trabalhos de melhoramento (SETOTAW et al., 2010; LIMA et al., 2011). Sendo dessa forma, necessário manejar os recursos genéticos de maneira a preservar a máxima variabilidade genética dentro das espécies, porém, sem dados sobre a distribuição dessa variabilidade dentro ou entre populações, decisões importantes sobre o manejo e conservação desses recursos não podem ser tomadas (LIMA et al., 2015).

A diversidade genética é amplamente reconhecida como componente chave para garantir a sobrevivência das espécies por um longo período, ou seja, é fundamental para a sustentabilidade, pois fornece genes para a adaptação, evolução e sobrevivência das espécies, especialmente quando as mesmas estão sob condições de alterações ambientais (RAJORA e MOSSELLER, 2001). Perturbações antrópicas têm levado à fragmentação de populações naturais de espécies florestais, gerando um risco real de erosão genética e até mesmo de extinção de espécies, especialmente nos biomas tropicais (PINTO et al., 2004).

A conservação dos recursos genéticos é uma das ações para evitar, ou pelo menos minimizar, o processo de erosão genética de espécies, podendo ser realizada *in situ* ou *ex situ* (CARVALHO et al., 2009). A conservação *in situ* é primordial para manter essas populações na natureza e preservá-las por futuras gerações, sendo, de acordo com Nascimento et al. (2015) a mais eficiente entre todas as formas de conservação de bancos de germoplasma de plantas, pois prioriza a proteção do habitat, de forma que as espécies possam continuar o seu processo de evolução e manutenção das relações intra e interespecíficas entre as populações, seus indivíduos e genes.

A conservação *ex situ* se faz necessária como ação conjunta devido ao avançado estado de degradação e fragmentação que se encontram as florestas naturais, decorrente da pressão antrópica (SEBBENN et al., 2009), tornando-se necessária a conservação do germoplasma fora do seu ambiente natural, para a garantia da sobrevivência da espécie (PINTO et al., 2004; SEGARRA-MORAGUES et al., 2005). Em espécies arbóreas, a conservação *ex situ* na forma de teste de procedências e progênies é indicada por permitir o monitoramento da variabilidade genética de caracteres relacionados ao crescimento (altura, diâmetro, volume e forma do fuste) e adaptativos (sobrevivência e frutificação) ao longo do tempo e servir como população base para programas de

melhoramento e produção de sementes para reflorestamentos ambientais (ZARUMA et al., 2015).

Os vários estudos envolvendo espécies e procedências realçam a importância das variações genéticas entre procedências dentro de uma espécie florestal, que surgem como resultado da adaptação das espécies às condições edafo-climáticas dos indivíduos. Os testes de progênies atendem várias finalidades importantes para conservação das espécies: conservar a variabilidade genética de uma população natural, principalmente as populações que apresentam mais riscos de serem extintas; viabilizar a caracterização genética da espécie, por apresentar delineamentos experimentais adequados; e formar pomares de sementes por mudas em diversos sítios, viabilizando a formação de raças locais, consequentemente aumentando a taxa de sobrevivência das espécies. Esses testes constituem-se em um plantio sistematizado, onde cada árvore mantém sua referência de origem da população e possui repetições suficientes para se estimar os parâmetros genéticos, como os coeficientes de variação genético, as herdabilidades, a acurácia e ganhos de seleção, assim sendo esse material genético é conservado e melhorado (CANUTO et al., 2015).

A combinação dos testes de procedências e progênies é uma estratégia de eficiência comprovada para seleção desses genótipos, pois permite a determinação do valor reprodutivo dos indivíduos selecionados. Esses estudos de variabilidade genética são o caminho para aumentar esses ganhos em produtividade, avaliando caracteres silviculturais de importância econômica para as espécies florestais e os de qualidade da madeira para fins específicos como, por exemplo, para a produção de energia (RESENDE, 2002).

O reflorestamento com espécies arbóreas nativas de áreas destinadas à Reserva Legal pode ser aliado ao uso de espécies geneticamente melhoradas, potencializando o uso sustentável das propriedades rurais e, consequentemente, incentivando os proprietários a recompor tais áreas (BERTONHA et al., 2016). Nos trabalhos de recomposição de áreas de reserva legal, quando da adoção de plantio de mudas, é de grande importância o estudo da variação genética de caracteres de crescimento e forma em testes de progênies, pois permite determinar a proporção da variação genética adaptativa que pode responder a alterações ambientais ou pode ser explorada em programas de melhoramento florestal (FREITAS et al., 2007).

O uso de informações fenotípicas em estudos de divergência genética é importante, pois não é oneroso e permite boa diferenciação entre os genótipos

avaliados. Assim, muitos programas de melhoramento e/ou conservação de espécies utilizam técnicas biométricas, baseadas em métodos preditivos para a análise de divergência genética, avaliando caracteres morfológicos, fisiológicos, dentre outros, que são geralmente quantificados por uma medida de dissimilaridade (CRUZ et al., 2011).

Entretanto, com um elevado número de genótipos o número de estimativas de dissimilaridade obtido é relativamente elevado, havendo a necessidade da aplicação de métodos de agrupamento desses genótipos. Dentre os métodos de agrupamento, o método de otimização de Tocher realiza a separação simultânea dos genótipos em grupos e vem sendo amplamente empregado no estudo da divergência genética entre acessos. (VASCONCELOS et al., 2007). Outro método de agrupamento muito utilizado é o Average Linkage que utiliza a média das distâncias entre todos os pares de objetos da matriz de dados para se criar a matriz de distâncias. Esse método possui facilidade e rapidez de cálculo, principalmente se comparada às outras técnicas (ALENCAR, et al., 2016).

2.4. Produção de Mudas e Micropropagação

Ao longo dos anos tem se verificado o aumento na demanda por sementes e mudas de espécies nativas, para a restauração da vegetação nativa e plantios comerciais. A dificuldade de obtenção de mudas da maioria das espécies nativas em viveiros florestais ainda é alta, devido à dificuldade de coleta de sementes, falta de tecnologia para sua produção (CALEGARI et al., 2011), irregularidade na produção anual de sementes, problemas de germinação e armazenamento, o que desestimula a produção de mudas arbóreas nativas (DUTRA et al., 2014). A propagação das espécies florestais por sementes resulta em mudas desuniformes e sujeitas à baixa qualidade em virtude da grande variação genotípica, o que pode ser prejudicial à produtividade dos plantios. No entanto, a maioria dos estudos sobre a propagação de espécies florestais nativas brasileiras, está relacionada à propagação sexuada, pela própria ausência de informações silviculturais das espécies e pelo maior domínio operacional e menores custos iniciais dessa técnica (DIAS et al., 2012).

As técnicas de propagação vegetativa se apresentam como solução para produção de mudas de qualidade e uniformes, as quais têm sido desenvolvidas com o objetivo de produzir mudas clonais, seja para a propagação de genótipos superiores (bom porte, crescimento adequado, resistência a pragas e doenças, etc.), para auxiliar

trabalhos de melhoramento genético pela redução dos ciclos de seleção ou fixação de ganhos genéticos nas diferentes etapas de cruzamentos (RAPOSO et al., 2010).

As técnicas de biotecnologia vegetal com ênfase na cultura de tecidos, constituem uma excelente via para conservação de espécies ameaçadas de extinção e para propagação de espécies de interesse econômico (PING-LUNG et al., 2010), pois contorna as condições que comprometem sua reprodução natural e promove a multiplicação em larga escala dos exemplares. Nesse sentido, os procedimentos mais usuais são: a micropropagação *in vitro*, a microenxertia, a conservação de germoplasma e a cultura de embriões, ovários ou anteras (ARAGÃO et al., 2011).

A técnica da micropropagação vem sendo empregada a diversas espécies vegetais, pois possibilita a produção de um grande número de plantas com alta qualidade, homogeneidade e em um curto espaço de tempo. Os principais fatores que influenciam o sucesso da micropropagação são origem do explante, meio nutritivo, luz e temperatura (GRIMALDI et al., 2016). A técnica de micropropagação engloba algumas etapas, que vão do estabelecimento *in vitro*, multiplicação, enraizamento e posterior aclimatização da microplanta (BASTOS et al., 2007).

O sucesso de um protocolo de micropropagação depende da fase de introdução *in vitro*, visto que as etapas seguintes de multiplicação, alongamento e posterior enraizamento, só podem ser executadas após o estabelecimento de culturas assépticas e com bom vigor vegetativo. Entretanto, as respostas variam conforme a espécie, as classes, tipos e concentração do regulador de crescimento utilizado, sendo vários fatores considerados fundamentais para produção de plantas em larga escala tais como a composição do meio nutritivo, a combinação dos reguladores de crescimento e fatores físicos (SMITH, 2013; PRUDENTE et al., 2016).

Diversos tipos de explantes podem ser utilizados para iniciar a propagação *in vitro*, devendo ser considerados na seleção dos mesmos, aspectos como o nível de diferenciação do tecido utilizado e a finalidade da micropropagação (WENDLING et al., 2006). De modo geral, a micropropagação de espécies lenhosas é mais restritiva devido ao elevado nível de diferenciação dos tecidos, comparativamente às espécies herbáceas (VILLA et al., 2009). Assim, a seleção dos explantes deve ser realizada, preferencialmente, a partir de brotações fisiologicamente ativas em estágio primário de crescimento. Os explantes coletados a partir de árvores adultas devem possuir características juvenis. De acordo com Raposo et al. (2010) a escolha do protocolo dependerá da finalidade das mudas; no caso de mudas para fins de reflorestamento,

onde a preservação da variabilidade genética é importante, sugere-se utilizar explantes oriundos de plantas obtidas por meio da germinação *in vitro* de sementes. Entretanto, quando o objetivo é a busca de um genótipo determinado, que possui características importantes, sugere-se utilizar explantes (gemas apicais) obtidos de plantas adultas.

Salles et al. (2017) ressaltam a necessidade de estabelecimento de metodologia eficiente para o uso dos produtos químicos durante a desinfestação dos explantes a serem utilizados, determinando tempo e concentração adequada para maior eficácia no controle das contaminações, com menores danos aos explantes, garantindo assim o sucesso no estabelecimento *in vitro*. O cultivo *in vitro* de espécies nativas ainda apresenta grandes desafios, principalmente relacionados à adequação dos meios de cultura, fatores físicos e reguladores de crescimento (PRUDENTE et al., 2016). Apesar dos avanços na propagação clonal, obtidos nas diferentes pesquisas, é necessário estabelecer condições ótimas para cada espécie cultivada (MANTOVANI et al., 2017).

Diversos trabalhos vêm sendo realizados visando estabelecimento de protocolos para micropropagação para espécies arbóreas nativas como por exemplo: *Campomanesia xanthocarpa* (ROSSATO et al., 2015), *Peltophorum dubium* (GOMES, 2017), *Tectona grandis* (FERMINO JUNIOR et al., 2014), *Jacaranda mimosifolia* (SARTOR et al., 2013), entre outros.

Para o sucesso na implantação, revitalização e formação de florestas com alta produção são necessários métodos e sistemas que priorizem a qualidade de mudas (CALDEIRA et al., 2012). O estabelecimento de plantios florestais, seja para fins comerciais ou restauração, depende de uma série de fatores, sendo a qualidade das mudas fundamental para o sucesso inicial. Os viveiros florestais podem atingir esse resultado por meio da utilização de genótipos adaptados ao sítio de plantio e adequadas técnicas silviculturais empregadas no cultivo (DAVIDE e FARIA, 2008).

O plantio de mudas visando à restauração florestal tem sido bastante usado nos últimos anos, sobretudo em áreas isoladas na paisagem, o que exige a necessidade de se conhecer os processos determinantes da dinâmica e da manutenção das florestas (NAVE e RODRIGUES, 2007), além de aprimorar as técnicas para produção de mudas, objetivando a facilitação do seu plantio e a redução de custos, e melhor estabelecimento das mudas nas áreas de restauração (BARBOSA et al., 2013).

A qualidade de mudas de espécies lenhosas baseia-se numa série de características morfofisiológicas que se relacionam com a sobrevivência a campo, e consequentemente com o sucesso de plantios florestais (CADORIN et al., 2015). A

etapa de produção de mudas é fase fundamental para obtenção da qualidade e uniformidade das plantas. Nessa fase, diversos fatores propiciam condições para obtenção de plantas com elevada qualidade, propiciando o sucesso no desenvolvimento a campo, tais como tipo de substrato, ambiente protegido, volume de recipiente, irrigação, adubação e manejo correto das operações de produção (COSTA et al., 2015).

Para a produção de mudas de boa qualidade deve-se adotar tecnologias ou metodologias mais eficientes e, se possível, de baixo custo independentemente da finalidade a que se destinará a muda, para composição de plantios comerciais, recuperação de áreas degradadas ou outros fins. A adoção de padrões técnicos e procedimentos adequados na composição dos substratos poderão melhorar a qualidade das mudas produzidas resultando em plantas mais uniformes, vigorosas, de maior pegamento e, portanto, mais resistentes às adversidades ambientais após o plantio (CALDEIRA et al., 2008).

2.5. Fungos Micorrízicos Arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) constituem um grupo de fungos biotróficos obrigatórios, inseridos no Filo Glomeromycota, Classe Glomeromycetes, que fazem parte da rizosfera e das raízes da maioria das plantas superiores. Os FMAs são capazes de formar associação com 95% das espécies de Briófitas, Pteridófitas, Gimnospermas e Angiospermas, com destaque para o grupo das Gimnospermas, onde 99% das espécies são micorrízicas obrigatórias. Dessa forma, pode-se dizer que, para a maioria das espécies cultivadas, a simbiose micorrízica é intrínseca (CAVALCANTE et al., 2009; SOUZA et al., 2010; BARBOSA et al., 2015).

A colonização radicular pelos FMAs resulta na ampliação da interface de conexão entre planta e solo, promovida pelo micélio formado externamente às raízes. Os principais benefícios dessa simbiose para as plantas são a ocorrência de alterações metabólicas diversas com reflexos positivos sobre seu desenvolvimento e estado nutricional (COLOZZI FILHO e NOGUEIRA, 2007), devido à maior absorção de nutrientes, particularmente os de baixa mobilidade no solo, pelo desenvolvimento de estruturas internas nas raízes e de hifas extrarradiculares que agem como extensões do sistema radicular, aumentando a área de exploração do solo em mais de cem vezes (BALOTA et al., 2011). O diâmetro das hifas varia entre 2-20 μm e o das raízes é muito superior correspondendo a valores superiores a 300 μm (SMITH et al., 2010).

Devido a estas diferenças de tamanho, as hifas proporcionam às plantas associadas à micorrizas, o acesso a poros de reduzido diâmetro, inacessíveis às raízes, fornecendo-lhes água e outros nutrientes que aí ficam retidos quando o solo seca ou fica mais compacto (SAMPAIO, 2012).

Os FMAs aumentam consideravelmente o crescimento das plantas, o que é atribuído, principalmente, à absorção de nutrientes limitados à difusão, tais como P, Zn, Cu, etc. do solo (BAGYARAJ et al., 2015). Cavalcante et al. (2009) afirmam que uma espécie vegetal pode ser colonizada por qualquer espécie de FMA, mas os efeitos da simbiose podem diferir em função da combinação solo-planta-fungo-ambiente. Fatores da planta, como idade, estado nutricional, presença de compostos fungistáticos, desfolha, pastejo, poda e aplicação de fitohormônios, também influenciam a eficiência da micorrização.

Segundo Kiriachek et al. (2009), em relação aos mecanismos que regulam a colonização micorrízica, sabe-se que a formação e o funcionamento da simbiose dependem de um complexo processo de troca de sinais entre os simbiossiontes e que a concentração de fósforo na planta e no solo é um fator determinante para seu desenvolvimento. A disponibilidade de P na planta pode afetar o balanço de açúcares, de fitormônios e a expressão de genes de defesa vegetal; sendo que em baixa concentração de P, a simbiose desenvolve-se plenamente, enquanto seu desenvolvimento é restrito em alta concentração de P. No entanto, os mecanismos pelos quais o P regula o desenvolvimento da simbiose são desconhecidos.

Genericamente, resultados de pesquisas demonstram que a absorção de nutrientes através de associações micorrízicas pode substituir o que seria absorvido pelas raízes, no entanto, é notório que a eficiência da simbiose depende da compatibilidade genética entre o genoma do fungo e da planta hospedeira para uma dada condição edafoclimática (BERUDE et al., 2015). O uso de fungos micorrízicos pode fortalecer o estabelecimento de diversas espécies florestais e agrícolas, minimizando os custos com fertilizantes e as perdas pela fragilidade de mudas, tornando o cultivo mais equilibrado (SOUZA et al, 2006).

Conforme relatado por diversos autores, entre os quais, Santos et al. (2011), a associação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pode aumentar a produtividade de viveiros e reduzir o tempo de produção de mudas, melhorando seu estado nutricional e acelerando seu crescimento, visto sua capacidade de explorar maiores volumes de substrato e favorecer a absorção de nutrientes. De acordo com

Miranda et al. (2001), os principais benefícios das micorrizas arbusculares para as mudas são aumento da capacidade das plantas de absorver nutrientes do solo, principalmente o P; melhor resposta das culturas aos diversos corretivos e adubos, principalmente fosfatados; maior crescimento e antecipação do transplântio de mudas para o campo; controle biológico de microrganismos de solo que causam doenças nas raízes de plantas; maior sobrevivência das plantas no viveiro e após o transplântio no campo e em períodos de seca.

Na simbiose entre FMAs e espécies arbóreas é necessário avaliar diferentes dosagens de P para otimizar o crescimento e a nutrição das plantas, pois a associação fungo-hospedeiro mediada por diferentes dosagens de fósforo varia com as espécies envolvidas bem como, essa interação pode aumentar ou diminuir de acordo com a disponibilidade de P no solo (SAMARÃO et al., 2011). Avaliando os efeitos da inoculação com *Glomus clarum* e teores de P (alto e baixo) sobre o crescimento inicial de seis espécies arbóreas nativas do Cerrado, Lacerda et al. (2011) verificaram que a micotrofia das espécies e suas respostas à inoculação e ao fósforo dependem de diversos fatores, tendo sido constatado diferenças das espécies nas repostas à inoculação e presença de P, sendo para a produção de mudas de *Jacaranda caroba* (caroba), *Campomanesia xanthocarpa* (gabioba), *Sterculia apetala* (chichá) e *Inga edulis* (ingá), recomendada a inoculação com *G. clarum* em conjunto com a fertilização fosfatada do solo, no entanto, para mudas de *Hymenaea courbaril* (jatobá) e *Dipteryx alata* (baru) apenas aplicação de P ao solo.

Os resultados obtidos por Brito et al. (2017) evidenciam respostas inversas entre espécies de FMAs, sobre o crescimento de mudas de *Schizolobium amazonicum* (paricá) em diferentes doses de P. Enquanto *Rhizophagus clarus* apresentou menor influência sobre o crescimento das mudas em doses intermediárias de P, essa mesma condição proporcionou melhor resposta para *Gigaspora margarita*. Por outro lado, a utilização simultânea das duas espécies de FMAs (inóculo misto) proporcionou maior crescimento das mudas, independentemente da aplicação ou não de P ao solo, em relação ao controle. Em experimento realizado por Silva et al. (2016), a simbiose de mudas de *Cecropia pachystachya* com FMAs ampliou a eficiência das plantas na absorção dos nutrientes de baixa mobilidade na solução do solo e observou-se também influência das adubações fosfatada e orgânica na colonização micorrízica radicular e esporulação, que diminuiu com o aumento nos teores de P no solo.

3. OBJETIVOS GERAIS

- Avaliar a diversidade genética em populações de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.), oriundas de Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, visando a conservação da espécie;
- Estabelecer protocolo para produção de mudas de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) através da micropropagação;
- Avaliar a influência de espécies de fungos micorrízicos arbusculares e interação com doses de fósforo na produção de mudas canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.);

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANUÁRIO BRASILEIRO DE SILVICULTURA 2016. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2016. 56 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS. Anuário estatístico 2013, ano base 2012. Brasília: ABRAF, 2013. 148 p.

ARAGÃO, A. K. O.; ALOUFA, M. A. I.; COSTA, I. do A. O efeito do BAP (6-benzilaminopurina) sobre indução de brotos em explantes de Pau-brasil. **Cerne**, Lavras, v. 17, n. 3, p. 339-345, 2011.

BAGYARAJ, D. J.; SHARMA, M. P.; MAITI, D. Phosphorus nutrition of crops through arbuscular mycorrhizal fungi. **Current Science**, Bengaluru, v. 108, p. 1288-1293, 2015.

BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; STENZEL, N. M. C. Fungos micorrízicos arbusculares em acerola e nutrição fosfatada. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 166-175, 2011.

BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S.; COSTA, M. A. P. de C.; ROCHA, M. C. da; HANSEN, D. de S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. Cultivo *in vitro* de Mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1122-1124, 2007.

BARBOSA, J. Z.; CONSALTER, R.; VEZZANI, F. M.; MOTTA, A. C. V. Bactérias e fungos benéficos na endosfera das plantas. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v.7, n. 3, p. 99-116, 2015.

BARBOSA, T. C.; RODRIGUES, R. R.; COUTO, H. T. Z. do. Tamanhos de recipientes e o uso de hidrogel no estabelecimento de mudas de espécies florestais nativas. **Hoehnea**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 537-556, 2013.

BERTOLINI, I. C.; DEBASTIANI, A. B.; BRUN, E. J. Caracterização silvicultural da canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert.). **Scientia Agraria Paranensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 14, n. 2, p. 67-76, 2015.

BERTONHA, L. J.; FREITAS, M. L. M.; CAMBUIM, J.; MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Seleção de progênies de *Myracrodruon urundeuva* baseada em caracteres fenológicos e de crescimento para reconstituição de áreas de Reserva Legal. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 44, n. 109, p. 95-104, 2016.

BERUDE, M. C. ALMEIDA, D. S.; RIVA, M. M.; CABANÊZ, P. A.; AMARAL, A. A. Micorrizas e sua importância agroecológica. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 11 n. 22; p.132-146, 2015.

BORÉM, A. **Biotecnologia e Meio Ambiente**. Viçosa, UFV, p. 51-67, 2005.

BRITO, V. N.; TELLECHEA, F. R. F.; HEITOR, L. C.; FREITAS, M. S. M.; MARTINS, M. A. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada na produção de mudas de Paricá. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 2, p. 485-497, 2017.

CADORIN, D. A.; MALAVASI, U. C.; COUTINHO, P. W. R.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, M. de M. Metil jasmonato e flexões caulinares na rustificação e crescimento inicial de mudas de *Cordia trichotoma*. **Cerne**, Lavras, v. 21, n.4, p. 657-664, 2015.

CALDEIRA, M. V. W.; BLUMB, H.; BALBINOT, R.; LOMBARDID, K. C. Uso do resíduo de algodão no substrato para produção de mudas florestais. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 6, n. 2, p. 191-202, 2008.

CALDEIRA, V. W.; GOMES, D. R.; GONÇALVES, E. de O.; DELARMELINA, W. M.; SPERANDIO, H. V.; TRAZZI, P. A. Biossólido como substrato para produção de mudas de *Toona ciliata* var. australis. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 1009-1017, 2012.

CALEGARI, L.; MARTINS, S. V.; BUSATO, L. C.; SILVA, E.; COUTINHO JUNIOR, R.; GLERIANI, J. M. Produção de mudas de espécies arbóreas nativas em viveiro via resgate de plantas jovens. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 41-50, 2011.

CANUTO, D. S. de O. **Diversidade genética em populações de *Myracrodruon urundeuva* (F. F. & M. F. Allemão) utilizando caracteres quantitativos**. 112p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP. Faculdade de Engenharia. Ilha Solteira, 2009.

CANUTO, D. S. de O.; ZARUMA, D. U. G.; MORAES, M. A. de; SILVA, A. M. de; MORAES, M. L. T. de; FREITAS, M. L. M. Caracterização genética de um teste de progênies de *Dipteryx alata* Vog. proveniente de remanescente florestal da Estação Ecológica de Paulo de Faria, SP, Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v. 42, n. 4, p. 641-648, 2015.

CARVALHO, F. J. **Modelos lineares generalizados na agronomia: Análise de dados binomiais e de contagem, zeros inflacionados e enfoque bayesiano**. 115p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2019.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. de A.; MEDEIROS, M. J. L. **Perda e Conservação dos Recursos Genéticos Vegetais**. 1ed. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2009, 19p.

CARVALHO, P. E. R. Canafístula. **Circular Técnica**, Colombo, 2002.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Brasília: EMBRAPA, Informação Tecnológica; Colombo: EMBRAPA Florestas, v. 1, 1039p., 2003.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira**. Brasília: EMBRAPA -CNPQ, 640p, 1994.

CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 5 e 6, p. 180-208, 2008-2009.

COLOZZI FILHO, A.; NOGUEIRA, M. A. Micorrizas arbusculares em plantas tropicais: café, mandioca e cana-de-açúcar. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. (Ed.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007.

COSTA, E.; DIAS, J. G.; LOPES, K. G.; BINOTTI, F. F. S.; CARDOSO, E. D. Telas de sombreamento e substratos na produção de mudas de *Dipteryx alata* Vog. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 22, n. 3, p. 416-425, 2015.

COSTA, R. B.; SALLES, A. T.; MOURA, H. H. S. Degradação de reservas florestais particulares e Desenvolvimento Sustentável em Mato Grosso do Sul. Interações: **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, Campo Grande, v. 4, n. 7, p. 41-46, 2003.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, A. L. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011, 620p.

DAVIDE, A. C.; FARIA, J. M. R. Viveiros Florestais. In: DAVIDE, A. C.; SILVA, E. A. A. (Ed.). **Produção de sementes e mudas de espécies florestais**. 1 ed., Lavras: UFLA, 2008. p 83-124.

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

DUTRA, T. R.; MASSAD, M. D.; SARMENTO, M. F. Q.; MATOS, P. S.; OLIVEIRA, J. C. Fertilizante de liberação lenta no crescimento e qualidade de mudas de Canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.). **Floresta**, Curitiba, v. 46, n. 4, p. 491-498, 2016.

DUTRA, T. R.; SANTANA, R. C.; MASSAD, M. D.; TITON, M. Tecnologia para produção de mudas de Copaifera langsdorffii Desf. por meio de miniestaquia seminal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife. v. 9, n. 1, p. 91-96, 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Espécies arbóreas brasileiras** <http://www.cnpf..EMBRAPA.br/pesquisa/efb/index_especies.htm> Acesso em: 08/07/2019.

FREITAS, M. L. M.; AGUIAR, A. V.; SPOLADORE, J.; SOUSA, V. A.; SEBBENN, A.M. Produção de sementes de espécies florestais nativas: estratégias de melhoramento. In: PINA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; SILVA, A. **Sementes florestais tropicais: da ecologia a produção**, Londrina: ABRATES, p.128-15, 2015.

FREITAS, M. L. M.; AUKAR, A. P. A.; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. L. T.; LEMOS, E. G. M. Genetic variation in progenies of *Myracrodruon urundeuva* F. F. e

M. F. Allemao in three cultivation systems. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 319-329, 2006.

FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M.; ZANATTO, A. C. S.; MORAES, E. Pomar de sementes por mudas a partir da seleção dentro em teste de progênes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 65-72, 2007.

GONDIN, T. M. S.; BELTRÃO, N. E. M.; PEREIRA, W. E.; OLIVEIRA, A. P.; FILHO, J. L. S.; Plasticidade fenotípica de mamoneira precoce sob diferentes arranjos espaciais em consórcio com feijão caupi. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 1, p. 128-137, 2014.

GRIMALDI, F.; MENEGUZZI, A.; WEBER, G. C.; CORREA, D.; GONÇALVES, M. J.; RUFATO, L.; KRETZSCHMAR, A. A. Protocolo para micropropagação de marmeleiro BA29 em meio semissólido. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 15, n. 3, p. 266-270, 2016.

IBGE. **Produção da extração vegetal e da silvicultura 2014**. Rio de Janeiro, 2016 b. v. 27. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/291>>. Acesso em: 11/07/2019.

IMASUL. **Métodos e técnicas para restauração da vegetação nativa** - Documento técnico para orientação na Restauração da Vegetação Nativa no Bioma Mata Atlântica do Mato Grosso do Sul. Campo Grande: IMASUL, 114p. 2016.

KIRIACHEK, S. G.; AZEVEDO, L. C. B. de; PERES, L. E. P.; LAMBAIS, M. R. Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.33, n. 2, p. 1-16, 2009

LACERDA, K. A. P.; SILVA, M. M. de S.; CARNEIRO, M. A. C.; REIS, E. F. dos; SAGGIN JÚNIOR., O. J. Adubação fosfatada no crescimento inicial de seis espécies arbóreas do cerrado. **Cerne**, Lavras, v. 17, p. 377-386, 2011.

LEAL, J. B.; SANTOS, R. P.; GAIOTTO, F. A. Effect of selective logging on diversity and gene flow in *Cariniana legalis* sampled from a cacao agroforest system. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 13, n. 1, p. 626-635, 2014.

LIMA, R. A. de; LOPES, M. T. G.; BENTES, J. L. da S.; VALENTE, M. S. F.; PEREIRA, J. O.; MUNIZ, G. I. B. Diversidade e estrutura genética de *Senna reticulata*. **Floresta**, Curitiba, v. 45, n. 3, p. 507 - 514, 2015.

LIMA, A. T.; SOUZA, V. A. de; GOMES, R. L.; LIMA, P. S. Molecular characterization of caju, *Spondias mombin* (Anacardiaceae), by RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 10, n. 4, p. 2893 - 2904, 2011.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarium, v. 1, 5ª edição, 2008.

MANTOVANI, N.; ROVEDA, M.; TRES, L.; FORTES, F. de O.; GRANDO, M. F. Cultivo de canafístula (*Peltophorum dubium*) em minijardim clonal e propagação por miniestacas. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p. 225-235, 2017.

MARANHO, Á. S.; PAIVA, A. V. de; PAULA, S. R. P. Crescimento inicial de espécies nativas com potencial madeireiro na Amazônia, Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 37, n. 1, p. 913-921, 2013.

MATTEI, V. L.; ROSENTHAL, M. D. Semeadura direta de canafístula (*Peltophorum dubium* Spreng.) Taub. no enriquecimento de capoeiras. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 649-654, 2002.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Biomas. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas>>. Acesso em 02/02/2019.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Sistema Nacional de Informações Florestais. Brasília: 2013. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>>. Acesso em 02/02/2019.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Mapa de vegetação nativa na área de aplicação da Lei nº11.428/2006 – Lei da Mata Atlântica (ano base 2009). Brasília: 2015. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/mata-atlanticaemdesenvolvimento.html>> Acesso em: 02/02/2019.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Política Nacional de Recuperação da Vegetação Nativa. Brasília: 2017. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/florestas/politica-nacional-de-recuperacao-da-vegetacao-nativa.html>>. Acesso em: 11/07/2019.

MIRANDA, J. C. C. de; MIRANDA, L. N. **Produção de mudas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em viveiros**. Brasília: EMBRAPA Cerrados, 2p, 2001.

MOBOT. **Tropicos.org.- Missouri Botanical Garden** <<http://www.tropicos.org/Name/13012008>> Acesso em: 08/07/2019.

MODES, K. S.; LAZAROTTO, M.; BELTRAME, R.; VIVIAN, M. A.; SANTINI, E. J.; MUNIZ, M. F. B. Resistência natural das madeiras de sete espécies florestais ao fungo *Pycnoporus sanguineus* causador da podridão-branca. **Cerne**, Lavras, v. 18, n. 3, p. 407-411. 2012.

MORI, E. S.; SEBBENN, A. M.; TAMBARUSSI, E. V.; GURIES, R. P. Sistema de reprodução em populações naturais de *Peltophorum dubium*. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 41, p. 307-317, 2013.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, Londres, v. 403, p. 853-858, 2000.

NASCIMENTO, J. P. B.; VIEIRA, D. C. M.; MEIADO, M. V. *Ex situ* seed conservation of Brazilian Cacti. **Revista Gaia Scientia**, João Pessoa, v. 9 n. 2, p. 111-116, 2015.

NAVE, A. G.; RODRIGUES, R. R. Combinations species into filing and diversity groups as forest restoration methodology. In: RODRIGUES, R. R.; MARTINS, S. V.; GANDOLFI, S. High diversity forest restoration in degraded areas: Methods and projects in Brazil. **Nova Science Publishers**, New York, p. 103-126, 2007.

PING-LUNG, H.; ZIN-HUANG, L.; LI-JEN L.; CHI-CHU, T. Micropropagation of bromeliad **Aechmea fasciata** via floral organ segments and effects of acclimatization on plantlet growth. **Plant Cell Tiss Organ Culture**, v. 105, p. 73-78, 2010.

PINTO, S. I. C.; SOUZA, A. M.; CARVALHO, D. Variabilidade genética por isoenzimas em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. em dois fragmentos de mata ciliar. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 65, p. 40-48, 2004.

PLANT LIST. **A working list of all plant species** <<http://www.theplantlist.org/>> Acesso em: 08/07/2019.

PRUDENTE, D. de O.; NERY, F. C.; PAIVA, R.; GOULART, V. L. A.; ANSELMO, A. C. do N. Micropropagação de Candeia, uma espécie nativa do cerrado brasileiro. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 15, n. 3, p. 305-311, 2016.

RAJORA, O. M.; MOSSELLER, A. Challenges and opportunities for conservation of forest genetic resources **Euphytica**, Wageningen, v. 118, n. 2, p. 197–212, 2001.

RAPOSO, A.; FERMINO JUNIOR, P. C. P.; TEIXEIRA, R. B.; PEREIRA, J. E. S. WALTER, B. M. T. **Produção de Mudras de Teca por Micropropagação**. Rio Branco: EMBRAPA, Circular Técnica, 8 p., 2010.

RESENDE, M. D. V. de. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: EMBRAPA, Informação Tecnológica, 2002. 975 p.

SALLES, A. P. B; ALCANTARA, G. B. de; QUOIRIN, M. G. G.; GONÇALVES, A. N.; HIGA, A. R. Desinfestação e introdução *in vitro* de segmentos nodais de *Acacia mearnsii* Ecléia. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 92, p. 485-491, 2017.

SAMARÃO, S. S.; RODRIGUES, L. A.; MARTINS, M. A.; MANHÃES, T. N.; ALVI, L. A. da M. Desempenho de mudas de graviola inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em solo não-esterilizado, com diferentes doses de fósforo. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, p. 81-88, 2011.

SAMPAIO, A. M. N. C. **O papel das micorrizas no modo de produção biológico da alface (*Lactuca sativa* L.)**. 84 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Biológica) - Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal, 2012.

SANTOS, F. E. F. dos; CARRENHO, R. **Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em remanescente florestal impactado** (Parque Cinqüentenário - Maringá, Paraná, Brasil). **Acta Botânica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 25, p. 508-516. 2011.

SEBBENN, A. M.; DEGEN, B.; AZEVEDO, V. C. R.; SILVA, M. B.; LACERDA, A. E.; CIAMPI, A. Y.; KANASHIRO, M.; CARNEIRO, F.; TOMPSON, I.; LOVELESS L. D. Modelling the long-term impacts of selective logging on genetic diversity and demographic structure of four tropical tree species in the Amazon forest. **Forest Ecology and Management**, Amsterdã, v. 254, p. 335-349, 2008.

SEBBENN, A. M.; FREITAS, M. L. M.; ZANATTO, A. C. S.; MORAIS, E.; MORAES, M. A. Comportamento da variação genética entre e dentro de procedências e progênes de *Gallesia integrifolia* vell. Moq. para caracteres quantitativos. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 151-163, 2009.

SEGARRA MORAGUES, J. G.; PALOP ESTEBAN, M.; GONZÁLEZ, C. F.; CATALÁN, P. On the verge of extinction genetics of the critically endangered Iberian plant species *Boderea chouardii* (Dioscoreaceae) and implications for conservation management. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 14, n. 4, p. 969- 982, 2005.

SETOTAW, T. A.; DIAS, L.A. dos S.; MISSIO, R. F. Genetic divergence among barley accessions from Ethiopia. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 10, p.116-123, 2010.

SILVA, E. A.; MARUYAMA, W. I.; OLIVEIRA, A. C.; BARDIVIESSO, D. M. Efeito de diferentes substratos na produção de mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 3, p. 925-929, 2009.

SILVA, E. P. da; GOMES, V. F. F.; FILHO, P. F.M.; SILVA JÚNIOR, J. M. T. da; NESS, R. L. L. Desenvolvimento e colonização micorrízica em mudas de embaúba adubadas com fosfato natural e material orgânico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, p. 256-263, 2016.

SMITH, S. E.; FACELLI, E.; POPE, S.; SMITH, F. A. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. **Plant and Soil**, v. 326, p. 1-2, 2010.

SMITH, R. H. **Plant tissue culture: techniques and experiments**. Texas: College Station, 2013.

SOUZA, F. A de; STURMER, S. L.; CARRENHO, R.; TRUFEM, S. F. B. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J.O. et al. (Ed.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: UFLA, p. 15-73, 2010.

SOUZA, V. C de; SILVA, R. A., DA; CARDOSO, G. D.; BARRETO, A. F. Estudos sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.10, p. 612-618, 2006.

VASCONCELOS, E. S. de; CRUZ, C. D.; BHERING, L. L.; RESENDE JÚNIOR, M. F. R. Método alternativo para análise de agrupamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 10, p. 1421-1428, 2007.

VIDAURRE, G. P.; SILVA, A. N.; ROCHA, J. D. S.; BRITO, E. O. Produção de chapas de partículas de madeira de duas espécies nativas da mata atlântica e suas combinações. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, n. 1, p. 235- 242, 2004.

VIEIRA, C. R. V.; WEBER, O. L. S.; SCARAMUZZA, J. F.; COSTA, A. C.; SOUZA, T. R. Descrição de sintomas visuais em função das deficiências de macronutrientes em mudas de cerejeira (*Amburana acreana*). **Revista Floresta**, Curitiba, v. 41, n. 4, p. 789-796, 2011.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; ASSIS, F. A.; ASSIS, G. A.; ZÁRRAGA, D. Z. A. Micropropagação de duas espécies frutíferas, em meio de cultura DSD1, modificado com fontes de boro e zinco. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 468-472, 2009.

WENDLING, I. DUTRA, L. F., GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas**. Colombo: EMBRAPA Florestas. Documentos, 130p. 2006.

ZARUMA, D. U. G.; CANUTO, D.S. de O.; PUPIN, S.; CAMBUIM, J.; SILVA, A. M. DA; MORI, E. S; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. A. de. Variabilidade genética em procedências e progênes de *Dipteryx alata* vogel para fins de conservação genética e produção de sementes. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 43, n. 107, p. 609-615, 2015.

CAPÍTULO I

Diversidade genética de progênies de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) provenientes de Minas Gerais e Mato Grosso do Sul

Diversidade genética de progênies de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) provenientes de Minas Gerais e Mato Grosso do Sul

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a diversidade genética de progênies de canafístula, por meio de características dendrométricas, utilizando técnicas multivariadas e análises de agrupamento, para verificar as diferenças entre as progênies e formar grupos de menor heterogeneidade para as características estudadas. O teste de progênies e procedências foi instalado em Dourados-MS, sendo as sementes coletadas em três regiões de MS e na microrregião de Lavras-MG. O experimento foi conduzido em alfa-látice 8x8, com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos por progênies de canafístula. Após cinco e seis anos da instalação do experimento, verificou-se a existência de variabilidade genética entre e dentro das populações para todas as características altura, diâmetro, circunferência à altura do peito, volume e área basal. Pela análise de variância foram detectadas diferenças significativas entre as progênies para todos os caracteres estudados, sugerindo que as populações estudadas tem alta variação genética e indicando possibilidade de melhoramento genético pela seleção das melhores progênies. Os métodos UPGMA e Tocher agruparam as progênies em três e nove grupos, respectivamente, onde os indivíduos mais divergentes são provenientes de Minas Gerais e da região de Bonito em Mato Grosso do Sul. As progênies mais promissoras para as características estudadas são provenientes de Minas Gerais (progênies 45, 47, 49, 50, 55, 59) e as menos promissoras, procedentes de Bonito (progênies 6 e 9). As características estudadas são indicadas para utilização em programas de melhoramento.

PALAVRAS-CHAVE: procedências, características dendrométricas, teste de progênies, agrupamento.

**Genetic diversity of canafistula progenies (*Peltophorum dubium* (Spreng.)
Taub.) from Minas Gerais and Mato Grosso do Sul**

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the genetic diversity of canafistula progenies by dendrometric characteristics, using multivariate techniques and cluster analysis, to verify the differences between the progenies and to form groups with less heterogeneity for the studied characteristics. The progenies and provenances test was installed in Dourados-MS, and the seeds were collected in three regions of MS and in the Lavras-MG microregion. The experiment was conducted in 8x8 alpha-lattice, with four replications, and the treatments consisted of canafistula progenies. Five and six years after the experiment was set up, genetic variability was verified between and within populations for all characteristics height, diameter, circumference at breast height, volume and basal area. The analysis of variance showed significant differences between the progenies for all traits studied, suggesting that the populations studied have high genetic variation and indicating the possibility of genetic improvement by selecting the best progenies. The UPGMA and Tocher methods grouped the progenies into three groups and nine groups, respectively, where the most divergent individuals come from Minas Gerais and Bonito region in Mato Grosso do Sul. The most promising progenies for the traits studied are from Minas Gerais (progenies 45, 47, 49, 50, 55, 59) and the least promising, coming from Bonito (progenies 6 and 9). The studied characteristics are indicated for use in breeding programs.

KEY-WORDS: provenances, dendrometric characteristics, progeny test, grouping.

1. INTRODUÇÃO

A diversidade de uma espécie envolve a variação entre indivíduos de uma mesma população, assim como entre populações separadas espacialmente. Essa variação pode ser morfológica, comportamental, genética, entre outras. A diversidade entre espécies, mais comumente denominada de diversidade de espécies, refere-se à variabilidade que ocorre em determinado ambiente ou região definida (SCARIOT et al., 2011) e está associada com a distribuição geográfica dos indivíduos das espécies, ou seja, grupos de indivíduos da mesma espécie estabelecidos em diferentes regiões com características ambientais próprias, que tendem a diferenciar-se geneticamente em forma de populações, como reflexo da limitação do fluxo gênico e das distintas pressões de seleção sofridas por cada população (FREITAS e BEREL, 2003).

A ampla distribuição geográfica de uma espécie é um indicativo de que a mesma possa apresentar altos níveis de diversidade genética, o que pode lhe conferir a capacidade de ocupar diferentes habitats (KAGEYAMA et al., 2003). Sendo o caso da canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.), espécie hermafrodita, polinizada principalmente por abelhas (CARVALHO, 1994), cuja reprodução ocorre provavelmente por cruzamentos, como a grande maioria das espécies arbóreas tropicais (SEBBENN, 2006). A espécie apresenta ampla ocorrência nas Florestas Estacionais Semidecíduais no Brasil, desde o estado da Bahia até o Rio Grande do Sul, região nordeste da Argentina, norte do Uruguai e leste do Paraguai (MARTINEZ-CROVETTO, 1963; LOMBARDO, 1964; LOPEZ et al., 1987; CARVALHO, 2002; LORENZI, 2002).

No Brasil, a perda e a fragmentação de habitats têm afetado todos os biomas, onde estão inclusas extensas áreas no Cerrado, Pampa, Caatinga e Mata Atlântica. As florestas tropicais que no passado ocupavam grandes extensões contínuas, atualmente encontram-se na forma de pequenos e dispersos fragmentos (RIBEIRO et al., 2016).

Estudos na área de conservação genética demonstram que a redução das populações naturais tem acarretado em perda de genes adaptados a ambientes específicos de colonização dessas espécies. Os estudos fenotípicos e genotípicos entre e dentro de populações, para diferentes características, são as formas mais apropriadas para determinar a estrutura genética de uma espécie e têm a finalidade de conservar populações, podendo também servir para fins de melhoramento genético ou produção

de sementes, com ampla base genética para a recuperação ambiental (SEBBENN et al., 2009).

O conhecimento acerca dos parâmetros genéticos de uma determinada espécie nativa proporciona inúmeras contribuições para o aprimoramento de estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* (BATISTA et al., 2012). De acordo com Mori et al. (2013), muito pouco se conhece sobre a diversidade genética e sistema de reprodução da canafístula, aspectos fundamentais para a conservação e melhoramento genético da espécie.

Os estudos da variação genética entre e dentro de populações naturais são fundamentais para o conhecimento da estrutura das populações e podem ser realizados eficientemente a partir do uso de testes de procedências e progênes (CANUTO et al., 2015), que tem por objetivo detectar a variabilidade genética associada a fatores do ambiente, relacionando populações oriundas de diferentes áreas geográficas. A análise de caracteres quantitativos em testes de progênie possibilita a determinação da proporção da variação genética adaptativa que pode responder a alterações ambientais (FREITAS et al., 2007). Esta estratégia consegue fornecer, ainda, resultados que permitem delineamentos de conservação genética, de interações genótipos ambientes, identificação de respostas para mudanças ambientais, dentre outros suportes para ações de uso, conservação e melhoramento florestal (SEBBENN et al., 2003).

A predição de valores genéticos e a estimação de componentes de variância são atividades essenciais no melhoramento de espécies florestais e perenes, constituindo em técnicas ótimas de avaliação genética, sendo utilizadas como procedimento padrão de estimação/predição, a metodologia máxima verossimilhança restrita - REML (RESENDE, 2000 a/b).

Dentre as técnicas mais utilizadas para estudo de divergência genética estão as análises de agrupamento, que tem por objetivo separar e reunir os objetos de estudo em grupos, de forma que objetos dentro do mesmo grupo sejam tão semelhantes quanto possível, enquanto diferentes grupos sejam heterogêneos entre si (ALENCAR et al., 2016). Entre os métodos de agrupamento, o método de otimização de Tocher vem sendo utilizado em espécies arbóreas como no caso da carnaúba (SILVA et al., 2018), cupuaçu (MAIA et al., 2011) e macaúba (MANFIO et al., 2012).

Testes de progênes realizados nos estados de São Paulo e Paraná apontaram a existência de variabilidade genética entre progênes de canafístula e, conseqüentemente, a possibilidade de ganhos com ciclos de seleção (SHIMIZU et al., 1987). De acordo

com Rodrigues et al. (2017), a seleção de progênies deve ser a principal estratégia de seleção, e cruzamentos entre progênies superiores de grupos diferentes.

Diante deste contexto, um teste de progênies na avaliação de populações de canafístula, oriundas de diferentes localidades e biomas nos estados de Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, visando a avaliação da diversidade genética entre e dentro de populações é de grande importância no âmbito da conservação da espécie, do melhoramento e até mesmo na restauração da vegetação nativa e uso em plantios comerciais, como a Integração Lavoura Pecuária e Floresta (ILPFs).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a diversidade genética de 64 progênies de canafístula por meio de características dendrométricas, utilizando técnicas multivariadas e análises de agrupamento, para verificar as diferenças entre as progênies e formar grupos em função da menor heterogeneidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em área da Fazenda Experimental de Ciências Agrárias – FAECA, da Universidade Federal da Grande Dourados, localizada na Rodovia Dourados/Itahum, nas coordenadas 22°14'08" S e 54°59'13" W, com altitude de 434 m. O solo predominante é classificado como Latossolo Vermelho distroférrico (EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA, 2006). O clima predominante é do Cwa (temperado chuvoso com inverno seco, verão chuvoso, temperatura média do mês mais frio inferior a 18°C e a do mês mais quente superior a 22°C) com temperatura média anual de 22,7°C precipitação de 1.410 mm (ARAI et al., 2010).

Teste de Progênes

Para instalação do teste de progênes e procedências de canafístula, foram coletadas sementes de polinização aberta de 64 matrizes de populações oriundas de dois estados, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul. A localização geográfica das árvores matrizes foi feita com uso de GPS (global positioning system) (Tabela 1, Figura 1).

No Mato Grosso do Sul foram coletadas sementes em populações de três regiões do estado: 15 matrizes do Vale do Ivinhema (Ivinhema, Angélica e Deodápolis), 10 matrizes da Serra de Maracaju (Nioaque, Guia Lopes, Maracaju) e 15 matrizes da Serra da Bodoquena (Bonito, Porto Murtinho), sendo que a altitude nestas áreas variou entre 250m a 660m.

Em Minas Gerais foram coletadas sementes de 24 matrizes na microrregião de Lavras abrangendo os municípios de Lavras, Nepomuceno, Itutinga, Ribeirão Vermelho, Nazareno, Candeias e Perdões, com altitude variando de 850 a 964m.

As matrizes selecionadas se encontram em dois biomas, Mata Atlântica e Cerrado. No estado de MS, os municípios de Ivinhema, Angélica, Deodápolis e parte de Bonito estão inseridos no bioma Mata Atlântica e os municípios de Bonito, Guia Lopes da Laguna, Nioaque e Maracaju se encontram em áreas de Cerrado. No estado de MG, todas as matrizes estão localizadas em áreas do bioma Mata Atlântica (IMASUL, 2019).

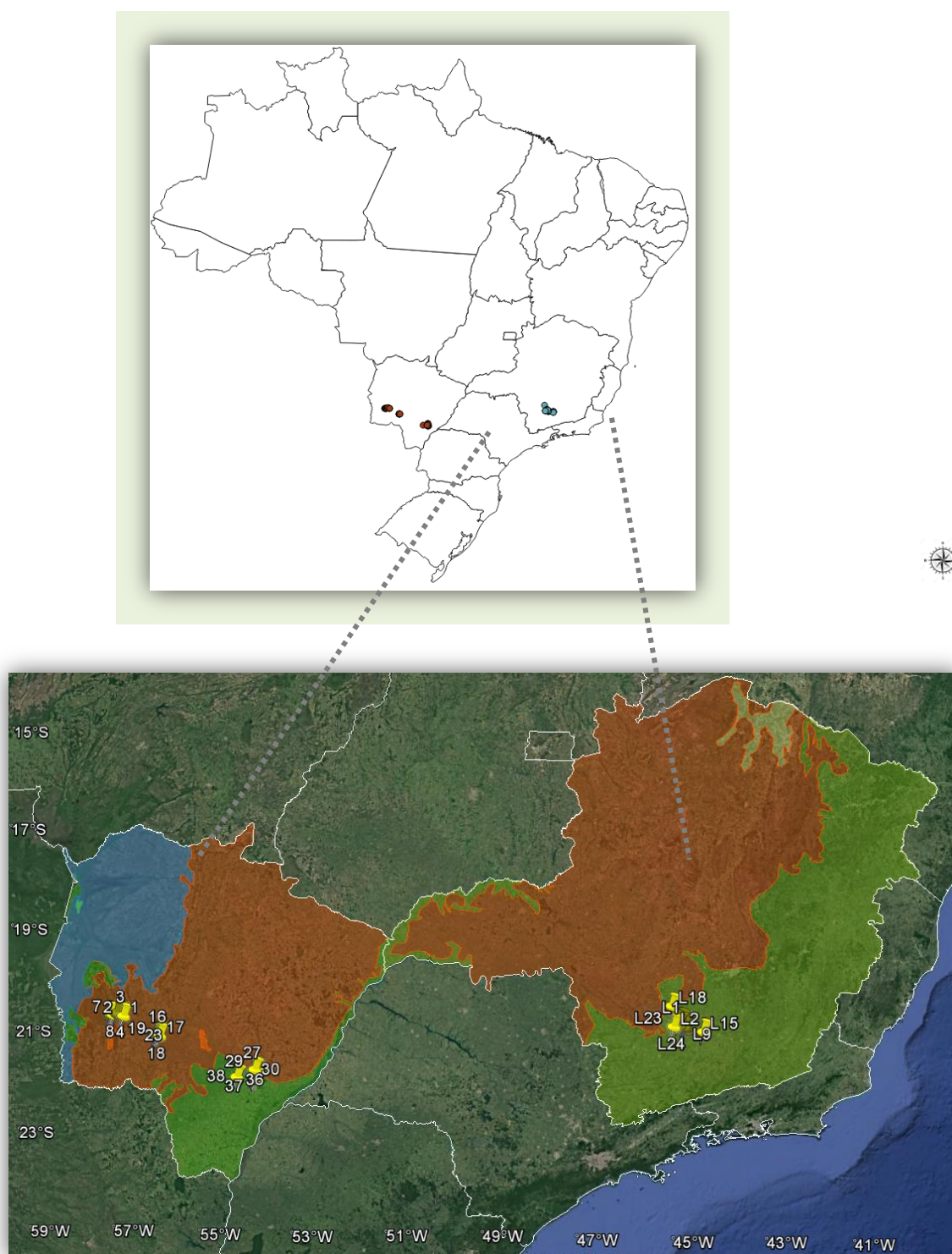


Figura 1. Localização geográfica das matrizes de canafístula nos estados de Mato Grosso do Sul e Minas Gerais (IMASUL, 2019). Fonte: a autora.

Tabela 1. Características dos locais de procedência das sementes de canafístula

MATRIZ	COORDENADAS GEOGRÁFICAS		ALTITUDE mm	LOCALIZAÇÃO MS	T°C MÉDIA ANUAL (°C)	PRECIPITAÇÃO MÉDIA (mm)
	Lat.	Long.				
1	21° 4'3.90"S	56°34'35.00"O	466	Bonito/MS	23,7	1363
2	21° 3'55.20"S	56°34'43.40"O	460	Bonito/MS	23,7	1363
3	21° 3'35.70"S	56°35'7.90"O	288	Bonito/MS	23,7	1363
4	21° 3'27.00"S	56°35'28.80"O	250	Bonito/MS	23,7	1363
5	21° 0'27.90"S	56°42'50.30"O	660	Bonito/MS	23,7	1363
6	21° 1'45.10"S	56°43'11.80"O	635	Bonito/MS	23,7	1363
7	21° 2'33.70"S	56°48'48.60"O	552	Bonito/MS	23,7	1363
8	21° 2'31.30"S	56°49'2.70"O	551	Bonito/MS	23,7	1363
9	21° 1'58.80"S	56°52'10.80"O	500	Porto Murtinho/MS	25,0	1282
10	21° 2'17.10"S	56°52'26.00"O	460	Porto Murtinho/MS	25,0	1282
11	21° 4'10.20"S	56°52'41.00"O	288	Porto Murtinho/MS	25,0	1282
12	21° 4'10.30"S	56°53'34.30"O	250	Porto Murtinho/MS	25,0	1282
13	21° 4'5.40"S	56°53'47.40"O	258	Porto Murtinho/MS	25,0	1282
14	21° 2'7.70"S	56°51'55.40"O	532	Porto Murtinho/MS	25,0	1282
15	21° 2'20.20"S	56°51'20.60"O	555	Bonito/MS	23,7	1363
16	21°27'47.76"S	55°47'33.72"O	410	Nioaque/MS	24,1	1391
17	21°27'49.02"S	55°47'36.06"O	418	Nioaque/MS	24,1	1391
18	21°29'9.54"S	55°48'55.74"O	484	Maracaju/MS	24,1	1391
19	21°29'9.42"S	55°50'37.98"O	418	Nioaque/MS	24,1	1391
20	21°28'40.14"S	55°51'12.84"O	397	Nioaque/MS	24,1	1391
21	21°28'31.92"S	55°52'2.28"O	368	Guia Lopes/MS	23,8	1372
22	21°27'45.78"S	55°53'41.22"O	353	Guia Lopes/MS	23,8	1372
23	21°28'29.04"S	55°52'13.02"O	367	Guia Lopes/MS	23,8	1372
24	21°29'10.26"S	55°52'14.46"O	417	Guia Lopes/MS	23,8	1372
25	22°17'33.72"S	53°48'22.92"O	332	Ivinhema/MS	23,0	1534
26	22°12'9.12"S	53°46'12.66"O	341	Angélica/MS	23,1	1501
27	22°10'32.76"S	53°46'10.20"O	363	Angélica/MS	23,1	1501
28	22°10'3.06"S	53°46'35.10"O	373	Angélica/MS	23,1	1501
29	22° 8'29.40"S	53°46'5.82"O	342	Angélica/MS	23,1	1501
30	22° 9'6.60"S	53°46'3.24"O	349	Ivinhema/MS	23,0	1534
31	22°15'15.84"S	53°48'23.88"O	291	Ivinhema/MS	23,0	1534
32	22°16'24.36"S	53°49'4.62"O	334	Ivinhema/MS	23,0	1534
33	22°19'15.42"S	53°47'34.08"O	372	Ivinhema/MS	23,0	1534
34	22°19'16.74"S	53°47'26.28"O	369	Ivinhema/MS	23,0	1534
35	22°19'21.90"S	53°47'13.14"O	399	Ivinhema/MS	23,0	1534
36	22°21'2.10"S	53°43'16.74"O	395	Ivinhema/MS	23,0	1534
37	22°19'35.52"S	53°46'9.12"O	430	Ivinhema/MS	23,0	1534
38	22°16'33.36"S	54° 9'6.96"O	416	Ivinhema/MS	23,0	1534
39	21°27'7.92"S	55°53'18.66"O	363	Guia Lopes/MS	24,1	1391
40	22°15'32.82"S	53°48'30.84"O	292	Ivinhema/MS	23,0	1534
41	21°13'12.35"S	45°13'49.44"O	873	Nepomuceno/MG	20,6	1357
42	21°13'56.49"S	45°13'44.10"O	851	Nepomuceno/MG	20,6	1357
43	21°11'48.20"S	45° 2'13.57"O	798	Lavras/MG	19,9	1486
44	21°13'46.12"S	44°59'33.32"O	850	Lavras/MG	19,9	1486
45	21°13'56.53"S	44°59'32.45"O	854	Lavras/MG	19,9	1486
46	21°19'25.26"S	44°36'56.08"O	900	Itutinga/MG	19,6	1593
47	21°19'21.23"S	44°36'53.97"O	896	Itutinga/MG	19,6	1593
48	21°13'38.51"S	44°58'45.76"O	924	Lavras/MG	19,9	1486
49	21°13'38.25"S	44°58'47.46"O	925	Lavras/MG	19,9	1486
50	21°16'18.37"S	44°58'18.88"O	929	Lavras/MG	19,9	1486
51	21°19'9.69"S	44°36'57.09"O	915	Itutinga/MG	19,6	1593
52	21°19'9.01"S	44°36'58.21"O	907	Itutinga/MG	19,6	1593
53	21°19'9.67"S	44°37'5.81"O	932	Itutinga/MG	19,6	1593
54	21°17'50.61"S	44°37'11.15"O	929	Itutinga/MG	19,6	1593
55	21°17'50.88"S	44°37'13.71"O	912	Itutinga/MG	19,6	1593
56	21°16'39.34"S	44°36'27.36"O	956	Nazareno/MG	24,5	1551
57	21°16'36.91"S	44°36'27.71"O	964	Nazareno/MG	24,5	1551
58	20°50'7.21"S	45°17'19.73"O	947	Candeias/MG	19,9	1475
59	21° 7'0.80"S	45° 5'39.03"O	856	Perdões/MG	20,4	1455
60	21° 9'54.23"S	45° 7'24.29"O	796	Ribeirão Vermelho/MG	20,7	1405
61	21°12'27.76"S	45° 0'12.49"O	913	Lavras/MG	19,9	1486
62	21°16'16.20"S	44°58'20.82"O	929	Lavras/MG	19,9	1486
63	21°13'12.67"S	45°13'50.69"O	883	Nazareno/MG	24,5	1551
64	21°13'12.67"S	45°13'50.69"O	887	Nazareno/MG	24,5	1551

A seleção das matrizes foi realizada com base em caracteres de importância silvicultural, tais como altura, diâmetro à altura do peito, condições de copa, sanidade, forma do fuste e quantidade de frutos/sementes disponíveis e todas foram georreferenciadas.

A partir das sementes coletadas das matrizes selecionadas foram produzidas mudas nas dependências do viveiro de mudas da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Os frutos foram colhidos e acondicionados em sacos de polietileno para transporte ao laboratório de sementes, da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), onde foram beneficiados para obtenção das sementes. Foi realizada a escarificação térmica das sementes de acordo com Davide e Silva (2008), as quais foram semeadas em tubete de plástico rígido com capacidade para 110 cm³ (três sementes/recipiente). As mudas foram produzidas nas dependências do Viveiro Florestal da FCA/UFGD até que atingissem um padrão de 25 a 40 cm de altura e 3 a 5 mm de diâmetro do colo, momento em que foram levadas para área de plantio (TERRA et al., 2014).

Área experimental

No ano de 2013, o teste de progênies foi instalado na Fazenda Experimental da Universidade Federal da Grande Dourados, em área localizada no polígono formado pelos pontos de coordenadas geográficas 22°14'26,24"S – 54°59'57,83"W; 22°14'28,51"S – 54°59'57,66"W; 22°14'29,17"S – 55°0'0,75"W; 22°14'26,71"S – 55°0'1,05"W, num total de 6.663m², com altitude de 390 metros (Figura 2).

O experimento foi conduzido em alfa-látice 8x8, com quatro repetições. As parcelas experimentais foram constituídas por seis plantas, sendo os tratamentos constituídos por 64 progênies de canafístula (Figura 3), totalizando 1536 plantas.

As mensurações dos dados dendrométricos foram realizadas em todas as plantas na área experimental.



Figura 2. Localização da área experimental de canafístula (FAECA – UFGD). Fonte: Google Earth, 2017.

Repetição I							
Bloco 2	Bloco 4	Bloco 5	Bloco 1	Bloco 3	Bloco 8	Bloco 6	Bloco 7
9	25	33	1	17	57	41	49
10	26	34	2	18	58	42	50
11	27	35	3	19	59	43	51
12	28	36	4	20	60	44	52
13	29	37	5	21	61	45	53
14	30	38	6	22	62	46	54
15	31	39	7	23	63	47	55
16	32	40	8	24	64	48	56

Repetição II							
Bloco 8	Bloco 1	Bloco 3	Bloco 4	Bloco 6	Bloco 5	Bloco 2	Bloco 7
8	1	3	4	6	5	2	7
16	9	11	12	14	13	10	15
24	17	19	20	22	21	18	23
32	25	27	28	30	29	26	31
40	33	35	36	38	37	34	39
48	41	43	44	46	45	42	47
56	49	51	52	54	53	50	55
65	57	59	60	61	58	63	62

Repetição III							
Bloco 2	Bloco 3	Bloco 4	Bloco 5	Bloco 6	Bloco 1	Bloco 8	Bloco 7
9	17	25	33	46	1	57	49
2	50	42	58	26	10	34	18
51	3	35	27	59	19	43	11
44	36	4	20	12	28	52	60
61	29	21	5	53	37	13	45
30	62	14	54	6	36	22	38
23	15	63	47	39	55	31	7
25	48	56	16	24	64	8	32

Repetição IV							
Bloco 1	Bloco 2	Bloco 6	Bloco 7	Bloco 4	Bloco 8	Bloco 5	Bloco 3
1	17	57	33	36	49	9	25
18	2	42	26	58	10	50	34
27	35	10	19	11	59	43	3
44	60	20	52	4	36	28	12
13	53	37	61	29	21	5	45
62	46	6	14	22	30	38	54
39	31	15	7	55	47	63	23
56	16	32	48	40	8	24	64

Figura 3. Croqui de campo utilizado para organização das progênes de canafístula na área experimental em delineamento alfa-látice 8 X 8, com quatro repetições (Considerar as repetições em área contínua).

As avaliações foram realizadas em agosto/2018 e junho/2019, após cinco anos da instalação do experimento em campo. Foram coletados dados de altura de planta em metros (AP); diâmetro à altura do peito em centímetros (DAP); circunferência à altura do peito em centímetros (CAP) e calculados indiretamente a área basal (AB) e volume (V).

A altura total das plantas foi mensurada com uso do dendrômetro Criterion RD 1000, medindo-se o comprimento a partir do colo até a copa da árvore.

O diâmetro à altura do peito foi medido a 1,30 m em relação ao solo, com auxílio de um paquímetro. Quando a planta apresentava bifurcações à altura de 1,30 m, o diâmetro das circunferências de todas as ramificações era tomado para obtenção da média.

A circunferência à altura do peito também foi medida a 1,30 m em relação ao solo, com auxílio de fita diamétrica.

A área basal foi determinada pela fórmula de Poggiani et al. (1996):

$$AB = DAP^2 \times \pi/4$$

Onde:

DAP = diâmetro à altura do peito;

$\pi = \text{Pi} = 3,1416$.

O volume (V) foi calculado pela fórmula (COUTO et al., 1989):

$$V = (\pi / 4) DAP^2 \times H$$

Onde:

$\pi = \text{Pi} = 3,1416$;

DAP = diâmetro à altura do peito;

H = altura.

Considerando tratar-se de experimento desbalanceado, devido ao número desigual de árvores sobreviventes por parcelas, foram realizadas análises visando seleção das melhores progênies e dos melhores indivíduos via modelos mistos. Para estimar os componentes de variância foi utilizado o método de REML (Máxima Verossimilhança Restrita). Os valores perdidos foram estimados e os componentes da variância foram ajustados. As análises foram realizadas no *software* R (R CORE TEAM, 2018), utilizando os pacotes lme4 e lmerTest. Para obtenção da tabela da análise de deviance com teste F e valores de p foi utilizado o método de *Satterthwaite* para graus

de liberdade do denominador. Para seleção das melhores progênies em função das variáveis analisadas foi realizado o teste de Tukey a 1% de significância.

As análises de diversidade genética foram realizadas empregando-se as técnicas multivariadas através dos métodos de agrupamento dos genótipos pelo método da ligação média entre grupos (UPGMA) e o método hierárquico aglomerativo de otimização proposto por Tocher (CRUZ e CARNEIRO, 2006). Adotou-se como medida de dissimilaridade, a distância euclidiana média, levando em consideração o grau de dependência entre as variáveis estudadas. Também se realizou análise de componentes principais com posterior dispersão gráfica dos genótipos. A formação dos grupos foi definida utilizando o pacote *NbClust* implementado no *software* R (R CORE TEAM, 2018), no qual foram realizados diferentes testes estatísticos para definir o número ideal de grupos de acordo com a análise dos caracteres silviculturais (corte) no qual, de acordo com a maioria dos testes, o melhor número de grupos foram três.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Pela análise de deviance (Tabela 2) foram detectadas diferenças significativas a 1% de probabilidade entre progênies para todos os caracteres estudados, sugerindo que as populações provenientes de sete procedências, tem alta variação genética e indicando possibilidade de melhoramento genético pela seleção das melhores progênies.

A precisão experimental foi avaliada, por meio das estimativas de acurácia seletiva (AS). Este parâmetro reflete a qualidade das informações e dos procedimentos utilizados na predição dos valores genéticos e está associado à precisão da seleção, referindo-se à coeficiente de determinação entre valores genéticos preditos e valores genéticos verdadeiros dos indivíduos (RESENDE e DUARTE, 2007). Conhecer a acurácia é especialmente importante quando existem diferenças significativas entre progênies para os caracteres em estudo, visto que neste caso é possível obter ganhos com a seleção (SENNÁ et al., 2012).

Neste contexto, os valores de acurácia obtidos para todos os caracteres estudados foram superiores a 0,8; indicando alta precisão no acesso à variação genética verdadeira a partir da variação fenotípica observada nos mesmos e, portanto, a possibilidade de sucesso na seleção de indivíduos. De acordo com Resende e Duarte (2007), a acurácia varia de 0 a 1, sendo adequados, os valores próximos à unidade ou 100%; ou seja, a acurácia é mais alta quando menores forem os desvios absolutos entre os valores genéticos paramétricos e os valores genéticos estimados ou preditos.

Tabela 2. Resumo da análise de deviance conjunta de 64 progênies de canafístula, avaliadas em dois anos. Dourados/MS, 2018 e 2019

Fonte de Variação	GL	QUADRADOS MÉDIOS				
		AP	CAP	DAP	AB	VOL
Matriz	63	13,42**	280,00**	$28,58 \times 10^{-4}$ **	$9,10 \times 10^{-5}$ **	$6,01 \times 10^{-3}$ **
Ano	1	2,83	1231,60**	$127,62 \times 10^{-4}$ **	$3,56 \times 10^{-4}$ **	$185,83 \times 10^{-4}$ **
MXA	63	0,27	5,10	$6,60 \times 10^{-5}$	$4,00 \times 10^{-6}$	$6,50 \times 10^{-5}$
Resíduo	1790	2,63	62,60	$6,33 \times 10^{-4}$	$2,60 \times 10^{-5}$	$14,55 \times 10^{-4}$
Acurácia Seletiva		0,90	0,88	0,88	0,84	0,87

** : significativo a ($p < 0,01$) pelo teste F. AS: acurácia seletiva; AP: altura de plantas (m); CAP: circunferência altura do peito (cm); DAP: diâmetro altura do peito (cm), AB: área basal (m²); V: volume (m³)

Vários estudos de diversidade genética entre progênies de espécies arbóreas nativas têm sido realizados de testes de procedências e entre progênies, através da avaliação de características dendrométricas, como: *Cedrela fissilis* (NAVROSKI et al., 2016), *Mimosa scabrella* (MENEGATTI et al., 2016), *Schinus terebinthifolia* (BERTONHA et al., 2016), *Dipteryx alata* (ZARUMA et al., 2015), *Balfourodendron riedelianum* (KUBOTA et al., 2015), *Astronium graveolens* (ARAUJO et al., 2014), *Handroanthus vellosi* (BATISTA et al., 2012).

Para análise do desempenho das progênies na comparação das médias foram considerados os maiores ou menores valores das médias em, no mínimo, três das características avaliadas.

A progênie identificada pela numeração 50 (Lavras/MG) apresentou maior altura (9,37 m), seguida pela progênie 34 de Ivinhema/MS (9,17 m); progênie 45 de Lavras/MG (9,13 m). A menor altura foi obtida pela progênie 16, de Nioaque/MS (6,38 m). Verificou-se também que 13 indivíduos de diferentes procedências apresentaram valores médios de altura igual ou inferior a 7,0 metros.

As progênies 49 e 55 (Lavras e Itutinga/MG) se destacaram com os maiores valores de CAP (37,64 cm e 36,55 cm). A progênie 9 (Porto Murtinho/MS) apresentou o menor valor de CAP (22,18 cm). Ressalta-se que as progênies 42 (Nepomuceno/MG), 52 (Itatinga/MG) e 6 (Bonito/MS) também apresentaram CAP inferior às demais, embora não tenham diferido estatisticamente com valores de 24,80 cm; 24,69 cm e 23,38 cm, respectivamente. O CAP e o DAP apresentaram crescimentos semelhantes.

Xavier et al. (2018) observaram diferença significativa entre o DAP médio de indivíduos de canafístula aos 14 anos de idade na região de Descalvado/SP, sendo a variação geral encontrada no DAP dos indivíduos avaliados de 12,80 a 44,56 cm.

Para área basal (AB), os maiores valores foram obtidos para as progênies 1, 43, 47, 49, 55 e 57 provenientes de Bonito/MS, Lavras/MG, Itutinga/MG, Lavras/MG, Itutinga/MG, Nazareno/MG, respectivamente. Os menores valores foram obtidos para as progênies 9 (P. Murtinho/MS) e 6 (Bonito/MS).

As progênies 49, 55 e 57 apresentaram os maiores volumes (V) e as progênies 6 e 9 os menores volumes.

A superioridade das progênies de MG, bem como o menor desempenho de progênies da região de Bonito foi constatada anteriormente por Terra et al. (2014) aos 16 meses pós-plantio. Vários estudos têm sido realizados em fase inicial dos testes de progênie. Silva et al. (2018) recomendam o monitoramento em estádios futuros de

desenvolvimento no campo, e, com a persistência na variação genética em idade adulta, o genótipo amostrado pode ser indicado para uso no melhoramento genético e programas de restauração.

Tabela 3. Médias de altura de planta (AP), circunferência a altura do peito (CAP), diâmetro a altura do peito (DAP), área basal (AB) e volume (V) para progênies (Prog.) de canafístula. Dourados/MS, 2018 e 2019

Prog.	Local	AP		CAP		DAP		AB		V	
1	MS	8,29	abc	33,81	ab	10,76	ab	0,01	a	0,08	abcde
2	MS	8,49	abc	30,17	abcd	9,60	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
3	MS	7,37	abcd	28,13	abcd	8,95	abcd	0,01	abc	0,05	abcdef
4	MS	8,20	abcd	27,63	abcd	8,80	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
5	MS	8,47	abc	30,63	abcd	9,75	abcd	0,01	abc	0,08	abcdef
6	MS	7,05	cd	23,38	cd	7,44	cd	0,00	bc	0,04	f
7	MS	7,37	abcd	26,91	bcd	8,57	bcd	0,01	abc	0,05	cdef
8	MS	8,66	abc	29,00	abcd	9,23	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
9	MS	6,93	cd	22,18	d	7,06	d	0,00	c	0,03	f
10	MS	7,73	abcd	27,23	abcd	8,67	abcd	0,01	abc	0,05	cdef
11	MS	7,29	abcd	27,86	abcd	8,87	abcd	0,01	abc	0,05	abcdef
12	MS	8,12	abcd	28,20	abcd	8,97	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
13	MS	8,73	abc	32,35	abcd	10,3	abcd	0,01	ab	0,08	abcdef
14	MS	7,69	abcd	30,67	abcd	9,76	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
15	MS	7,59	abcd	27,61	abcd	8,79	abcd	0,01	abc	0,05	cdef
16	MS	6,38	d	27,83	abcd	8,86	abcd	0,01	abc	0,05	cdef
17	MS	6,88	cd	26,36	bcd	8,39	bcd	0,01	abc	0,05	cdef
18	MS	8,15	abcd	30,10	abcd	9,58	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
19	MS	7,95	abcd	32,14	abcd	10,23	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
20	MS	7,98	abcd	30,21	abcd	9,62	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
21	MS	8,42	abc	31,46	abcd	10,01	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
22	MS	7,67	abcd	27,15	abcd	8,64	abcd	0,01	abc	0,05	abcdef
23	MS	6,93	cd	26,69	bcd	8,50	bcd	0,01	abc	0,05	bcdef
24	MS	7,02	cd	26,75	bcd	8,51	bcd	0,01	abc	0,05	abcdef
25	MS	7,96	abcd	33,41	ab	10,63	ab	0,01	ab	0,08	abcde
26	MS	8,09	abcd	30,96	abcd	9,86	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
27	MS	8,09	abcd	30,27	abcd	9,63	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
28	MS	7,76	abcd	32,26	abcd	10,27	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
29	MS	8,13	abcd	32,00	abcd	10,19	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
30	MS	7,57	abcd	28,12	abcd	8,95	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
31	MS	8,08	abcd	31,89	abcd	10,15	abcd	0,01	ab	0,07	abcdef
32	MS	6,82	cd	27,04	abcd	8,61	abcd	0,01	abc	0,05	cdef
33	MS	8,15	abcd	30,53	abcd	9,72	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
34	MS	9,17	ab	31,33	abcd	9,97	abcd	0,01	abc	0,08	abcde
35	MS	8,15	abcd	29,44	abcd	9,37	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef

...continua...

Tabela 3. Cont.

36	MS	7,98	abcd	28,50	abcd	9,07	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
37	MS	7,71	abcd	26,13	bcd	8,32	bcd	0,01	abc	0,05	def
38	MS	7,04	cd	29,70	abcd	9,45	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
39	MS	8,22	abc	28,11	abcd	8,95	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
40	MS	7,38	abcd	26,96	abcd	8,58	abcd	0,01	abc	0,05	def
41	MG	7,90	abcd	29,38	abcd	9,35	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
42	MG	6,87	cd	24,80	cd	7,89	cd	0,00	abc	0,04	ef
43	MG	8,47	abc	33,71	ab	10,73	ab	0,01	a	0,08	abcde
44	MG	8,26	abc	31,06	abcd	9,89	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
45	MG	9,13	ab	33,68	ab	10,72	ab	0,01	ab	0,08	abcd
46	MG	8,08	abcd	31,30	abcd	9,96	abcd	0,01	ab	0,07	abcdef
47	MG	8,34	abc	35,11	ab	11,17	ab	0,01	a	0,08	abcd
48	MG	6,69	cd	32,44	abcd	10,33	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
49	MG	8,84	abc	37,64	a	11,98	a	0,01	a	0,11	a
50	MG	9,37	a	35,30	ab	11,24	ab	0,01	ab	0,10	ab
51	MG	8,79	abc	31,37	abcd	9,98	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
52	MG	7,03	cd	24,69	cd	7,86	cd	0,00	bc	0,05	def
53	MG	8,07	abcd	32,82	abc	10,45	abc	0,01	abc	0,08	abcde
54	MG	7,09	bcd	32,50	abc	10,34	abc	0,01	abc	0,07	abcdef
55	MG	8,80	abc	36,55	a	11,63	a	0,01	a	0,10	a
56	MG	6,78	cd	26,45	bcd	8,42	bcd	0,01	abc	0,04	def
57	MG	8,99	ab	35,03	ab	11,15	ab	0,01	a	0,09	abc
58	MG	8,21	abcd	31,68	abcd	10,08	abcd	0,01	abc	0,08	abcdef
59	MG	6,78	cd	32,84	abc	10,45	abc	0,01	abc	0,07	abcdef
60	MG	7,56	abcd	28,32	abcd	9,02	abcd	0,01	abc	0,06	abcdef
61	MG	8,17	abcd	31,96	abcd	10,17	abcd	0,01	abc	0,07	abcdef
62	MG	7,28	abcd	31,55	abcd	10,04	abcd	0,01	ab	0,06	abcdef
63	MG	7,66	abcd	26,73	bcd	8,51	bcd	0,01	abc	0,05	cdef
64	MG	6,79	cd	27,19	abcd	8,65	abcd	0,01	abc	0,05	cdef

Letras diferentes nas colunas representam as médias que diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

De acordo com o dendrograma apresentado na Figura 4, foram sugeridos três agrupamentos de similaridade das progênes em razão das características analisadas. O número de grupos formados expressa a variabilidade genética observada entre os genótipos. O Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC) obtido foi de 0,756, representando bom ajuste entre a matriz cofenética e a matriz de dissimilaridade construída com base na distância Euclidiana, o que evidencia elevada confiabilidade na realização de inferências por meio da avaliação visual da supracitada. De acordo com Kopp et al. (2007), a análise de correlação cofenética associada à análise de

agrupamento, podem ser empregadas para aumentar a confiabilidade das conclusões frente a interpretação dos dendrogramas, visto que se estabelece uma correlação entre a matriz de similaridade ou dissimilaridade com o dendrograma gerado através desta, ou seja, compara-se as reais distâncias obtidas entre os acessos com as distâncias representadas graficamente sujeitas ao acúmulo de erro supracitado.

O grupo representado pela cor azul apresentou o maior número de indivíduos, sendo formado por 82% das progênes analisadas, oriundas de diferentes localidades. Dos 53 indivíduos que compõem este grupo, 16 são oriundos de Minas Gerais e 37 são de Mato Grosso do Sul. Das 40 progênes estudadas de MS, somente 03 progênes (6, 9, 17) se encontram em grupo diferente (grupo vermelho), o que denota a baixa diversidade genética dentro das populações de MS.

O grupo vermelho foi formado por cinco progênes de origem distintas, sendo as progênes 6 de Bonito/MS, 9 de Porto Murtinho/MS, 17 de Nioaque/MS e progênes 42 e 52 de Lavras/MG. Sendo este formado por progênes que apresentaram baixo desempenho para os caracteres estudados, quando comparadas as médias constantes na Tabela 3. O grupo verde foi composto por seis progênes (45, 47, 49, 50, 55 e 57) oriundas de matrizes de MG que se destacaram em desempenho nos caracteres silviculturais analisados (Tabela 3). Dentre os grupos formados, pode-se observar que os grupos mais divergentes são os grupos vermelho e verde, sendo as progênes 9 e 55 as que apresentaram a maior dissimilaridade.

Esses resultados permitem afirmar que dentro de um mesmo grupo existe similaridade entre os genótipos de procedências distintas, bem como há dissimilaridade entre progênes de mesma procedência para as características estudadas. De maneira semelhante, Kubota et al. (2015) observaram existência de variabilidade genética entre procedências de *Balfourodendron riedelianum* em Pederneiras (SP) para maioria dos caracteres de crescimento estudados.

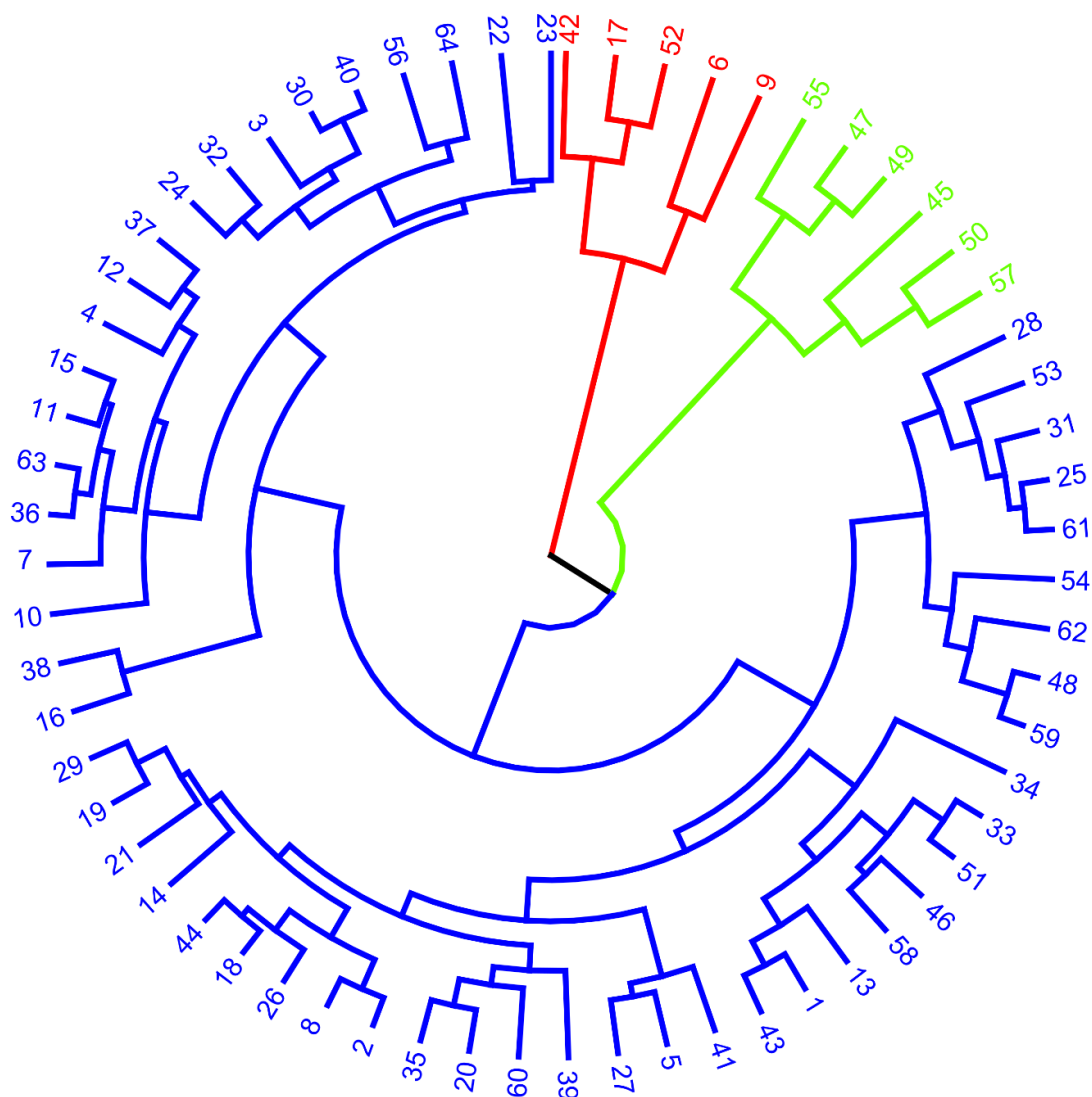


Figura 4. Dendrograma representativo da dissimilaridade genética entre as 64 progênes de Canafistula, obtido pelo método “Average linkage”, utilizando a distância Euclidiana como medida de dissimilaridade. Correlação cofenética (0,756). Dourados/MS, 2018 e 2019.

A Figura 5 demonstra a dispersão das progênes em função do local de origem das matrizes (MG e MS). A maior variabilidade dentro de grupo pode ser observada no agrupamento proveniente de Minas Gerais (grupo verde). Pode-se observar também que há grande similaridade para os caracteres estudados para a maioria das progênes, independentemente de sua origem, uma vez que no gráfico de dispersão há grande sobreposição das mesmas.

As progênes de MS que se apresentaram mais distantes das demais foram: 9, 6 e 34; para MG, as progênes mais distantes foram 45, 57, 50, 47, 49 e 55, 52.

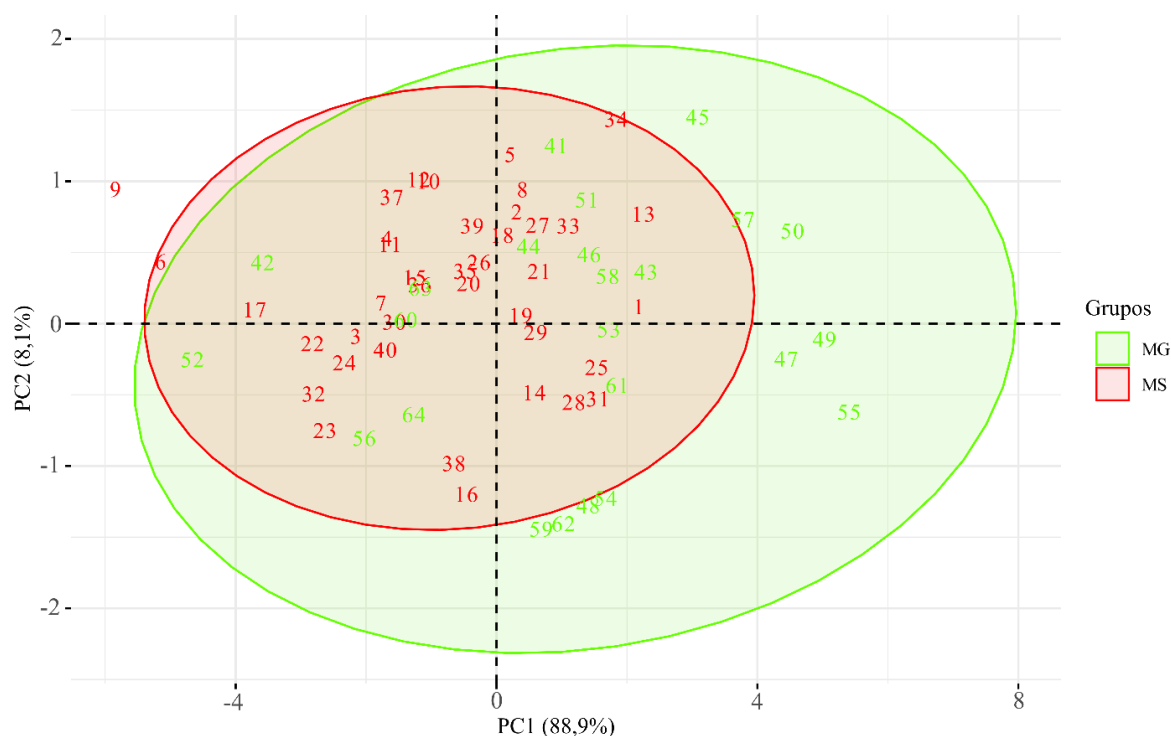


Figura 5. Dispersão gráfica obtida por meio dos componentes principais considerando a origem das 64 progênies de Canafístula. Dourados/MS, 2018 e 2019.

Na dispersão gráfica das progênies realizada em função dos caracteres estudados (Figura 6), foram formados três grupos. A maior variabilidade pode ser observada entre os indivíduos do grupo azul. O grupo vermelho foi formado por indivíduos oriundos de MG que apresentaram maiores desempenhos nas características dendrométricas analisadas, e menor variabilidade dentro do grupo.

Pode-se verificar que as progênies mais distantes geneticamente, tanto no agrupamento realizado pelo método “Average linkage” (Figura 4) como através dos componentes principais (Figuras 5 e 6) foram a 9 e 55, procedentes de MS e MG, respectivamente.

Embora as populações de MS apresentem maior número de progênies e uma amplitude em latitude maior que MG para as populações estudadas, observou-se menor variabilidade genética entre as progênies.

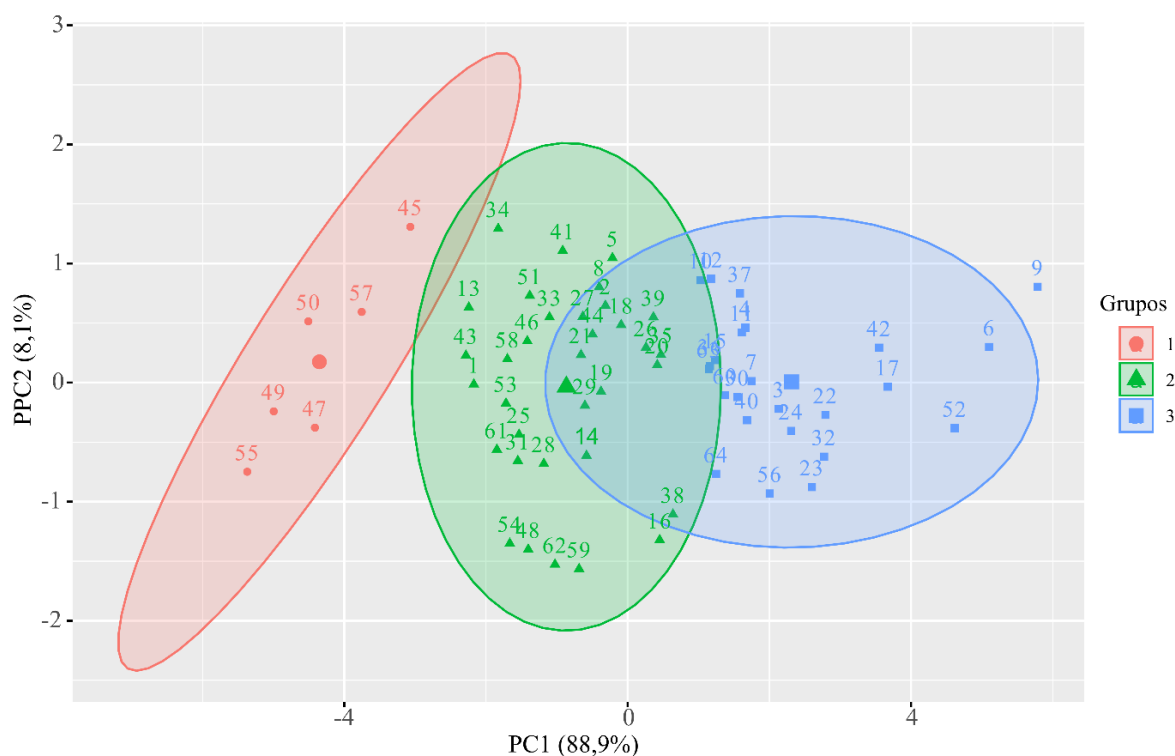


Figura 6. Dispersão gráfica obtida por meio dos componentes principais, tendo como base a avaliação de características dendrométricas de 64 progênies de Canafístula. Dourados/MS, 2018 e 2019.

O método de agrupamento Tocher permitiu que as progênies fossem reunidas em nove grupos (Tabela 4), confirmando a presença de variabilidade no germoplasma e divergência entre as progênies. Este método apresenta uma distância média dentro de grupos sempre menor que a distância média entre grupos (VASCONCELOS et al., 2007), para que haja mais homogeneidade entre acessos do mesmo grupo que entre os de diferentes grupos.

Foram formados três grupos (grupos I, II e III) com número expressivo de progênies. O grupo III apresenta o maior número de progênies, sendo 14 (quatorze) de procedência de MS e quatro de MG. O grupo I, segundo maior grupo em número de progênies foi composto por um total de dezessete progênies, com maioria procedente de MS (treze progênies). O grupo II, terceiro maior agrupamento, apresenta 12 (doze) progênies, sendo cinco provenientes de MS e sete oriundas de MG. Verifica-se ainda, que o grupo VII reúne as progênies que apresentaram baixo desempenho em todas as características estudadas (progênies 6 e 9). Destacamos o grupo V que agrupa as progênies 50, 57, 47, 49 e 55, corroborando com o resultado do dendrograma obtido pelo método UPGMA, onde as mesmas progênies formam um grupo distinto, de cor verde (Figura 4).

O método de Tocher tem sido utilizado com sucesso no agrupamento de progênes de espécies nativas. Silva et al. (2018) com base nos valores genéticos de altura, diâmetro e sobrevivência de mudas de carnaúba, agruparam 97,5% das progênes em um único grupo. Manfio et al (2012), separaram progênes de macaúba em dois grupos (São Paulo e Minas Gerais) de acordo com a procedência, tendo como base a variabilidade genética de dois caracteres (crescimento e número de folhas).

Dentre os nove agrupamentos obtidos através de Tocher, somente dois deles agruparam exclusivamente progênes de mesma procedência, grupo V (MG) e grupo VII (MS – Bonito e Porto Murtinho).

Tabela 4. Agrupamento pelo método de otimização de Tocher das 64 progênes de canafístula. Dourados/MS, 2018 e 2019

Grupos	Matrizes					
I	26	27	21	44	19	35
	33	29	14	51	41	20
	46	18	5	2	8	
II	31	61	28	25	62	53
	1	43	58	13	48	59
III	11	63	36	7	15	40
	30	32	12	39	64	60
	56	24	37	4	3	10
IV	16	38				
V	50	57	47	49	55	
VI	17	42	22	23	52	
VII	6	9				
VIII	34	45				
IX	54					

Na Tabela 5 são apresentados os dados de distâncias dentro e entre os grupos. A maior distância entre grupos foi observada entre os grupos V e VII, em que o desempenho no grupo V, composto por progênes de MG, foi alto e no grupo VII, composto por progênes de MS, baixo. Este resultado ratifica os resultados da Figura 4, em que as progênes do grupo V estão agrupadas no dendrograma no grupo verde.

Os grupos I e IV apresentaram maior similaridade, sendo que dos 17 indivíduos do grupo I, somente 13 são de procedência de MS, bem como todos os indivíduos do grupo IV são de MS.

Dentro dos grupos, a maior distância dos genótipos ocorreu dentro do grupo VIII, composto somente por duas progênes identificadas como 34 e 45, de procedência de Ivinhema/MS e Lavras/MG, respectivamente. A menor variabilidade ocorreu dentre os indivíduos do grupo IV de Nioaque/MS e Ivinhema/MS. Os grupos I e II também apresentaram baixa variabilidade entre os indivíduos, embora as procedências sejam distantes e, no caso de comparação MG e MS, o clima também seja diferente.

De acordo com Siqueira et al. (1993), a similaridade entre as progênes pode ser devida à sua origem a partir de uma população ancestral comum, ou ainda, que essas populações possam ter sofrido ação antrópica.

Os métodos de agrupamento utilizados agruparam as 64 progênes em três grupos e nove grupos, através de UPGMA e Tocher, respectivamente. Esta separação em grupos distintos é importante para o melhoramento genético da espécie, pois a partir deles pode ser obtida a heterose para caracteres quantitativos de interesse econômico, quando do cruzamento de progênes pertencentes a diferentes grupos (MANFIO et al., 2012).

Tabela 5. Distâncias médias dentro dos grupos na diagonal principal e entre grupos fora da diagonal principal, correspondentes aos nove grupos formados pelos 64 genótipos de canafístula. Dourados/MS, 2018 e 2019

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
I	0,86	2,30	2,99	1,55	5,97	5,68	9,07	2,42	4,10
II		0,86	5,07	2,82	3,95	7,76	11,20	1,81	1,97
III			1,14	2,58	8,88	2,81	6,19	5,27	6,84
IV				0,22	6,64	5,10	8,58	3,55	4,41
V					1,55	11,59	15,02	3,88	2,58
VI						1,27	3,51	7,98	9,50
VII							1,29	11,32	12,97
VIII								2,01	2,86
IX									0,00

Diante da análise dos dados, podemos inferir que as características dendrométricas estudadas são indicadas para utilização em programas de melhoramento, pois apresentaram variação genética para progênes, evidenciando, portanto, a possibilidade de sucesso na seleção de indivíduos. Os indivíduos mais promissores estão localizados na população de Minas Gerais, sendo que as progênes

50, 57, 47, 49 e 55 apresentaram o melhor desempenho na comparação das médias das características avaliadas. Há uma baixa diversidade genética nas populações de Mato Grosso do Sul, das quais, as progênies 6 e 9 apresentaram o desempenho mais baixo. Independentemente do método utilizado para analisar a divergência genética entre as progênies, as progênies mais promissoras de MG e as progênies de baixo desempenho de MS sempre foram alocadas no mesmo grupo. Com a introdução dos genótipos procedentes de Minas Gerais, obtém-se um aumento na variabilidade genética, e genótipos de maior desempenho, em alelos favoráveis e em ganho de seleção para as características estudadas.

4. CONCLUSÕES

- Existe variabilidade genética nas populações para as características quantitativas avaliadas.
- Nos métodos de agrupamento e de dispersão utilizados, as progênes foram reunidas em três e nove grupos, respectivamente;
- As progênes oriundas de MG (50, 57, 47, 49 e 55) apresentaram maior diversidade genética, bem como maior desempenho para as características analisadas.
- As progênes 6 e 9, procedentes da região de Bonito e Porto Murtinho/MS apresentaram desempenho inferior para todas as características analisadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, B. J. de; BARROSO, L. C.; ABREU, J. F. Análise multivariada de dados no tratamento da informação espacial uma abordagem com a análise de agrupamentos. **Revista Iberoamericana de Sistemas, Cibernética e Informática**, v.10, p.6-12, 2013.

ARAI, F. K., GONÇALVES, G. G. G.; PEREIRA, S. B.; COMUNELLO, E.; VITORINO, A. C. T.; DANIEL, O. Espacialização da precipitação e erosividade na Bacia Hidrográfica do Rio Dourados - MS. **Engenharia Agrícola**, v. 30, n. 5, p. 922-931, 2010.

ARAÚJO, D.; SEBBENN, A. M.; ZANATTO, A. C. S.; ZANATA, M.; MORAIS, E.; MORAES, M. L. T. de; FREITAS, M. L. M. Variação genética para caracteres silviculturais em progênies de polinização aberta de *Astronium graveolens* Jacq. (Anacardiaceae). **Cerne**, Lavras, v. 20, n. 1, p. 61-68, 2014.

BATISTA, C. M.; FREITAS, M. L. M.; MORAES, M. A.; ZANATTO, A. C. Z.; SANTOS, P. C.; ZANATA, M.; MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Estimativas de parâmetros genéticos e a variabilidade em procedências e progênies de *Handroanthus vellosi*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, n. 71, p. 269-276, 2012.

BERTONHA, L. J.; FREITAS, M. L. M.; CAMBUIM, J.; MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Seleção de progênies de *Myracrodruon urundeuva* baseada em caracteres fenológicos e de crescimento para reconstituição de áreas de Reserva Legal. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 44, n. 109, p. 95-104, 2016.

CANUTO, D. S. de O.; ZARUMA, D. U. G.; MORAES, M. A. de; SILVA, A. M. da; MORAES, M. L. T. de; FREITAS, M. L. M. Caracterização genética de um teste de progênies de *Dipteryx alata* Vog. proveniente de remanescente florestal da Estação Ecológica de Paulo de Faria, SP, Brasil. **Hoehnea**, v. 42, n. 4, p. 641-648, 2015.

CARVALHO, P. E. R. **Canafístula**. Circular Técnica, 2002, Colombo-PR.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: Recomendações Silviculturais, potencialidades e uso de madeira**. Brasília: EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA-CNPQ, 1994. 640 p.

COUTO, H. T. Z. do; BATISTA, J. L. F.; RODRIGUES, L. C. E. Mensuração e gerenciamento de pequenas florestas. **Documentos florestais**. Piracicaba, v.5, p.1-37, 1989.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2006. 585p.

EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA- EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Rio de Janeiro: EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA, p. 412. 2006.

FREITAS, L. B.; BEREL, F. **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande Sul, 2003.

FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M.; ZANATTO, A. C. S.; MORAES, E. Pomar de sementes por mudas a partir da seleção dentro em teste de progênes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 65-72, 2007.

INSTITUTO DE MEIO AMBIENTE DE MATO GROSSO DO SUL. Sistema Interativo de Licenciamento Ambiental – SISLA. Disponível em: <http://sisla.imasul.ms.gov/sisla/pagina_inicial.php>. Acesso em 15 de agosto de 2019.

KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M.; RIBAS, L. A.; GANDARA, F. B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M. B.; VENCOSKY, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v.64, p.93-107, 2003.

KOPP, M. M.; SOUZA, V. Q. de; COIMBRA, J. L. M.; LUZ, V. K. da; MARINI, N.; OLIVEIRA, A. C. Melhoria da correlação cofenética pela exclusão de unidades experimentais na construção de dendrogramas. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.14, n.2, p. 46-53, 2007.

KUBOTA, T. Y. K.; MORAES, M. A. de; SILVA, E. C. B. da; PUPIN, S.; AGUIAR, A. V.; MORAES, M. L. T. de; FREITAS, M. L. M.; SATO, A. S.; MACHADO, J. A. R.; SEBBENN, A. M. Variabilidade genética para caracteres silviculturais em progênes de polinização aberta de *Balfourodendron riedelianum* (Engler). **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 43, n. 106, p. 407-415, 2015.

LOMBARDO, A. **Flora arbórea y arborescente del Uruguay**. Concejo Departamental de Montevideo: Montevideo, 151p, 1964.

LOPEZ, J. A.; JUNIOR, E. L. L.; RIZ, G. F.; ROMBOLD, J. S.; HAHN, W.J. **Arboles comunes del Paraguay**. Cuerpo de Paz: Washington, 425p, 1987.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v.1, p.368, 2002.

MAIA, M. C. C.; RESENDE, M. D. V. de; OLIVEIRA, L. C. de; ÁLVARES, V. de S.; MACIEL, V. T.; LIMA, A. C. Seleção de clones experimentais de cupuaçu para características agroindustriais via modelos mistos. **Revista Agro@mbiente on-line**, Boa Vista, v. 5, n. 1, p. 35- 43, 2011.

MANFIO, C. E.; MOTOIKE, S. Y.; RESENDE, M. D. V. de; SANTOS, C. E. dos; SATO, A. Y. Avaliação de progênes de macaúba na fase juvenil e estimativas de parâmetros genéticos e diversidade genética. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, n. 69, p. 63-68, 2012.

MARTINEZ-CROVETTO, R. **Esquema fitogeográfico de la provincia de Misiones (Republica Argentina)**. Corrientes, v.1, n. 3, p. 171-223, 1963.

MENEGATTI, R. D.; MANTOVANI, A.; NAVROSKI, M. C. Parâmetros genéticos para caracteres de crescimento inicial de progênes de bracatinga em Lages, SC. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 36, n. 87, p. 235-243, 2016.

MORI, E. S.; SEBBENN, A. M.; TAMBARUSSI, E. V.; GURYES, R. P. Sistema de reprodução em populações naturais de *Peltophorum dubium*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 41, n. 99, p. 307-317, 2013.

NAVROSKI, M. C.; TONETT, E. L.; MAZZO, M. V.; FRIGOTTO, T.; PEREIRA, M. de O.; GALVANI, L. V. Procedência e adubação no crescimento inicial de mudas de cedro. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 36, n. 85, p. 17-24, 2016.

POGGIANI, F.; OLIVEIRA, R. E.; CUNHA, G. C. Práticas de Ecologia Florestal. **Documentos Florestais**, Piracicaba, n.16, p.1-44, 1996.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <http://www.R-project.org/>

RESENDE, M. D. V. de. **Inferência Bayesiana e simulação estocástica (amostragem de Gibbs) na estimação de componentes de variância e de valores genéticos em plantas perenes**. Colombo: Embrapa Florestas, 68p. (EMBRAPA Florestas. Documentos, 46), 2000a.

RESENDE, M. D. V. de. **Análise estatística de modelos mistos via REML/BLUP na experimentação em melhoramento de plantas perenes**. Colombo: EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA Florestas, 2000b. 101p. (EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA Florestas. Documentos, 47).

RESENDE, M. D. V. de; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 182-194, 2007.

RIBEIRO, N. P.; SANCHES, C.C.; OLIVEIRA, M. Â. C. de; COSTA, R. B. da. Biodiversidade e conservação de recursos genéticos de espécies arbóreas. **Multitemas**, Campo Grande, v. 21, n. 50, p. 31-49, 2016.

RODRIGUES, H. S.; CRUZ, C.D.; MACÊDO, J. L. V. de; RESENDE, M. D. V. de; LOPES, R.; BORÉM, A. Genetic variability and progeny selection of peach palm via mixed models (REML / BLUP). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 39, n. 2, p. 165-173, 2017.

SCARIOT, A. Panorama da biodiversidade brasileira. In: GANEM, 2011. **Conservação da biodiversidade: legislação e políticas públicas**. Brasília: Ed. Câmara, 2011. 437p.

SEBBENN, A. M.; PONTINHA, A. A. S.; GIANNOTTI, E.; KAGEYAMA, P. Y. Variação genética em cinco procedências de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. no sul do estado de São Paulo. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 109-124, 2003.

SEBBENN, A. M. Sistemas de reprodução em espécies tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamentos ambientais. In: HIGA, A.R.; SILVA, L.D. (Coord.). **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF do Paraná, p.93-138, 2006.

SENNA, S. do N.; FREITAS, M. L. M.; ZANATTO, A. C. S.; MORAES, E.; ZANATA, M.; MORAES, M. L. T. de; SEBBENN, A. M. Variação e parâmetros genéticos em teste de progênes de polinização livre de *Peltophorum dubium* (Sprengel) taubert em Luiz Antonio -SP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 40, n. 95, p. 345-352, 2012.

SHIMIZU, J. Y.; GARRIDO, L. M. A. G. GARRIDO, M. A.; CARVALHO, P. E. R.; CARPANEZZI, A.A. Variações inter e intrapopulacionais em Canafístula. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.14, p.19-27, 1987.

SILVA, L. E. **Variabilidade e estimação de parâmetros genéticos via modelos mistos em canafístula**. 54p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD. Dourados, 2015.

SILVA, L. G. C. da; MOREIRA, J. F. L.; HOLANDA, H. B. B.; ROCHA, E. L. B.; DIAS, P. C. Evaluation of carnauba progenies and estimates of genetic parameters in the juvenile phase. **Rev. Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 4, p. 917-925, 2018.

SIQUEIRA, C. M. F., NOGUEIRA, J. C. B., KAGEYAMA, P. Y. Conservação dos recursos genéticos ex situ do cumbaru *Dipteryx alata* Vog. – Leguminosae. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 231-243, 1993.

TERRA, M. T. C.; CARVALHO, R. P. de; DANIEL, O.; VIEIRA, A. V. G.; OLIVEIRA, R. S. S. F. de; GAMA, T. B. Comparação de crescimento entre procedências e progênes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) visando o estabelecimento de pomar de plantas superiores. In: **Encontro de Ensino Pesquisa e Extensão**, 8. Dourados: UFGD. 2014.

VASCONCELOS, E. S. de; CRUZ, C. D.; BHERING, L. L.; RESENDE JÚNIOR, M. F. R. Método alternativo para análise de agrupamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 10, p. 1421-1428, 2007.

XAVIER, C. N.; SILVA, C. E. S. da; SANTOS, P. V. dos; CARVALHO, A. M. de; NASCIMENTO, A. M. do; BRANCALION, P. H. S. Growth Stress in *Peltophorum dubium* and its Correlation with the Growth Variables. **Floresta e Ambiente**, v. 25, n. 1, p. 1-7, 2018.

ZARUMA, D. U. G.; CANUTO, D. S. de O.; PUPIN, S.; CAMBUIM, J.; SILVA, A. M. da; MORI, E. S; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. A. Variabilidade genética em procedências e progênes de *Dipteryx alata* vogel para fins de conservação genética e produção de sementes. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 43, n. 107, p. 609-615, 2015.

CAPÍTULO II

Propagação *in vitro* da canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.)

Propagação *in vitro* da canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.)**RESUMO**

A cultura de tecidos representa uma das formas mais viáveis de propagação de matrizes selecionadas de espécies florestais, no entanto, os protocolos de estabelecimento *in vitro* e subsequentes etapas para a produção de plantas viáveis pode variar bastante entre diferentes espécies. O objetivo do trabalho foi estabelecer um protocolo eficiente de propagação clonal para a canafístula a partir da cultura de tecidos, passando pelas etapas de estabelecimento, multiplicação e enraizamento *in vitro*. Foram realizados três experimentos. No primeiro, foram testados o tipo de explante (segmento apical e nodal), e tempo de desinfestação (cinco e dez minutos) em hipoclorito de sódio (2,5%), no estabelecimento *in vitro*, o qual se mostrou eficiente no estabelecimento de explantes de canafístula, com superioridade para ápices caulinares. A utilização de hipoclorito de sódio foi eficaz no controle de contaminação bacteriana e fúngica em ápices caulinares de canafístula, sem influência do tempo de desinfestação. No segundo experimento, foram testadas concentrações de Zeatina (ZEA) 0; 2,5 e 5,0 mg L⁻¹ em meio Wood Plant Medium acrescido de 1,0 g L⁻¹ de carvão ativado, visando a multiplicação de segmentos apicais. Foram obtidas altas taxas de sobrevivência e emissão de brotos, sugerindo que as concentrações de zeatina não apresentaram efeito na sobrevivência e formação de brotos de explantes de canafístula. No experimento de enraizamento, segmentos nodais caulinares foram submetidos a diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB): 0; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹, onde não foi observada protrusão de raízes aos 40 dias para os tratamentos, no entanto foi observada elevada formação de calos.

PALAVRAS-CHAVE: explante, espécie nativa, micropropagação, produção de mudas.

***In vitro* propagation of canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.)**

ABSTRACT

Tissue culture represents one of the most viable forms of propagation of selected forest species matrices, however, *in vitro* establishment protocols and subsequent steps for producing viable plants can vary greatly between different species. The objective of this work was to establish an efficient clonal propagation protocol for canafístula from tissue culture, going through the establishment, multiplication and rooting steps *in vitro*. Three experiments were performed. In the first one, explant type (apical and nodal segment) and disinfestation time (five and ten minutes) in sodium hypochlorite (2.5%) were tested in the *in vitro* establishment, which was efficient in the establishment of canafístula explants, with superiority to stem apices. The use of sodium hypochlorite was effective in controlling bacterial and fungal contamination in canafístula stem apices, without influence of disinfestation time. In the second experiment, Zeatin (ZEA) concentrations were tested 0, 2,5 and 5,0 mg L⁻¹ in Wood Plant Medium plus 1.0 g L⁻¹ of activated charcoal for multiplication of apical segments. High survival and shoot emission rates were obtained, suggesting that zeatin concentrations had no effect on survival and shoot formation canafístula explant. In the rooting experiment, stem nodal segments were submitted to different concentrations of indolbutyric acid (IBA): 0; 0.5 and 1.0 mg L⁻¹, where no root protrusion was observed at 40 days for treatments, however high formation callus was observed.

KEY-WORDS: explant, native species, micropropagation, seedling production.

1. INTRODUÇÃO

A canafístula é uma leguminosa arbórea de grande porte, da família Caesalpinaceae, com grande potencial para reflorestamento devido sua ocorrência natural em diversos tipos de solo, com baixa exigência quanto à fertilidade química do solo e apresenta plasticidade adaptativa (CARVALHO, 1994). Tendo em vista a necessidade de ampliação da base de dados de espécies nativas e genótipos potenciais para cada região do país, têm-se buscado conhecer mais a respeito da silvicultura de espécies nativas que tenham crescimento rápido, aliado a alta produtividade de madeira (BERTOLINI et al., 2015).

A propagação da maioria das espécies florestais ocorre via semente, a qual gera variabilidade genética, resultado da recombinação gênica ou das diversas possibilidades de recombinação dos gametas femininos e masculinos durante a fecundação (GAUER e CAVALLI-MOLINA, 2000). Devido à recombinação gênica na reprodução sexuada, resultante da polinização livre, genótipos elite correm o risco de deixar de transmitir suas características superiores à sua descendência. Entretanto, quando ocorre multiplicação por autofecundação ou via propagação vegetativa este risco é quase nulo (RIBAS et al., 2005). Dentre as formas de propagação vegetativa, a propagação via cultura de tecidos pode ser uma ferramenta valiosa para obter mudas para reflorestamento de áreas perturbadas, bem como gerenciar espécies ameaçadas de extinção (SOUZA et al., 2017).

A cultura de tecidos representa uma das formas mais viáveis de multiplicação de matrizes selecionadas de espécies florestais (OLIVEIRA et al., 2013). Contudo, os protocolos de estabelecimento *in vitro* e subsequentes etapas para a produção de plantas viáveis pode variar bastante entre diferentes espécies (RAM et al., 2012). Durante o processo de micropropagação é importante obter taxas satisfatórias de multiplicação com o mínimo de variação de explante para explante (MORAIS et al., 2012), sendo os principais limitantes para o sucesso dessa técnica, o genótipo, a desinfestação superficial e a superação de recalcitrância dos explantes (BORGES et al., 2012). Estando *in vitro*, a recalcitrância de espécies é a incapacidade de as plantas responderem a cultura de tecidos e, de acordo com Carra et al. (2019), pode estar relacionada a uma variedade de fatores desencadeantes. Dentre estes fatores pode-se citar os genéticos

(MCCOWN, 2000), a fisiologia das plantas doadoras, a manipulação *in vitro* e estresses da cultura *in vitro* (BENSON, 2000).

A desinfestação dos explantes é um dos fatores mais críticos para o estabelecimento da cultura asséptica *in vitro* (BRONDANI et al., 2009), sendo imprescindível nesta etapa o controle da contaminação dos explantes, que pode variar de acordo com a espécie estudada em função dos microrganismos endofíticos específicos e das condições sanitárias das sementes (SOUZA et al., 2017).

Para o cultivo *in vitro*, o principal meio de cultura é o MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), no entanto para espécies lenhosas o WPM (Woody Plant Medium) (LLOYD e MCCOWN, 1981) têm sido muito utilizado (OLIVEIRA et al., 2013). MS e WPM possuem diferentes concentrações de sais basais utilizados para induzir e manter a embriogênese e organogênese, segundo Costa (2019), o meio de cultura MS tem sido muito utilizado em trabalhos com espécies da família Fabaceae.

Na etapa de multiplicação, os fatores mais importantes são o tipo e a concentração de citocinina, sendo estas indispensáveis para a superação de dominância apical e indução de proliferação de gemas axilares (BRONDANI et al., 2009). As espécies respondem diferentemente a tipo e concentrações de citocinina, portanto, o sucesso nesta etapa está nas tentativas e erros, e nas necessidades e/ou problemas encontrados durante os testes. A concentração de citocinina utilizada deve induzir uma taxa de proliferação aceitável sem causar o amarelecimento ou malformação dos brotos (INÁCIO, 2010). A Zeatina é uma citocinina natural (CID e TEIXEIRA, 2014), enquanto a 6-benzilaminopurina (BAP) é sintética e utilizada em diferentes espécies na cultura de tecidos (SOARES, 2011).

O enraizamento é uma etapa que define o resultado final da micropropagação, e consiste na formação de raízes adventícias na base das microestacas. No enraizamento *in vitro*, as raízes são induzidas em meio de cultura sob condições laboratoriais, sendo em última fase, as plantas transplantadas para substratos e acondicionadas em casa de vegetação para a aclimatização. Neste caso, tem-se melhor controle das condições de cultura obtendo-se elevados percentuais de enraizamento (LEITZKE et al., 2009). Em geral, a composição do meio de cultura e o tipo e concentrações de auxina são as variáveis que mais influenciam o enraizamento, sendo as respostas dependentes do genótipo (OLIVEIRA et al., 2013).

As auxinas mais utilizadas para promover a indução de raízes e melhorar o sistema radicular formado, são o ácido indolbutírico (AIB), o ácido naftaleno acético

(ANA) e o ácido 3-indolacético (AIA) (SANTOS-SEREJO et al., 2006; SAINIA). Borges et al. (2012), relatam que o ácido indolbutírico (AIB) é a auxina sintética mais empregada com sucesso no enraizamento *in vitro* de diferentes espécies, pois estimula a iniciação radicial promovendo aumento da porcentagem e a uniformidade do enraizamento, possibilitando a redução do tempo de permanência na fase de produção de mudas, além de não causar fitotoxicidade aos explantes em uma larga faixa de concentração (PIZZATTO et al., 2011).

A geração de protocolos é primordial para a micropropagação, uma vez que cada espécie responde diferentemente às condições de estabelecimento, multiplicação, enraizamento e de aclimatização (HUA et al., 2014). No caso da canafístula, as informações sobre a micropropagação da espécie ainda são escassas. Estudos realizados por Bassan (2006), Curti (2011) e Cândido (2013) não obtiveram um protocolo eficiente de propagação clonal a partir da cultura de tecidos, embora afirmem que a espécie tem potencial para a micropropagação e ressaltem a necessidade de novos estudos.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi estabelecer um protocolo eficiente de propagação clonal para a canafístula a partir da cultura de tecidos, passando pelas etapas de estabelecimento, multiplicação e enraizamento *in vitro*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Estabelecimento *in vitro*

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados-MS, no período de abril a agosto de 2017.

Para a obtenção das plantas doadoras de explantes, as sementes foram coletadas de matrizes localizadas nos municípios de Angélica e Ivinhema (MS) e submetidas à escarificação térmica em água quente (95 °C), por 24 horas (OLIVEIRA et al., 2003). A semeadura foi realizada em tubetes contendo substrato florestal. Aos 85 dias após a semeadura, ramos caulinares com aproximadamente 60 - 80 mm foram excisados.

No laboratório, os ramos foram lavados em água corrente e suas folhas retiradas. Em câmara de fluxo laminar, os ramos vegetativos foram esterilizados superficialmente por meio de lavagem com álcool 70% (1 minuto) e imersão em solução de hipoclorito de sódio 2,5%, sob agitação constante, por cinco e 10 minutos. Para cada 500 mL de solução de hipoclorito foi adicionado 0,5 mL de detergente (Tween 80). Após a esterilização superficial foram realizadas três lavagens com água estéril, seguida da preparação e inoculação dos explantes em meio de cultura Wood Plant Medium - WPM (LLOYD e MCCOWN, 1980), acrescido de 5,0 mg L⁻¹ de BAP (6-benzilaminopurina), 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol e 6 g L⁻¹ de ágar, sendo o pH ajustado para 5,8 antes da adição do ágar. O meio de cultura foi esterilizado em autoclave a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. Após a inoculação dos explantes, os frascos de cultivo (tubos de ensaio) foram mantidos em sala de crescimento com temperatura controlada de 25 ± 2°C em período de escuro por 7 dias e, posteriormente, foram submetidos à luminosidade com densidade de fluxo de fótons de 45 µmol.m².s e fotoperíodo de 16 horas.

Os tratamentos foram o tipo de explante (um nó com a gema apical e segmento nodal com duas gemas laterais) e o tempo de desinfestação (5 e 10 minutos) em hipoclorito de sódio (2,5%), num fatorial 2x2, totalizando quatro tratamentos em delineamento inteiramente casualizado. Cada tratamento foi constituído de três repetições e cada repetição constituída de oito tubos de ensaio com um explante cada.

As avaliações foram realizadas aos 7 e 41 dias após a inoculação. As características analisadas aos 7 dias foram: porcentagem de contaminação fúngica

(FUNG) e bacteriana (BACT), e explantes oxidados (OXID). Aos 41 dias foram analisadas: porcentagem de explantes estabelecidos (SOB), número médio de folhas por brotação (NF/B), número médio de brotos por explante (NB) e comprimento médio das brotações (CB), presença ou ausência de calos (CALO). Durante as avaliações, os tubos com contaminações e com explantes totalmente oxidados foram descartados.

Os dados obtidos foram avaliados por meio da análise de deviance, sendo utilizado o modelo linear generalizado com famílias Binomial e Poisson.

Variáveis binomiais relevantes na área biológica são aquelas provenientes de experimentos do tipo dose-resposta, em que os indivíduos sobrevivem, ou não, em função da dosagem do elemento adverso (produto químico, nível de estresse etc). Neste caso, geralmente são atribuídos, por exemplo, os valores 1 para os indivíduos sobreviventes e zero para os mortos (RESENDE e BIELE, 2002).

Para as variáveis SOB, OXID, FUNG e BACT foi utilizado o modelo de regressão Binomial com função de ligação logit. Para as variáveis NB e NF/B foi utilizado o modelo de regressão Poisson com função de ligação log. Para verificar a significância de cada fator foi utilizando o teste Qui-Quadrado na análise de deviance. Como os dois fatores (Explante e Tempo) possuem apenas dois níveis, a análise de deviance já é conclusiva para comparação entre os níveis. Para a variável CB foi realizada a análise de variância sendo utilizando a transformação Box Cox.

As análises estatísticas foram realizadas no software R (R CORE TEAM, 2018) e para as análises gráficas foram utilizadas as bibliotecas ggplot2 (WICKHAM, 2016).

2.2. Multiplicação e enraizamento *in vitro*

Os experimentos visando a multiplicação e enraizamento da canafístula foram desenvolvidos no período de agosto de 2018 a março de 2019.

O material vegetal utilizado nas etapas descritas a seguir foi oriundo de plântulas advindas de sementes germinadas *in vitro*. As sementes foram coletadas de matrizes nos municípios de Angélica e Ivinhema (MS) e submetidas à escarificação mecânica na ponta oposta ao hilo, com uso de lixa. O meio de cultivo utilizado, bem como os protocolos para germinação e estabelecimento *in vitro* estão descritos no item 2.1.

2.2.1. Multiplicação *in vitro*

Nesta fase foram utilizados segmentos nodais caulinares, com duas gemas laterais sem folhas e o ápice excisado com aproximadamente 1,0 cm, oriundas do cultivo *in vitro*. Os fatores estudados foram três concentrações de Zeatina (ZEA), em delineamento inteiramente casualizado, totalizando três tratamentos com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um frasco de cultivo de 260 mL, contendo 50 mL de meio de cultura com quatro explantes cada. O meio de cultura utilizado foi o meio WPM, acrescido de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão ativado, zeatina de acordo com o tratamento, 30 g L^{-1} de sacarose, 100 mg L^{-1} de mio-inositol e 6 g L^{-1} de ágar, sendo o pH ajustado para 5,8 antes da adição do ágar. O meio de cultura foi esterilizado em autoclave a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. Após a inoculação, os frascos com explantes foram mantidos em sala de crescimento com condições controladas conforme descrito no item 2.1.

As avaliações foram realizadas após 40 dias de cultivo, sendo analisadas: sobrevivência (SOB), explantes que emitiram brotações adventícias (EBA), explantes que formaram calo (CALO), número médio de brotações por explante (B/E), comprimento médio das brotações (CB) e número médio de folhas por brotação (NF).

Os resultados foram avaliados por meio da análise de deviance, utilizando o modelo linear generalizado com famílias Binomial e Poisson. Para as variáveis SOB, CALO e EB foi utilizado o modelo de regressão Binomial com função de ligação logit. Para as variáveis NB/E e NF/B foi utilizado o modelo de regressão Poisson com função de ligação log. Para verificar a significância de cada fator foi utilizando o teste Qui-Quadrado na análise de deviance. Para a variável CB foi proposto a análise de variância sendo aplicado o teste Tukey para comparação entre os níveis de Zeatinina.

As análises estatísticas foram realizadas no software R (R CORE TEAM, 2018) e para as análises gráficas foram utilizadas as bibliotecas ggplot2 (WICKHAM, 2016).

2.2.2. Enraizamento *in vitro*

Na fase de enraizamento foram utilizados segmentos nodais caulinares, com duas folhas e a gema apical, de cerca de 2,0 cm, oriundas do cultivo *in vitro*. Os fatores estudados foram a concentração de ácido indolbutírico (AIB): 0; 2,5 e $5,0 \text{ mg L}^{-1}$, em delineamento inteiramente casualizado, totalizando três tratamentos com quatro

repetições, sendo cada repetição constituída por um frasco de cultivo de 260 mL, contendo 50 mL de meio, com quatro explantes cada. O meio de cultura utilizado foi o meio WPM acrescido de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de carvão ativado, AIB de acordo com o tratamento, 30 g L^{-1} de sacarose, 100 mg L^{-1} de mio-inositol e 6 g L^{-1} de ágar, sendo o pH ajustado para 5,8 antes da adição do ágar. O meio de cultura foi esterilizado em autoclave a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. Após a inoculação, os frascos com explantes foram mantidos em sala de crescimento com condições controladas, descrito no item 2.1.

As avaliações foram realizadas após 40 dias de cultivo, sendo analisadas: sobrevivência (SOB), explantes que emitiram raízes (ER), explantes que formaram calo (CALOS), número médio de raízes (NMR) e comprimento médio das raízes (CR).

Os resultados foram avaliados por meio da análise de deviance, através do modelo linear generalizado com família Binomial e função de ligação logit.

As análises estatísticas foram realizadas no software R (R CORE TEAM, 2018) e para as análises gráficas foram utilizadas as bibliotecas ggplot2 (WICKHAM, 2016).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estabelecimento *in vitro*

Pela análise de deviance foram detectadas diferenças significativas a 1% de probabilidade entre o tipo de explante para as variáveis sobrevivência, oxidação, contaminação fúngica e bacteriana e número de folhas por broto. Para o fator tempo de desinfestação, somente oxidação apresentou diferença significativa. A interação explante e tempo de desinfestação mostrou-se significativa para a variável número de folhas por broto (Tabela 1). Os resultados sugerem que a escolha do explante refletiu nos resultados apresentados.

Tabela 1. Valores de p para sobrevivência (SOB), oxidação (OXID), contaminação fúngica (FUNGO), contaminação bacteriana (BACT), número de broto (NB) e número de folhas por broto (NF/B)

F.V.	SOB	OXID	FUNGO	BACT	NB	NF/B
EXPLANTE	< 0,0001**	0,0005**	0,0013**	1	0,0229**	< 0,0001**
TEMPO DES.	0,0537	0,0003**	0,6821	1	0,3748	0,2154
E X T	0,4289	1	0,9999	1	0,1852	0,0001**

** (significativo a $p < 0,01$)

Na Figura 1 são apresentados os dados de sobrevivência de explantes em função do tipo de explante e tempo de desinfestação estudados. No teste Qui-Quadrado da análise de deviance (Tabela 1), apenas o fator explante foi significativo. Pode-se verificar na Figura 1 que os explantes apicais apresentaram frequência de morte menor que segmentos nodais (coluna “0”) e frequência de estabelecimento (coluna “1”), superior ao estabelecimento de segmentos nodais. Em termos de porcentagem foi obtido 95,8% de estabelecimento de explantes apicais e 60,4% de estabelecimento de segmentos nodais. O tempo de desinfestação em hipoclorito de sódio não afetou o estabelecimento de explantes. Pode-se verificar no gráfico que a frequência de sobrevivência dos explantes na coluna “1” para ambos os tempos de desinfestação estudados, variando entre 70% e 85%.

Flôres et al. (2011) observaram elevadas taxas de sobrevivência e estabelecimento (98%) *in vitro* para a mesma espécie.

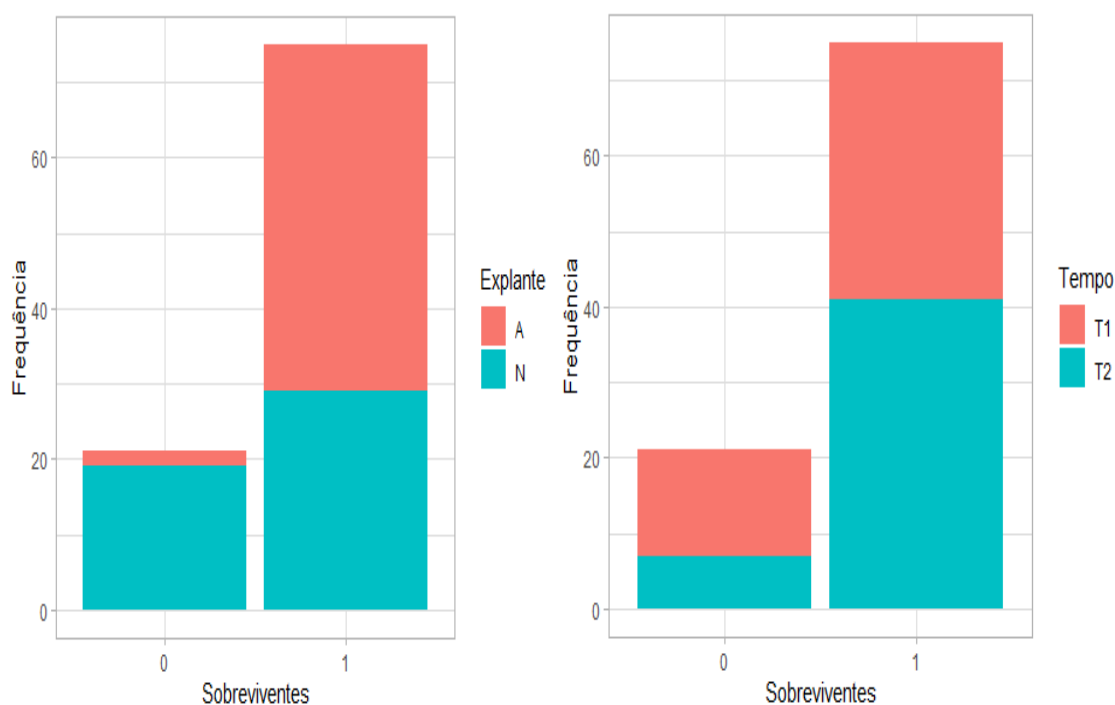


Figura 1. Estabelecimento de explantes de canafístula oriundos de ápice (A) e segmento nodal (N) e em função do tempo de desinfestação em hipoclorito de sódio por 5 minutos (T1) e 10 minutos (T2) aos 07 dias de cultivo. Dourados/MS, 2017.

Na análise da oxidação, os fatores explante e tempo de desinfestação foram significativos a 1% de probabilidade, de acordo com o teste Qui-Quadrado na análise de deviance (Tabela 1). Na Figura 2, verifica-se que praticamente não ocorreu oxidação dos explantes estudados (coluna “0”), não tendo sido verificada a ocorrência de oxidação em explantes apicais, o que ocorreu para segmentos nodais em baixa porcentagem (coluna “1”). Ainda, a desinfestação com hipoclorito de sódio a 10’ foi superior à desinfestação por 5’, uma vez que não ocorreu oxidação de explantes no maior tempo de desinfestação.

De acordo com Junior Fermino et al. (2009), as espécies arbóreas apresentam dificuldade para o estabelecimento *in vitro* devido à grande diversidade de microrganismos contaminantes. De acordo com Bassan et al. (2006), a ausência de oxidação nos explantes de canafístula se deve, provavelmente, à reduzida concentração de fenóis nos tecidos de canafístula ou pode ser atribuída à origem seminal dos explantes, uma vez que vários autores correlacionam a formação de compostos fenólicos em culturas *in vitro* à idade do explante.

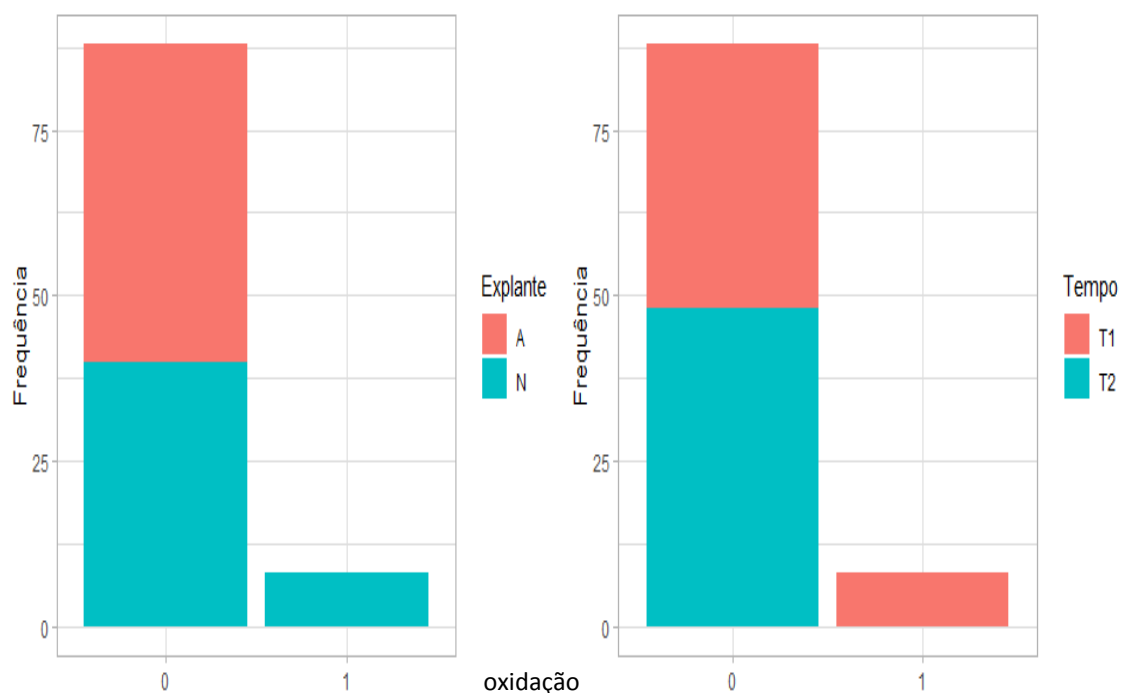


Figura 2. Oxidação de explantes de canafístula oriundos de ápice (A) e segmento nodal (N) e em função do tempo de desinfestação em hipoclorito de sódio por 5 minutos (T1) e 10 minutos (T2) aos 07 dias de cultivo. Dourados/MS, 2017.

Na avaliação da contaminação dos explantes por fungos e bactérias, podemos verificar que não ocorreu contaminação fúngica em ápices caulinares (coluna “1”), e para segmentos nodais, a contaminação foi baixa, correspondendo a aproximadamente 14% de segmentos nodais contaminados. Os tempos de desinfestação, 5 e 10’ de exposição ao hipoclorito de sódio não foram significativos para a característica estudada, tendo ambos se mostrado eficientes para controle da contaminação fúngica, que ocorreu em baixa porcentagem para ambos os tempos de exposição, em torno de 6 e 5%, respectivamente (Figura 3).

Não ocorreu contaminação bacteriana nos explantes submetidos aos tratamentos estudados, como pode-se verificar na figura 4.

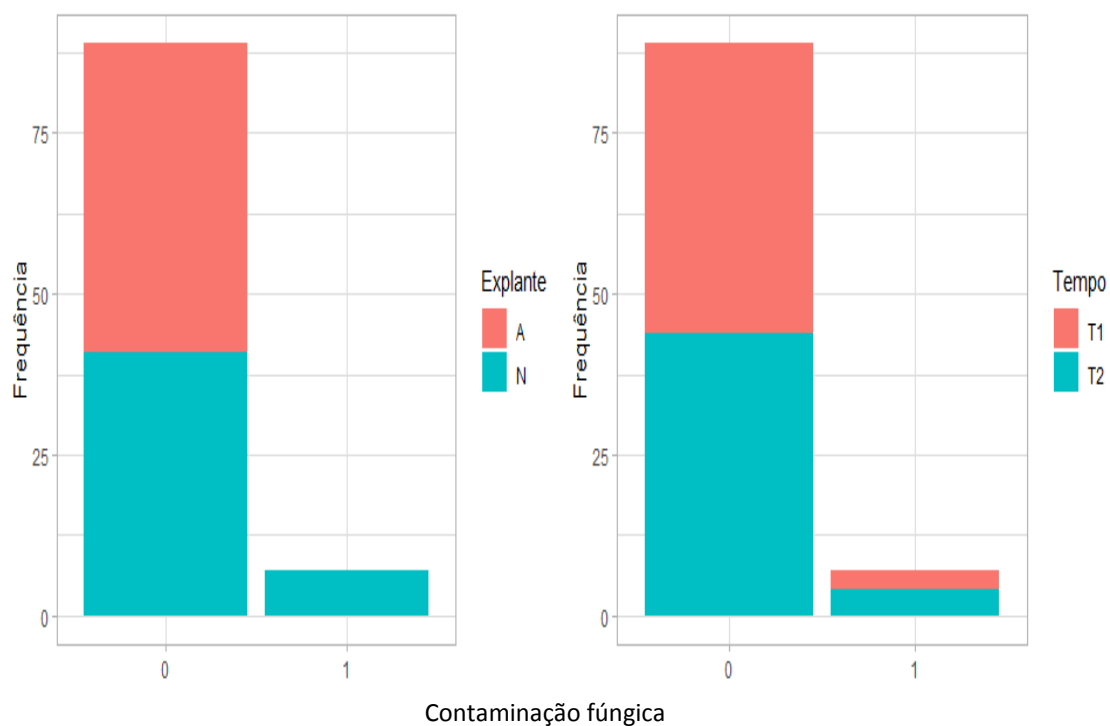


Figura 3. Contaminação Fúngica de explantes de canafístula oriundos de ápice (A) e segmento nodal (N), e em função do tempo de desinfestação em hipoclorito de sódio por 5 minutos (T1) e 10 minutos (T2) aos 07 dias de cultivo. Dourados/MS, 2017.

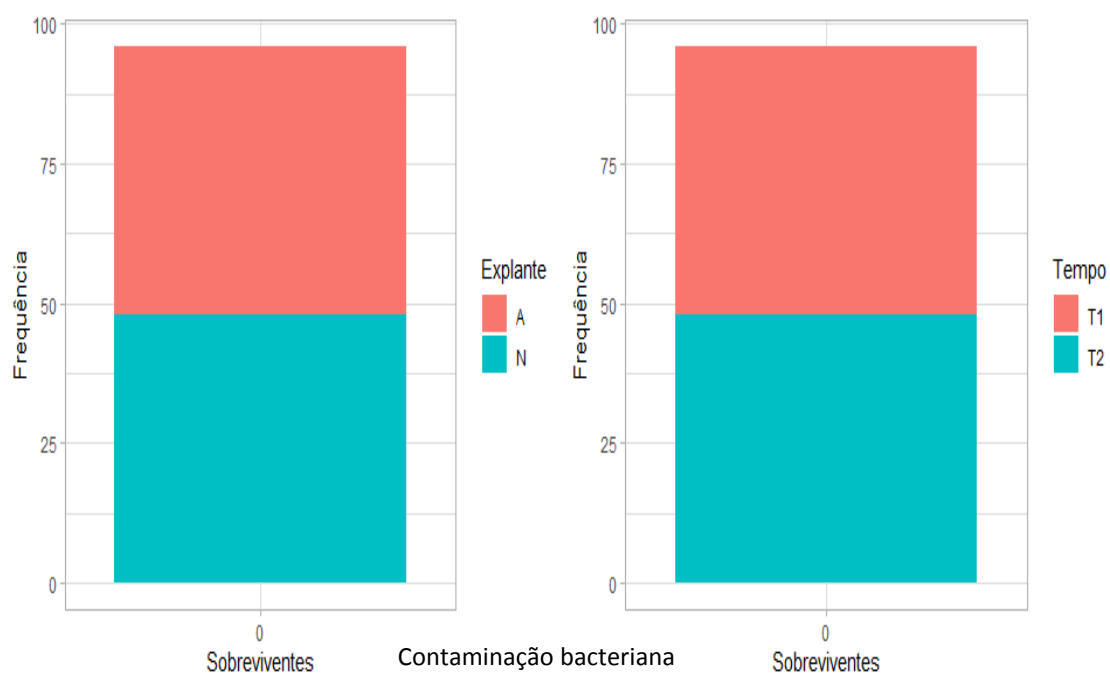


Figura 4. Contaminação Bacteriana de explantes de canafístula oriundos de ápice (A) e segmento nodal (N), e em função do tempo de desinfestação em hipoclorito de sódio por 5 minutos (T1) e 10 minutos (T2) aos 07 dias de cultivo. Dourados/MS, 2017.

Para número de brotações emitidas por explante, apenas o fator explante foi significativo de acordo com o teste Qui-Quadrado na análise de deviance (Tabela 1). A quantidade de brotos emitidos em explantes nodais (36,5%) foi menor e estatisticamente diferente da quantidade de brotos em explantes apicais, mostrando superioridade de explantes apicais para a variável. O tempo de desinfestação não teve efeito significativo sobre o número de brotos (Figura 5).

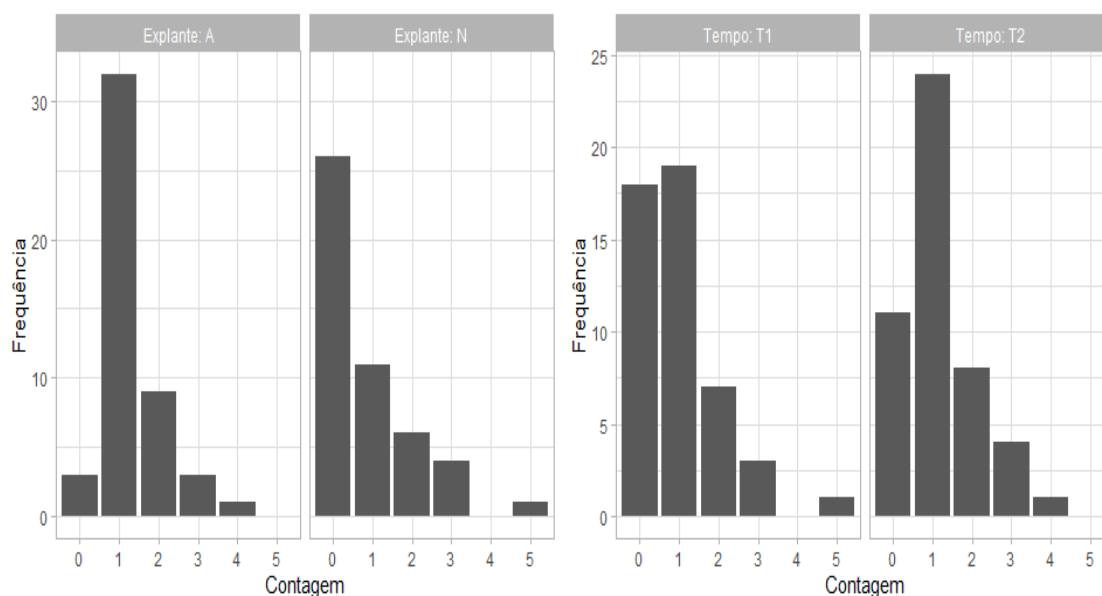


Figura 5. Número de brotos emitidos por explante, considerando o tipo de explante, ápice (A) e segmento nodal (N) e o tempo de desinfestação em hipoclorito de sódio por 5 minutos (T1) e 10 minutos (T2) aos 07 dias de cultivo. Dourados/MS, 2017.

De acordo com o teste Qui-Quadrado na análise de deviance, a interação tipo de explante e tempo de desinfestação foi significativa (Tabela 1). A quantidade de folhas em explantes de segmentos nodais é 96% menor em relação aos explantes apicais. Para os explantes apicais, não houve diferença significativa entre os tempos de desinfestação. Para explantes de segmentos nodais, a quantidade de folhas quando os explantes são submetidos a dez minutos de desinfestação em hipoclorito de sódio é 9,5 vezes maior do que no tempo de desinfestação de cinco minutos (Tabela 2 e Figura 6).

Tabela 2. Número de folhas totais emitidas por explantes de canafístula, considerando o tipo de explante, ápice (A) e segmento nodal (N), e o tempo de desinfestação em hipoclorito de sódio por 5 minutos (T1) e 10 minutos (T2) aos 41 dias de cultivo

Tipo de explante	Tempo de exposição		TOTAL
	5'	10'	
A	55	52	107
N	2	19	21
TOTAL	57	71	128

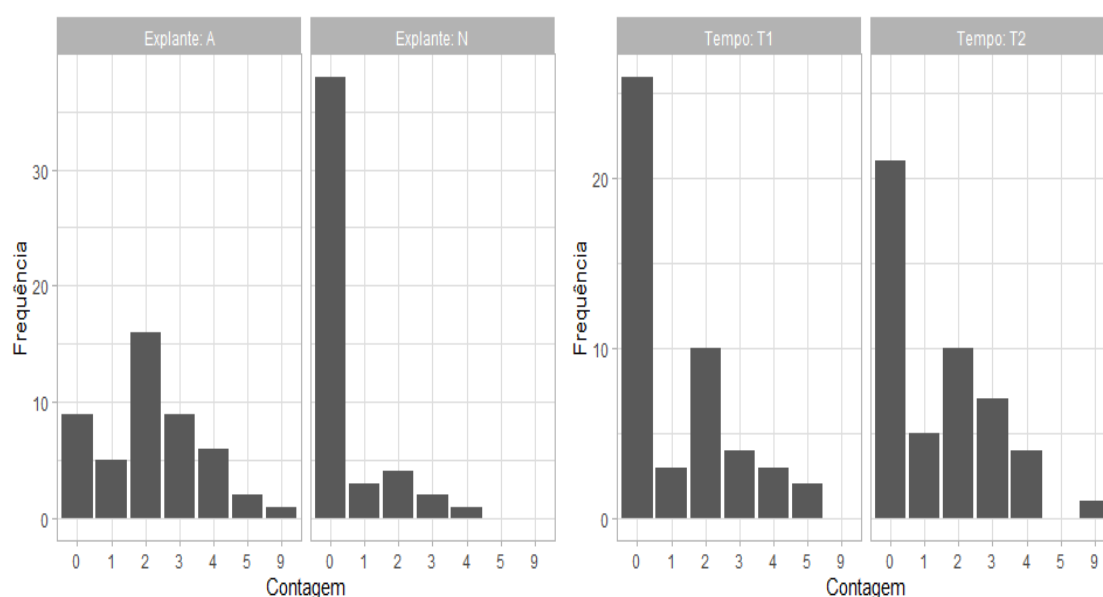


Figura 6. Número de folhas emitidas por explante de canafístula, considerando o tipo de explante, ápice (A) e segmento nodal (N), e o tempo de desinfestação em hipoclorito de sódio por 5 minutos (T1) e 10 minutos (T2) aos 41 dias de cultivo. Dourados/MS, 2017.

Para comprimento de brotos, somente o fator explante foi significativo pelo teste F, onde ápice foi superior a segmentos nodais, gerando brotações maiores (Figura 7).

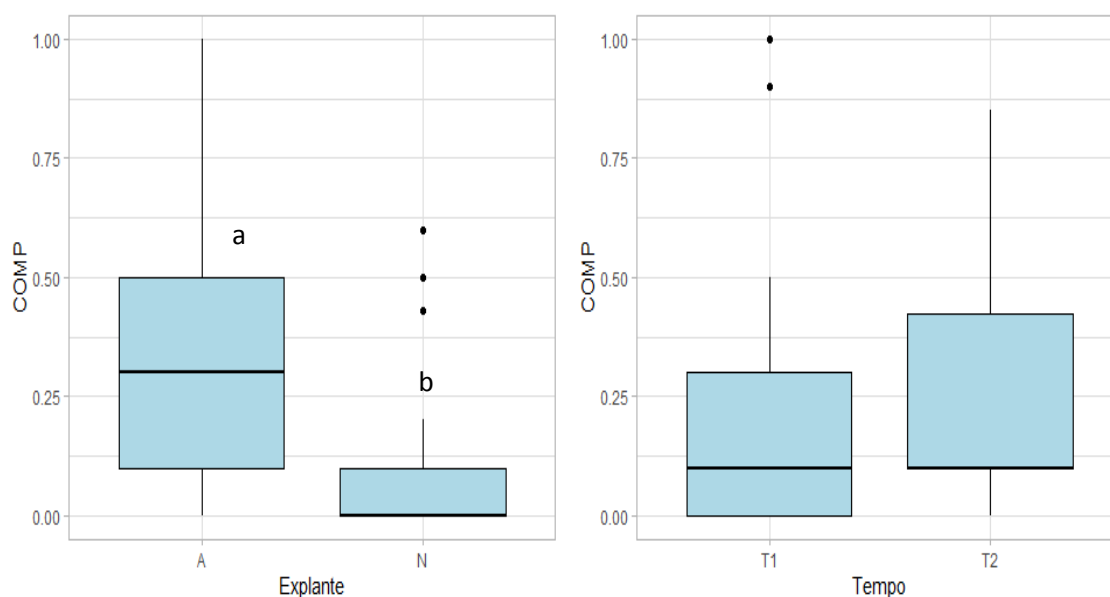


Figura 7. Comprimento de brotos de canafístula, considerando o tipo de explante, ápice (A) e segmento nodal (N) e o tempo de desinfestação em hipoclorito de sódio por 5 minutos (T1) e 10 minutos (T2) aos 07 dias de cultivo. Dourados/MS, 2017. (Letras iguais não diferem entre si pelo teste F a 1% de probabilidade).

3.2. Multiplicação *in vitro*

Foi realizada análise de deviance para as variáveis sobrevivência (SOB), formação de calos (CALO), explantes que emitiram brotações (EB), número de brotos por explante (NB/E) e número de folhas por brotação, onde verificou-se através do teste do qui-quadrado, que o fator de variação Zeatina não foi significativo para nenhuma das variáveis analisadas na fase de multiplicação *in vitro*. As figuras abaixo ilustram as respostas de explantes de canafístula submetidos a concentrações de zeatina no meio de cultivo WPM.

Na Figura 8 são apresentados os dados de sobrevivência de explantes para os tratamentos, demonstrando que a utilização do regulador de crescimento vegetal nas concentrações estudadas não se mostrou eficiente para a indução de brotações.

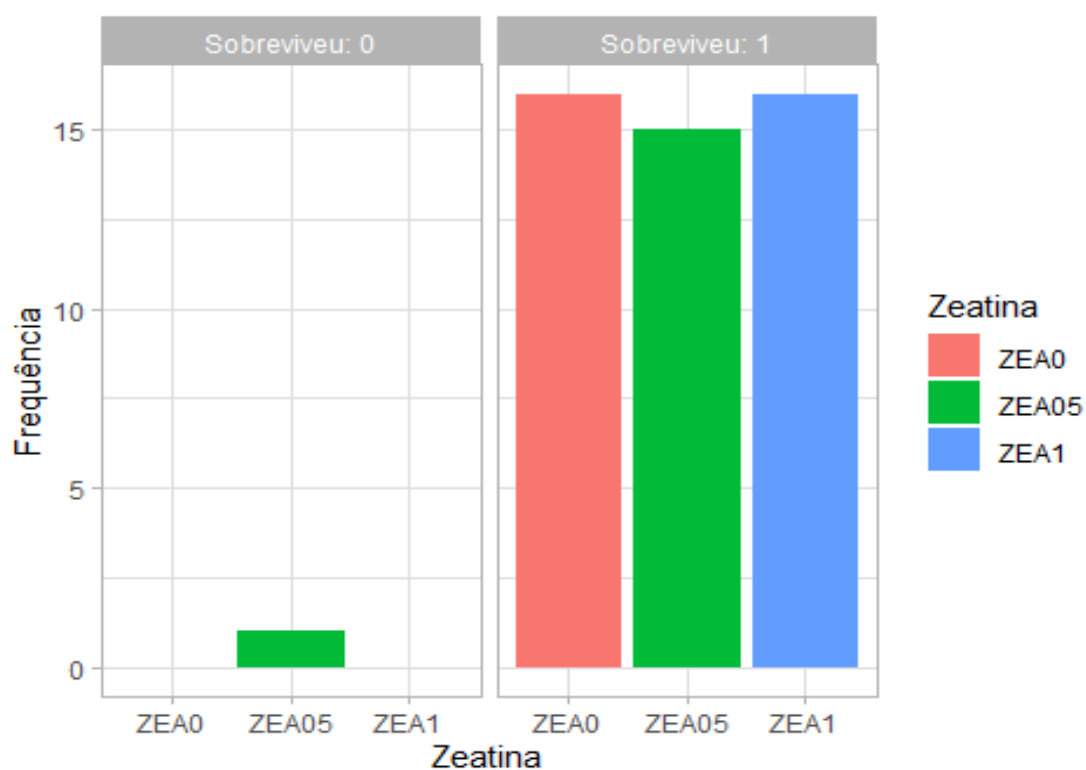


Figura 8. Sobrevivência de explantes de canafístula submetidos a concentrações de zeatina: ausência (ZEA0); 0,5 mg L⁻¹ de zeatina (ZEA05) e 1,0 mg L⁻¹ de zeatina (ZEA1). Dourados/MS, 2019.

Observou-se ainda, que a utilização de zeatina e o aumento em sua concentração no meio de cultura favoreceu a formação de calos friáveis na base dos segmentos caulinares (Figura 9). Embora tenha sido constatado que o uso de carvão ativado (1g L⁻¹) promova menor formação de calos, na presença da citocinina, ocorreu maior formação de calos na base dos explantes (dados não apresentados).

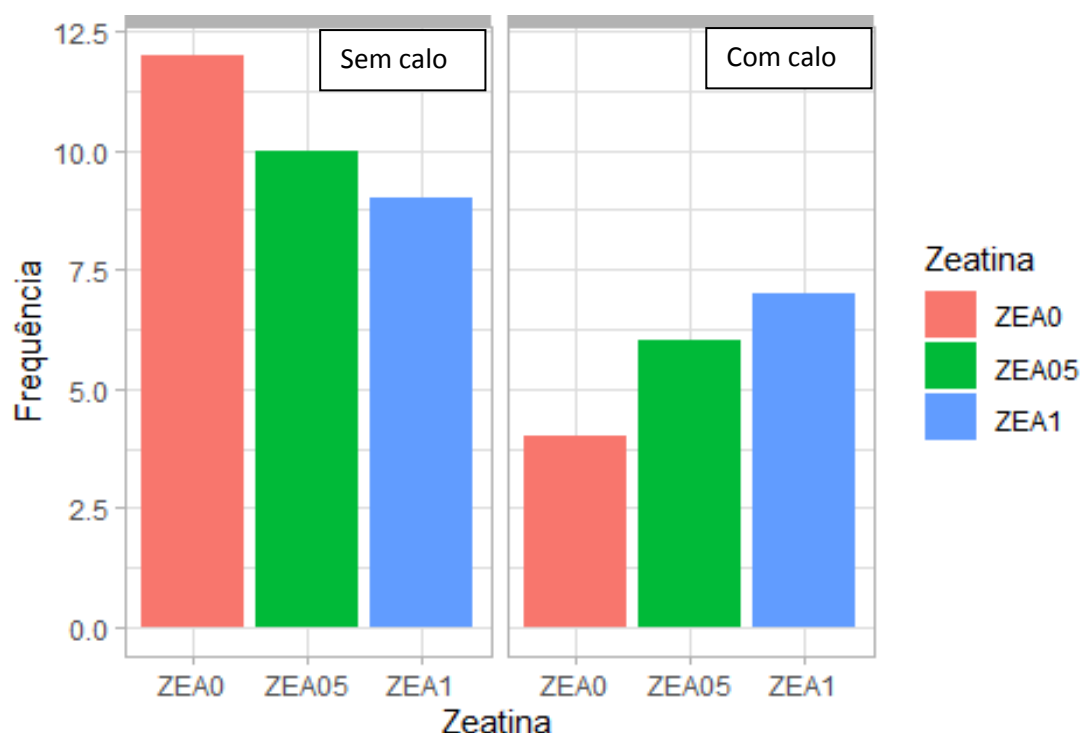


Figura 9. Formação de calos em explantes de canafístula submetidos a concentrações de zeatina: ausência (ZEA0); 0,5 mg L⁻¹ de zeatina (ZEA05) e 1,0 mg L⁻¹ de zeatina (ZEA1). Dourados/MS, 2019.

Todos os tratamentos promoveram emissão de brotos e folhas nos explantes, embora não tenham diferido estatisticamente pelo teste do qui-quadrado na análise de deviance. A emissão de brotos foi alta em todos os tratamentos com uma média de 97,9% (Figura 10) no entanto, apesar disto, as taxas de multiplicação de brotos foram relativamente baixas (menor que 2,00 brotos/segmento) mostrando queda com o aumento na concentração de zeatina e aumento no número de folhas por broto (Figura 11). Em experimento realizado por Cândido (2013), a média obtida de brotos por explante foi de 3,4 e a porcentagem de brotos que emitiram brotação foi de 90,51% respectivamente.

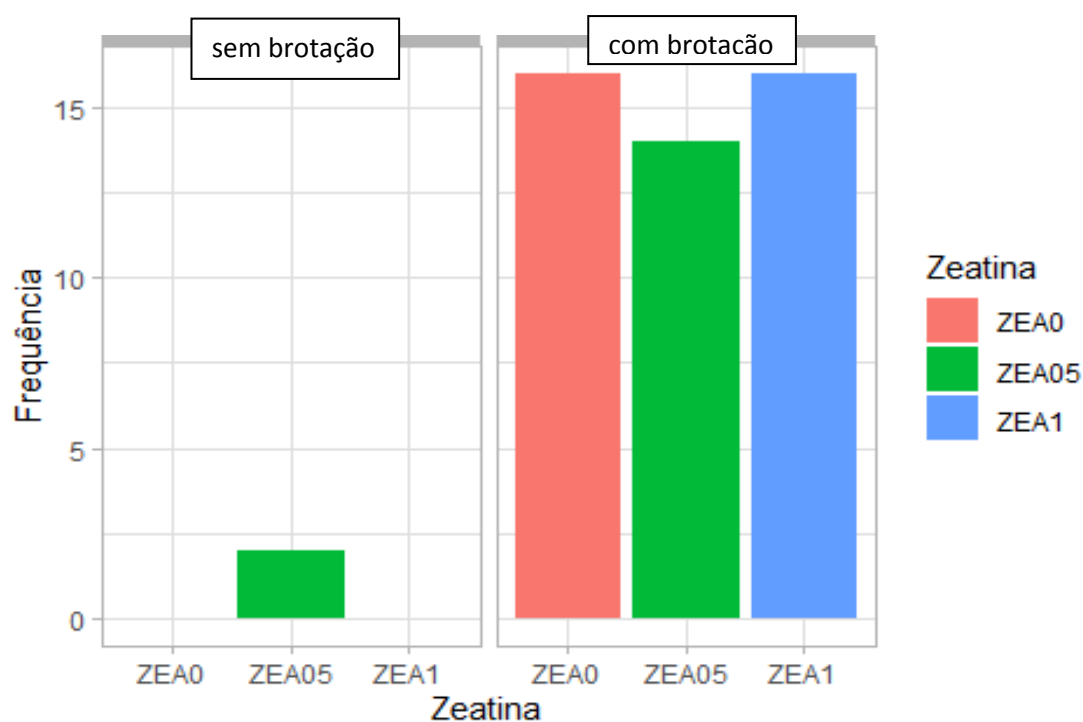


Figura 10. Emissão de brotos em explantes de canafístula submetidos a concentrações de zeatina: ausência (ZEA0); 0,5 mg L⁻¹ de zeatina (ZEA05) e 1,0 mg L⁻¹ de zeatina (ZEA1). Dourados/MS, 2019.

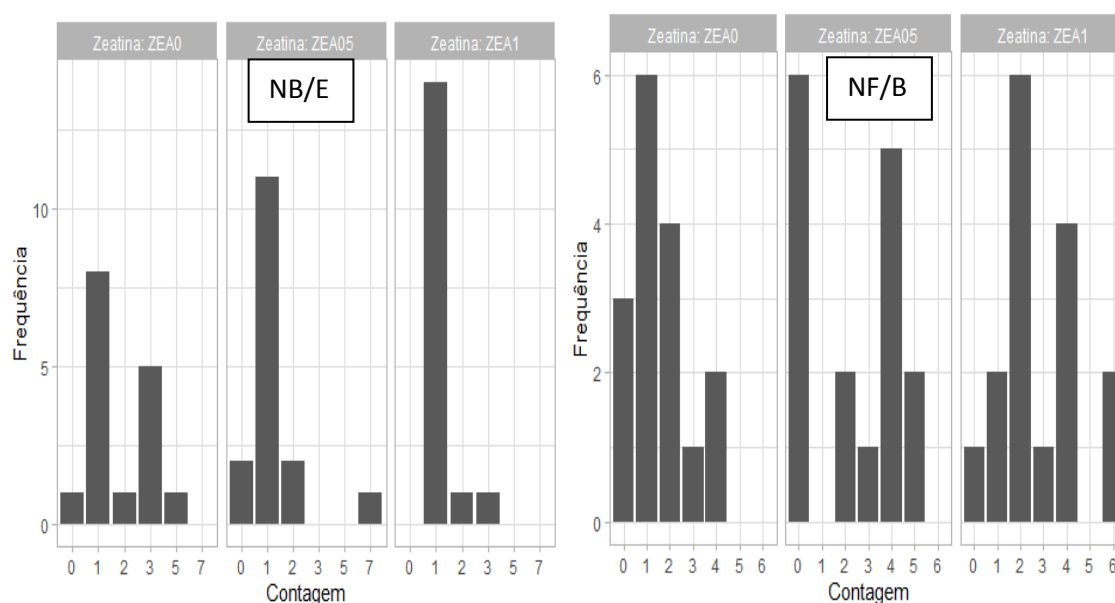


Figura 11. Número de brotos/explante (NB/E) e número de folhas/brotação (NF/B) em explantes de canafístula submetidos a concentrações de zeatina: ausência (ZEA0); 0,5 mg L⁻¹ de zeatina (ZEA05) e 1,0 mg L⁻¹ de zeatina (ZEA1). Dourados/MS, 2019.

Para comprimento de brotos foi realizada análise de variância e teste de Tukey, onde verificou-se que diferença significativa para as concentrações de zeatina utilizadas,

tendo a concentração de 1 mg L^{-1} promovido maior indução no comprimento de brotos dos explantes de canafístula (Figura 12).

Carra et al. (2019) ressaltam que BAP e ZEA são as citocininas mais amplamente utilizadas, com resultados satisfatórios para proliferação em árvores lenhosas, tendo obtido não somente maiores quantidades de produção de novos brotos, mas também favorecendo o alongamento de entrenós, essencial para obter uma boa porcentagem de enraizamento.

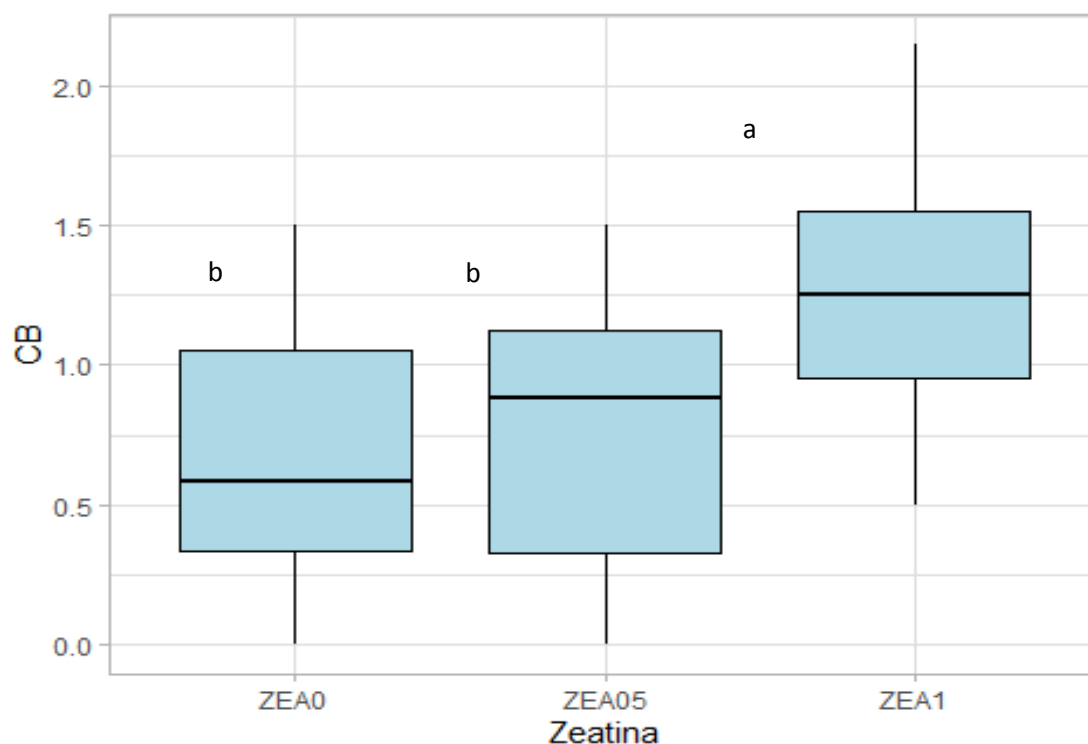


Figura 12. Comprimento de brotações (CB) em explantes de canafístula submetidos a concentrações de zeatina: ausência (ZEA0); $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de zeatina (ZEA05) e $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de zeatina (ZEA1). Dourados/MS, 2019.

Os resultados do presente trabalho corroboram com as observações relatadas por Cândido (2013) com o uso de citocininas (BAP, cinetina, thidiazuron -TDZ e isopenteniladenina - 2iP) na multiplicação da espécie, com alta taxa de sobrevivência, alta porcentagem de formação de brotos (90,51%) em todos os tratamentos, sugerindo que não há necessidade de uso dos reguladores avaliados, até o momento, na multiplicação *in vitro* de canafístula.

3.3. Enraizamento *in vitro*

Nesta etapa não foi observada protrusão de raízes na avaliação realizada aos 40 dias, em nenhum dos tratamentos. Para os dados obtidos sobrevivência (SOB) e formação de calos (CALO) foram realizadas análise de deviance onde se verificou através do teste do qui-quadrado, que o fator de variação AIB não foi significativo.

Na Figura 13 verifica-se alta sobrevivência dos explantes independente da concentração de AIB aplicada, entretanto, houve a formação de calos friáveis na base dos explantes em todos os tratamentos (Figura 14). De acordo com Rossato et al. (2015), a formação de calos (massas celulares) é um dos principais problemas durante a elaboração de protocolos de micropropagação, pois comprometem a protrusão de raízes e também de brotações. Carra et al. (2019) verificaram que o uso de AIB na micropropagação de *Zelkova sicula* promoveu a formação de massa de calos na superfície cortada, que não é adequada para desenvolvimento radicular subsequente e crescimento de plântulas.

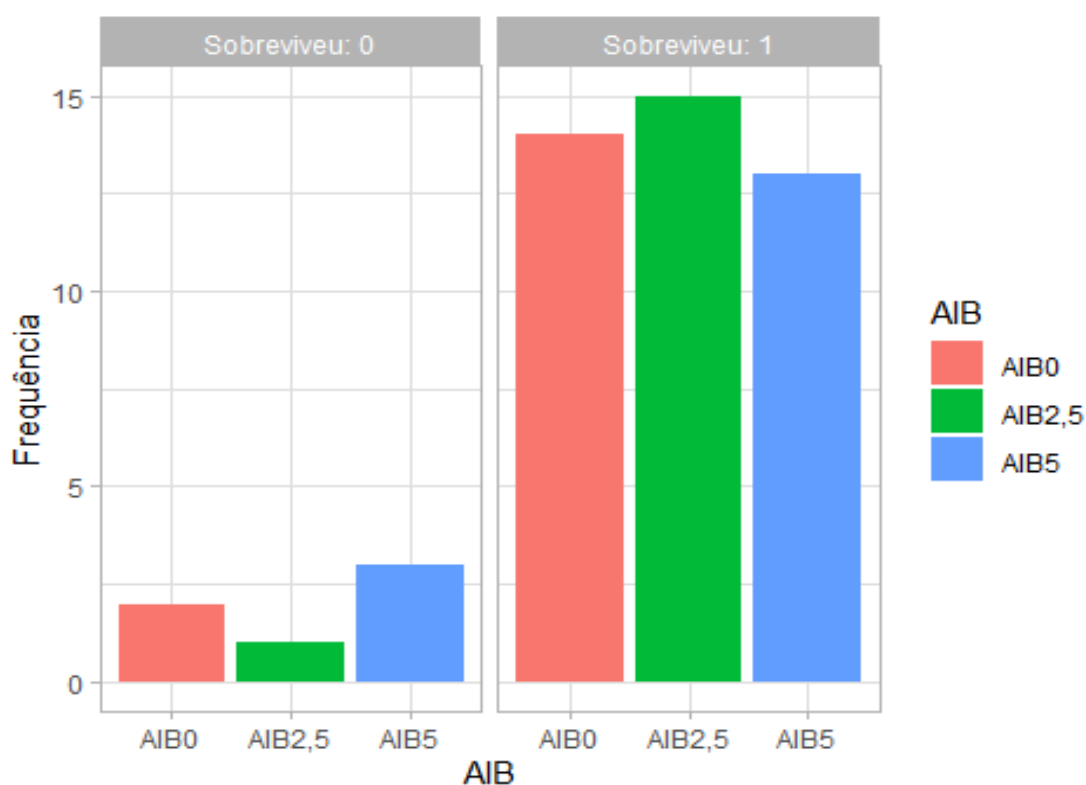


Figura 13. Sobrevivência de explantes de canafístula submetidos a concentrações de AIB: ausência de AIB (AIB0); 2,5 mg L⁻¹ de AIB (AIB2,5) e 5,0 mg L⁻¹ de AIB (AIB5). Dourados/MS, 2019.

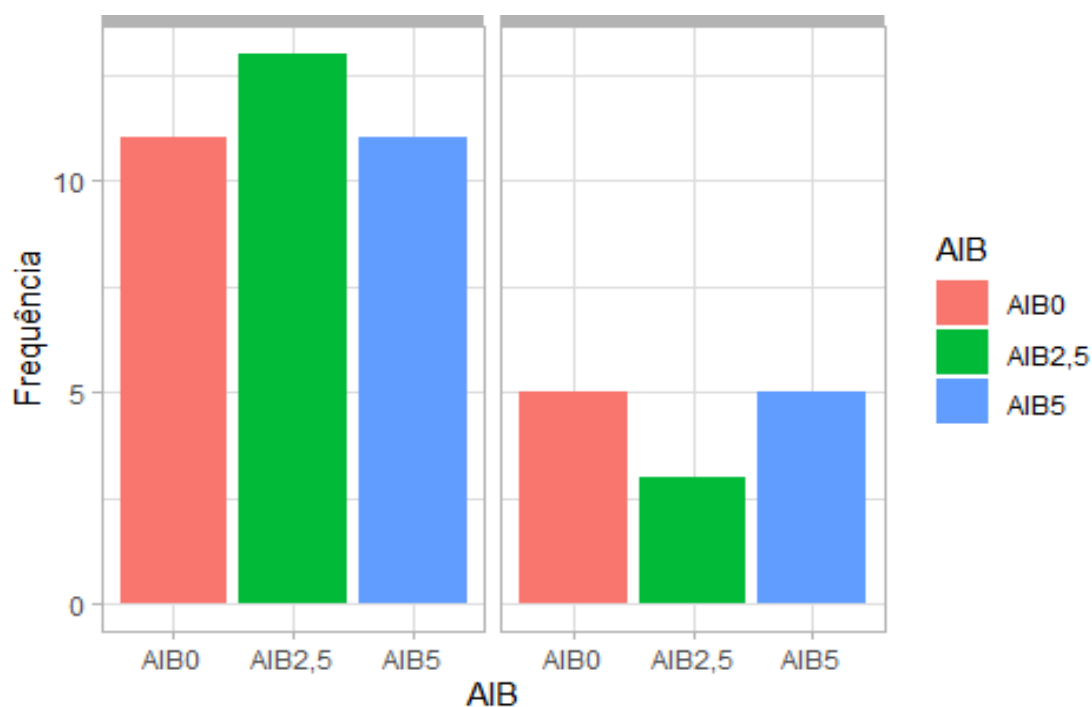


Figura 14. Formação de calos em explantes de canafístula submetidos a concentrações de AIB: ausência de AIB (AIB0); 2,5 mg L⁻¹ de AIB (AIB2,5) e 5,0 mg L⁻¹ de AIB (AIB5). Dourados/MS, 2019.

Embora vários estudos tenham sido realizados visando o desenvolvimento *in vitro* da canafístula (BASSAN, 2006; CURTI, 2014), não foi estabelecido um protocolo otimizado. GOMES (2017) ressalta que o período de cultivo é de grande importância, onde os melhores resultados foram observados aos 60 dias.

Resultados recorrentes de insucesso no estudo da multiplicação e rizogênese *in vitro* de canafístula com o uso de diversos reguladores de crescimento sugerem a recalcitrância da espécie, isto é, a incapacidade de células, tecidos e órgãos vegetais de responder à cultura de tecidos (BENSON, 2000). Segundo McCown (2000), plantas perenes lenhosas apresentam recalcitrância de explantes com maior intensidade quando comparadas a plantas dos demais táxons.

Estudos realizados por Ckurshumova e Berleth (2015) comprovaram que genes responsáveis pela regulação na via metabólica da auxina tem implicação no aumento da capacidade de regeneração e na formação de brotações novas, mesmo a partir de tecidos recalcitrantes; sugerindo que, apesar dos recentes avanços, a base molecular da regeneração de plantas ainda é pouco clara, sendo imprescindível um aprofundamento nos estudos, pois muitas plantas importantes permanecem recalcitrantes à regeneração.

4. CONCLUSÕES

- O meio WPM suplementado com 5,0 mg L⁻¹ de BAP é eficaz no estabelecimento de explantes de canafístula.
- O estabelecimento de ápices caulinares de canafístula é superior ao estabelecimento de segmentos nodais.
- O tempo de exposição ao hipoclorito de sódio é eficaz no controle de contaminação bacteriana e fúngica em ápices caulinares de canafístula, no entanto não apresenta a mesma eficácia no controle de contaminação fúngica de segmentos nodais, bem como não afetou a sobrevivência e o estabelecimento *in vitro* de segmentos apicais caulinares de canafístula.
- A citocinina nas concentrações testadas não foi eficiente na multiplicação *in vitro* da espécie, para as condições de estudo.
- O uso de diferentes concentrações de AIB não promoveu enraizamento devido à formação de calos friáveis na base dos explantes.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASSAN, J. S.; REINIGER, L. R. J.; ROCHA, B. H. G.; SEVERO, C. R. P.; FLÔRES, A.V. Oxidação fenólica, tipo de explante e meios de cultura no estabelecimento *in vitro* de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 16, p. 381-390, 2006.

BENSON, E. E. In vitro plant recalcitrance: an introduction. **In vitro Cellular e Developmental Biology – Plant**, v. 36, p.141–148, 2000.
<https://doi.org/10.1007/s11627-000-0029-z>.

BERTOLINI, I. C.; DEBASTIANI, A. B.; BRUN, E. J. Caracterização silvicultural da canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert.). **Scientia Agraria Paranensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 14, n. 2, p. 67-76, 2015.

BORGES, S. R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S. de; LOPES, A. P.; OTONI, W., TAKAHASHI, E. Estabelecimento in vitro de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 3, p. 605-616, 2012.

BRONDANI, G. E.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F.; WENDLING, I.; HORNIG, J.; Estabelecimento, multiplicação e alongamento in vitro de *Eucalyptus benthamii* Maiden e Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 11-19, 2009.

CANDIDO, D. F. **Cultivo in vitro de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert: multiplicação, senescência foliar e calogênese**. 2013. 120p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria.

CARRA, A.; CATALANO, C.; BADALAMENTI, O.; CARIMI, F.; PASTA, S.; MOTISI, A.; ABBATE, L.; LA BELLA, F.; FAZAN, L.; KOZLOWSKI, G.; GARFÌ, G. Overcoming sexual sterility in conservation of endangered species: the prominent role of biotechnology in the multiplication of *Zelkova sicula* (Ulmaceae), a relict tree at the brink of extinction. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 2019.
<https://doi.org/10.1007/s11240-019-01558-x>.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: Recomendações Silviculturais, potencialidades e uso de madeira**. Brasília: EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA-CNPQ, 1994. 640 p.

CID, L. P. B., TEIXEIRA, J. B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: Cid, L. P. B. (ed.). **Cultivo in vitro de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 21-26, 2014.

CKURSHUMOVA, W.; BERLETH, T. Overcoming recalcitrance - Auxin response factor functions in plant regeneration. **Plant Signaling & Behavior**. v.10, i. 7, 2015.

COSTA A. de, O. **Estabelecimento de sistemas de regeneração in vitro de flamboyant [*Delonix regia* (Bojer ex Hook) Raf.]**. 2019. 82p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Goiás. Jataí.

CURTI, A. R. **Contribuições para a micropropagação de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert.** 2011. 94p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria.

CURTI, A. R.; REINIGER, L. R. S. Formação in vitro de raízes em canafístula: o efeito de diferentes meios de cultivo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 2, p. 314-320, 2014.

FLÔRES, A. V.; REINIGER, L. R. S.; CURTI, A. R.; PAIM, A.; BASSAN, J. S.; CUNHA, C. M. C. M. Estabelecimento in vitro de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.). em função das concentrações do meio MS. **Cerne**, Lavras, v. 17, p. 549-553, 2011.

GAUER, L.; CAVALLI-MOLINA, S. Apomixia: um método alternativo para a produção de sementes em plantas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 6, n. 1, p.157-170, 2000.

GOMES, C. S. **Qualidade de sementes e rizogênese in vitro em *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert.** 2017. 60 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria.

HUA, Q.; CHEN, P.; LIU, W.; MA, Y.; LIANG, R.; WANG, L.; WANG, Z.; HU, G.; QIN, Y. A protocol for rapid in vitro propagation of genetically diverse pitaya. **Plant Cell Tiss Organ Cult.** v. 120, p. 741-745, 2014.

INÁCIO, M. C. ***Cochlospermum regium* (Mart. ex. Scharank): uma planta medicinal do cerrado.** 118p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP. Faculdade de Ciências Agrônomicas. Botucatu, 2010.

JUNIOR FERMINO, P. C. P; NAGAO, E. O.; PEREIRA, J. E. S. Estabelecimento, germinação e multiplicação in vitro de teca (*Tectona grandis* L.f.) a partir de genótipos da Amazônia Sul-Occidental. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, p. 427-435, 2009.

LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Multiplicação e enraizamento in vitro de amoreira-preta ‘Xavante’: efeito da concentração de sais, do tipo de explante e de carvão ativado no meio de cultura. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1959-1966, 2009.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society**, v. 30, p. 421-427, 1980.

MCCOWN, B. H. Special symposium: In vitro plant recalcitrance. Recalcitrance of woody and herbaceous perennial plants: Dealing with genetic predeterminism. **In vitro Cell. Dev. Biol.**, v. 36, p. 149-154, 2000. <https://doi.org/10.1007/s11627-000-0030-6>.

MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; RESENDE, R. F.; SILVA, A. S. aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 1, p. 110-121, 2012.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473–497, 1962.

OLIVEIRA, L. S. de; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013.

PIZZATTO M.; WAGNER JÚNIOR A.; LUCKMANN D.; PIROLA K.; CASSOL D. A.; MAZARO S. M. Influência do uso de AIB, época de coleta e tamanho de estaca na propagação vegetativa de hibisco por estaquia. **Revista Ceres**, Viçosa, v.58; p. 487-492, 2011.

RAM, B.; RATHORE, T. S.; REDDY, G. R. S. In vitro propagation of *Melia dubia* Cav. from seedling explants. **Biotechnology Bioinformatics Bioengineering**, Varsóvia, v. 2, n. 1, p. 610-616, 2012.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <http://www.R-project.org/>.

RESENDE, M. D. V. de; BIELE, J. Estimação e predição em modelos lineares generalizados mistos com variáveis binomiais. **Revista Matemática e Estatística**, São Paulo, v. 20, p. 39-65, 2002.

RIBAS, L. L. F. R.; ZANETTE, F.; KULCHETSKI, L.; GUERRA, M. P. Micropropagação de *Aspidosperma polyneuron* (peroba-rosa) a partir de segmentos nodais de mudas juvenis. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 517-524, 2005

ROSSATO, M.; SCHUMACHER, P. V.; NETTO, A. P. da C.; SOUZA, G. C. de; REIS, E. F. dos; STEIN, V. C. Multiplicação e enraizamento in vitro de gabirobeira. **Plant Cell Culture e Micropropagation**, Lavras, v. 11, n. 2, p. 70-77, 2015.

SANTOS-SEREJO, J.A. et al. Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In: SOUZA, A.S.; JUNGHANS, T.G. **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. p. 80-98.

SARTOR, F. R., ZANOTTI, R. F., PÔSSA, K. F., PILON, A. M., FUKUSHIMA, C. H. Diferentes meios de cultura e antioxidantes no estabelecimento in vitro do Jacarandá da Bahia. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, p. 408-411, 2013.

SILVA, L. C. da; SCHUCH, M. W.; SOUZA, J. A. de; ERIG, A. C.; ANTUNES; L. E. C. Meio nutritivo, reguladores de crescimento e frio no estabelecimento in vitro de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cv. delite nutritive medium, growth regulators and cold in the in vitro establishment of blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) cv. Delite. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 4, p. 405-408, out-dez, 2006.

SOARES, F. P. Taxa de multiplicação e efeito residual de diferentes fontes de citocinina no cultivo in vitro de *Hancornia speciosa* Gomes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 152-157, 2011.

SOUZA, R.A. de; DANTAS, P.V.P.; CAVALCANTE, P. de F.; TENÓRIO, R. R.; HOULLOU, L. M. Basic procedure for the in vitro propagation of Brazilian trees for reforestation purposes. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, Recife, v. 02, n. 02, p.107-114, 2017.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag New York, 2016.

CAPÍTULO III

**Produção de mudas de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) com
fungos micorrízicos arbusculares e fósforo**

Produção de mudas de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) com fungos micorrízicos arbusculares e fósforo

RESUMO

O conhecimento das espécies arbóreas nativas com bom potencial de resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares é importante para a recuperação de áreas degradadas e florestamento de espécies economicamente viáveis. O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de canafístula sob diferentes doses de fósforo. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com subdivisão no tempo, em arranjo fatorial 5x5 com cinco espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora albida*, *Clareoideoglossum etunicatum* e o controle sem FMAs) e cinco doses de fósforo (0, 60, 120, 180 e 240 mg kg⁻¹), com quatro repetições. Foram avaliados altura de mudas, diâmetro do coleto, teor de clorofila, massa seca da parte aérea, massa seca de raiz, colonização micorrízica, índice de qualidade de Dickson, dependência e eficiência micorrízica. As espécies *G. albida* e *C. etunicatum* foram as mais promissoras para o crescimento e desenvolvimento de mudas de canafístula, principalmente sob baixas doses de fósforo, sendo que *G. albida* apresentou melhores resultados no crescimento de mudas, na ausência de adubação fosfatada e a dose 60 mg kg⁻¹ de fósforo proporcionou melhores condições para micorrização da espécie *C. etunicatum*. Altas doses de fósforo foram prejudiciais à micorrização.

PALAVRAS-CHAVE: viveiro, crescimento, micorrizas, adubação fosfatada, inoculação.

**Canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub) seedling production with
mycorrhizal fungi and phosphorus**

ABSTRACT

Knowledge of native tree species with good response potential to AMF inoculation is of great importance for the recovery of degraded areas and afforestation of economically important species. The objective of this work was to verify the effects of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on canafistula seedling production under different phosphorus doses. The experimental design was a randomized block with time subdivision, design in a 5x5 factorial arrangement with inoculation treatments with five species of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora albida*, *Clareoideoglomus etunicatum* and control without AMF inoculation) and five phosphorus doses (0, 60, 120, 180 e 240 mg kg⁻¹), with four repetitions. Seedling height, stem diameter, chlorophyll content, shoot dry mass, root dry mass, mycorrhizal colonization, Dickson quality index, dependence and mycorrhizal efficiency were evaluated. The species *G. albida* and *C. etunicatum* were the most promising for the growth and development of canafistula seedlings, especially under low phosphorus doses. *G. albida* showed better results in seedling growth, in the absence of phosphate fertilization and the 60 mg kg⁻¹ phosphorus dose provided better conditions for mycorrhization of *C. etunicatum*. High doses of phosphorus were detrimental to mycorrhization.

KEY-WORDS: nursery, growth, mycorrhizae, phosphate fertilization, inoculation.

1. INTRODUÇÃO

As iniciativas de restauração de florestas tropicais visam o cumprimento da legislação ambiental, o restabelecimento de serviços ecossistêmicos e/ou a proteção de espécies nativas locais, bem como potencializar os serviços de conservação da biodiversidade em paisagens muito antropizadas (TABARELLI et al., 2010). As práticas de restauração ecológica assumem, então, um papel fundamental para reintrodução e manutenção das populações de espécies, principalmente pela criação de habitat para seu restabelecimento, reinserção de suas populações na paisagem e auxílio na conservação e reconexão de fragmentos onde essas espécies possam ocorrer (BRANCALION et al., 2010).

Várias espécies florestais apresentam limitações de restabelecimento em solo degradado, decorrente da retirada da vegetação de mata, o que reflete no potencial de regeneração do solo e pode limitar à aquisição dos nutrientes. Na recuperação dessas áreas degradadas é necessário aplicar estratégias que possam aproximar as características da floresta anteriormente existentes, de forma rápida e permanente (SUGAI et al., 2011).

A aplicação de micorrizas no solo é uma estratégia a ser considerada pelo enorme potencial para uso na restauração ecológica, advindo da capacidade em aumentar a eficiência de aquisição e o ciclo de nutrientes das plantas (FERREIRA et al., 2012). Embora os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) sejam geralmente encontrados em solos e plantas de áreas degradadas, o número de propágulos viáveis é muito baixo, havendo a necessidade de introduzir plantas hospedeiras capazes de multiplicar os FMAs existentes, podendo-se introduzir também propágulos infectivos de isolados selecionados para garantir a recuperação da comunidade dos FMAs na área (SCHNEIDER et al., 2012).

O conhecimento das espécies arbóreas nativas com bom potencial de resposta à inoculação com FMAs é importante para a recuperação de áreas degradadas e florestamento de espécies economicamente importantes, uma vez que na maioria das regiões destinadas ao reflorestamento há limitações nutricionais, podendo dificultar o estabelecimento inicial das mudas no solo (SUGAI et al., 2011).

A inoculação de substratos com fungos micorrízicos se apresenta dentre as técnicas utilizadas que asseguram uma elevada qualidade morfofisiológica de mudas

produzidas em condições de viveiro (OWEN et al., 2015) que por sua capacidade de explorar maiores volumes de substrato, favorecerá a absorção de nutrientes e a ciclagem de nutrientes minerais com perdas mínimas, reduzindo o tempo de produção de mudas, melhorando seu estado nutricional e acelerando seu crescimento (SANTOS et al., 2011, MIRANDA, 2008).

Além disso, os FMAs podem desempenhar um papel fundamental no processo de mineralização da matéria orgânica (PATERSON et al., 2016), aumentando a fertilidade do solo (SUGAI et al., 2011), e também pode ser estimulado pela adição de matéria orgânica ao solo (SHELDRAKE et al., 2017). A eficiência da simbiose e, portanto, de propagação de micélio extra radicular, absorção de nutrientes e especificidades de expressão gênica são influenciados pela combinação genótipo específico de FMA e planta hospedeira, sendo as diferentes respostas de crescimento encontradas em plantas resultantes da interação morfológica e funcional entre fungo e planta (LEE et al., 2013; FARIAS et al., 2014).

A determinação de uma dose ideal de fósforo para maximizar a produção ou a resposta das plantas inoculadas com FMAs é importante, pois as variações das exigências nutricionais de cada espécie podem afetar o processo de colonização e esporulação micorrízica (HEITOR et al., 2016). De acordo com Feitosa e Santos (2016), em geral, a disponibilidade de fósforo (P) dos solos é determinante e modula os efeitos benéficos proporcionados pelo fungo às plantas. Este fato torna importante o conhecimento do nível ideal de P para explorar melhor os benefícios dessa associação.

Coutinho et al. (2019) sugerem o desenvolvimento de protocolos para inoculação de mudas e solo com FMAs de forma a obter maior sucesso no replantio em áreas de restauração. Para o emprego dos FMAs no reflorestamento com espécies nativas, Colodete et al. (2014) sugerem selecionar fungos mais generalistas em sua relação simbiótica, tendo em vista seu maior potencial reabilitador, pois colonizam e têm eficiência em vários hospedeiros, facilitando a diversidade e sucessão vegetal na área, enquanto que, do lado do hospedeiro, devem-se evitar plantas muito seletivas.

Informações sobre as interações dos FMAs com espécies arbóreas são importantes, em estudos com visão tecnológica, para viabilizar o uso destes em larga escala na recuperação de áreas degradadas (SCHNEIDER et al., 2012).

Diante do exposto, este trabalho avaliou os efeitos da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e diferentes doses de fósforo, no desenvolvimento de mudas de canafístula.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em ambiente protegido – estufa coberta com filme plástico transparente de polietileno de baixa densidade (PEBD) com 150 micras de espessura e cercada lateralmente por estrutura revestida com tela de nylon preta com 75% de sombreamento, na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, Dourados - MS, situada à latitude de 22°11'53.2"S, longitude de 54°56'02.3"W e 400 m de altitude, no período de agosto/2018 a fevereiro/2019. O clima predominante é do Cwa (temperado chuvoso com inverno seco, verão chuvoso, temperatura média do mês mais frio inferior a 18°C e a do mês mais quente superior a 22°C) com temperatura média anual de 22,7°C e precipitação de 1.410 mm (ARAI et al., 2010).

O experimento foi conduzido a partir de mudas de canafístula obtidas através de sementes provenientes de matrizes localizadas nos municípios de Angélica e Ivinhema (MS). As sementes foram coletadas e submetidas à escarificação térmica. A semeadura foi realizada em tubetes contendo substrato florestal comercial com irrigações diárias. Quando as mudas apresentaram altura média de 10 cm, foram levadas a casa de vegetação (50% de sombreamento) para o transplântio em vasos com capacidade para 5 dm³.

O substrato utilizado no experimento foi constituído por mistura de 2:1 (v:v) de solo e areia. O solo obtido do horizonte subsuperficial, a 30 cm de profundidade na área de repouso da Faculdade de Ciências Agrárias da UFGD, classificado como Latossolo Vermelho distroférico, com as seguintes características químicas: potencial hidrogeniônico ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$) = 5,20; $\text{P}_{\text{Mehlich}^{-1}}$ = 2,25 mg dm⁻³; alumínio (Al^{+3}) = 14,40 mmol_c.dm⁻³; hidrogênio (H^{+})+ Al^{+3} = 26,40 mmol_c.dm⁻³; K, Ca^{+2} e Mg^{+2} = 0,50, 4,30 e 1,60 mmol_c.dm⁻³, respectivamente; saturação por bases (V%)= 19,53; saturação por alumínio (m%)= 69,23. A esterilização do solo foi realizada em autoclave vertical, a temperatura do solo permaneceu em média de 121°C por uma hora.

A correção do solo foi realizada com calcário “filler” visando elevar a saturação de bases para 70%, tendo como base a análise dos atributos químicos do solo. Para o cálculo da necessidade de corretivo, utilizou-se o método da saturação por bases (RAIJ et al., 1997).

Os vasos foram levados para a casa de vegetação e mantidos à 70% da capacidade de campo por um período de 30 dias, para que ocorresse a reação do calcário com o solo.

A adubação foi realizada adicionando as doses de P (0, 60, 120, 180 e 240 mg kg⁻¹ de solo) de acordo com cada tratamento, utilizando como fonte o K₂HPO₄ (fosfato dipotássico). Em função das doses crescentes de P, fez-se necessário equilibrar as doses de K, utilizando-se como fonte o cloreto de potássio (KCl) (60% K₂O). Neste processo, o solo de cada vaso novamente foi transferido a sacos plásticos, que foram inflados com ar e agitados até ocorrer completa mistura com os minerais.

No preparo do inóculo, o substrato foi colocado em vasos de cultivo com 7 dm³ de capacidade e infectado com 50 cm³ de inóculo, composto por mistura de solo, esporos e raízes de *Brachiaria decumbens* colonizadas com FMAs, de acordo com os tratamentos. Estes vasos foram mantidos em casa de vegetação para a multiplicação dos fungos, utilizados como inóculo.

O inóculo teve origem nos isolados de FMAs, provenientes da coleção do Laboratório de Matéria Orgânica e Microbiologia Do Solo da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul - UEMS, os quais foram multiplicados em associação com *Brachiaria decumbens* em substrato composto por mistura de solo e areia na proporção de 2:1 (v:v), misturado em betoneira, esterilizado em autoclave (temperatura de 121°C/ 1 hora), e colocados em vasos que foram mantidos em estufa por um período de quatro meses.

Delineamento Experimental

O delineamento experimental adotado foi blocos casualizados, em arranjo fatorial 5x5, com subdivisão no tempo. Os tratamentos foram: inoculação com espécies de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora albida* e *Clareoideoglomus etunicatum*) e o controle (sem FMAs) e aplicação de doses de P (0, 60, 120, 180 e 240 mg kg⁻¹), em quatro repetições. Cada unidade experimental foi constituída por um vaso contendo 5 dm³ de substrato, com uma planta por vaso.

O crescimento das mudas de canafístula foi avaliado com medições periódicas da altura de mudas, diâmetro do coleto aos 30, 60, 90, 120, 150, 180 dias após o plantio (DAP). Aos 90 e 120 DAP foi realizada a avaliação com clorofilômetro SPAD-502 (Konica-Minolta, Tokyo, Japan) para obtenção do teor de clorofila. As avaliações foram

realizadas entre 8 e 11 horas da manhã, em folhas completamente expandidas e previamente marcadas (segunda ou terceira folha totalmente aberta), de modo que todas as medições fossem sempre realizadas nas mesmas folhas.

Aos 180 DAP, as mudas foram retiradas dos vasos e o sistema radicular separado da parte aérea. Após lavagem, subamostras de 2 cm de comprimento de raízes foram coletadas e conservadas em etanol a 50%, para posterior verificação da colonização micorrízica, após a coloração das raízes de acordo com metodologia de Koske e Gemma (1989).

A parte aérea e as raízes das plantas foram secas separadamente, em estufa de ventilação forçada, a 65°C, por 72 horas (MALAVOLTA et al., 1997) visando a determinação de massa seca de parte aérea (MSPA); massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) das plantas. Foram realizados os cálculos indiretos de:

- índice de qualidade de Dickson – IQD (DICKSON et al., 1960):

$$\text{IQD (\%)} = \text{ST} / (\text{H} / \text{DC} + \text{MSPA} / \text{MSR});$$

- dependência micorrízica - DM (PLENCHETTE et al., 1983):

$$\text{DM (\%)} = ((\text{MSM} - \text{MSN}) / \text{MSM}) \times 100;$$

- eficiência micorrízica – EM (PLENCHETTE et al., 1983):

$$\text{EM (\%)} = ((\text{MSM} - \text{MSN}) / \text{MSN}) \times 100.$$

Onde,

MST: Massa seca total, H: Altura da parte aérea, DC: Diâmetro do colo, MSPA: Massa seca da parte aérea, MSR: Massa seca de raiz, MSM: Massa seca de mudas micorrizadas e MSN: Massa seca de mudas não micorrizadas.

Para análises estatísticas dos dados foi utilizado o programa R (R CORE TEAM, 2019) por meio das bibliotecas nlme (PINHEIRO et al., 2019) e phia (ROSARIO-MARTINEZ, 2015). O efeito dos tratamentos de FMAs foram comparados pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade e os efeitos das doses de P submetidos a análise de regressão.

Para apresentação exploratória dos dados foi utilizado o diagrama de caixa ou *Box Plot*, método estatístico visual que compõe de recurso específico para detectar tendências e substituir tabelas, contribuindo para melhorar a interpretação de dados,

detectar outliers e comparar grupos amostrais. Permite também visualizar a dispersão dos dados em torno da média, o grau e a direção da simetria, a natureza da variância em cada efeito e a presença ou não de outliers. É indicado para sumarizar e analisar dados quantitativos, especialmente contínuos, podendo ser utilizado tanto para a análise descritiva como inferencial de dados, independente do tipo de delineamento (VALLADARES NETO et al., 2017).

A quantificação da frequência e intensidade de colonização micorrízica foi realizada através da observação ao microscópio óptico de fragmentos de raízes (TROUVELOT et al., 1986).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de fragmentos de raízes, foi constatada a presença de arbúsculos, hifas e vesículas nas raízes de mudas dos tratamentos sob inoculação de fungos micorrízicos, em todos os tratamentos, atestando a colonização micorrízica (Figura 1).

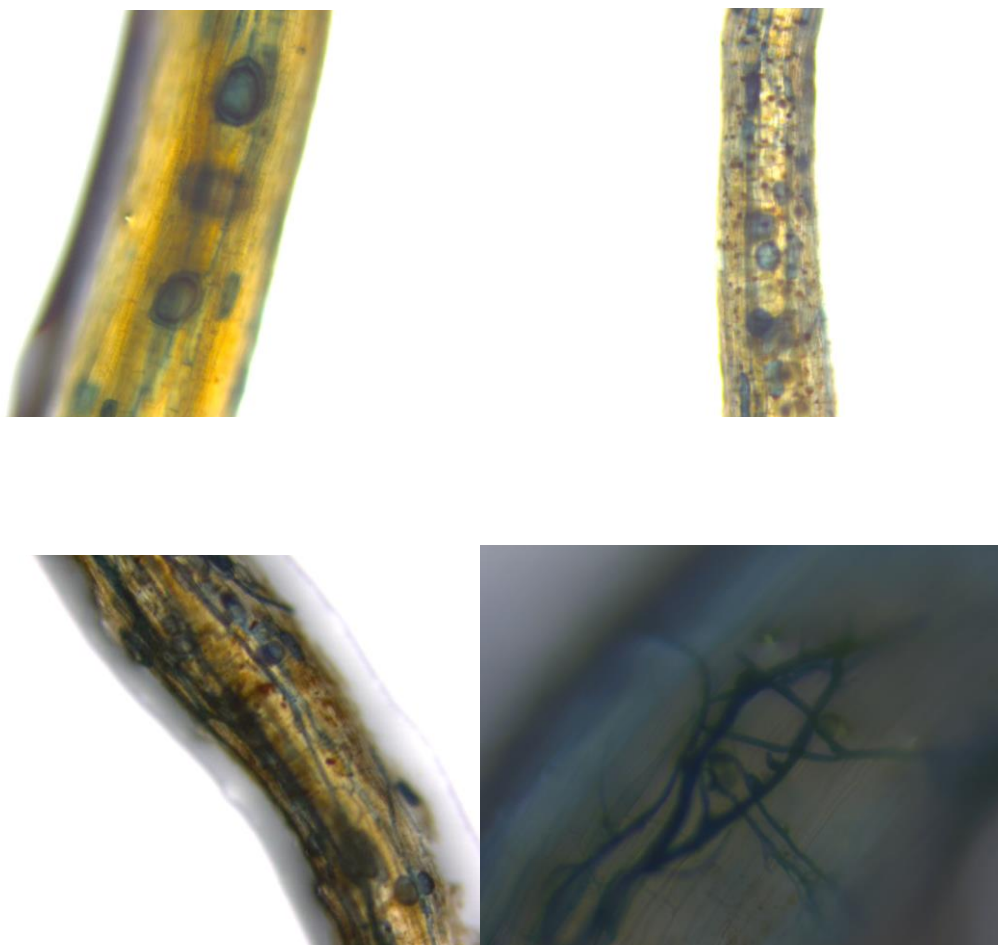


Figura 1. Detalhes da presença de arbúsculos, hifas e vesículas em raízes de canafístula inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. Dourados/MS, 2018.

De acordo com Costa et al. (2005), a presença de arbúsculos e hifas formadas nas raízes é geralmente considerada como sinal de funcionamento da associação, e atesta a dinâmica da colonização, não indicando necessariamente o estabelecimento da simbiose. Os arbúsculos são considerados sítios de troca por excelência entre os simbiontes, no entanto, permanecem em sua forma por 4 a 5 dias e sofrem degeneração, tendo a célula sua atividade retomada (HOFFMANN e LUCENA, 2006).

Em baixa concentração de P, a simbiose desenvolve-se plenamente, enquanto seu desenvolvimento é restrito em alta concentração de P (FEITOSA e SANTOS, 2016), no entanto, os mecanismos pelos quais o P regula o desenvolvimento da simbiose são desconhecidos (KIRIACHEK et al., 2009). A diminuição da percentagem de colonização micorrízica ocasionada pela adição de doses crescente de fósforo é considerada normal, visto que, uma planta no estado nutricional favorável não necessita da colonização micorrízica para a absorção do P da solução do solo (BALOTA et al., 2011).

Vários estudos atestam esta condição em diferentes espécies, como em mudas de *Cecropia pachystachya* (CARNEIRO et al., 2004); mudas de *Annona muricata* (SAMARÃO et al., 2011); mudas de *Cordia africana*, *Croton macrostachyus*, *Erythrina brucei* e *Millettia ferruginea* (DOBO et al., 2016), mudas de *Caesalpinia férrea* e *Piptadenia stipulacea* (FEITOSA e SANTOS, 2016). As observações indicam que características funcionais de cada espécie de FMAs que foram inoculados podem estar envolvidas em sua associação com o hospedeiro e com o ambiente no solo (CHAGNON et al., 2013). M'barki et al. (2018), afirmam que a mesma cultivar pode responder diferentemente a diferentes espécies de fungos.

Os parâmetros morfológicos mais utilizados na avaliação da qualidade das mudas são altura, diâmetro do caule e massa seca da parte aérea e radicular (GOMES e PAIVA, 2011).

Na Tabela 1 são apresentados os valores de 'p' da análise de deviance para altura, diâmetro e relação altura x diâmetro. Pode-se verificar que a interação entre fungos micorrízicos x dia e doses de P x dia apresentaram diferenças significativas a 1% de probabilidade no teste F para altura e diâmetro. A interação dose de P x fungos micorrízicos não teve efeito significativo para as variáveis avaliadas.

BRITO et al. (2017) observaram desempenhos diferentes de espécies de FMAs *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*, no crescimento de mudas de paricá, em relação a doses de P aplicadas.

Tabela 1. Valores de p obtidos na análise de deviance para altura (m) e diâmetro de coleto (cm) de mudas de canafístula submetidas à inoculação com fungos micorrízicos e aplicação de doses de fósforo em função do tempo

FONTE DE VARIAÇÃO	ALTURA	DIÂMETRO
FMA	< 0,0001**	< 0,0001**
DOSE	0,0015**	0,0002**
DIA	< 0,0001**	< 0,0001**
FMA X DOSE	0,8159	0,7359
FMA X DIA	< 0,0001**	< 0,0001**
DOSE X DIA	< 0,0001**	< 0,0001**
FMA x DOSE X DIA	0,1034	0,0840

** (significativo a $p < 0,01$); * (significativo a $p < 0,05$); FMA (fungos micorrízicos); DOSE (dose de fósforo); DIAS (dias após plantio)

Na Figura 2 são apresentados o efeito das doses de fósforo sobre o crescimento das mudas em altura em relação ao tempo e as tendências de crescimento de mudas de canafístula em função da dose de fósforo aplicada. Verifica-se (Figura 2A) que até os 120 dias após o plantio não há influência das doses de fósforo. A partir de 150 dias após o plantio (DAP) observa-se uma dispersão maior dos valores em altura, sugerindo efeito dos tratamentos. Aos 180 dias, as doses de fósforo apresentaram efeito significativo sobre a altura das mudas, onde a dose zero de fósforo proporcionou maior altura (41,7 cm). A dose de 183 mg kg⁻¹ de fósforo propicia a menor altura de plantas (27,93 cm) aos 180 dias. Observa-se ainda a tendência de crescimento em altura das mudas para cada dose de fósforo aplicada, onde verifica-se ajuste de regressão quadrática (Figura 2B).

A altura de mudas é um dos parâmetros utilizados na classificação e seleção, principalmente na comercialização de mudas florestais (BRACHTVOGEL e MALAVASI, 2010). Segundo Paiva e Gomes (2000), mudas de espécies arbóreas com a altura entre 15 e 30 cm estão aptas ao plantio no campo. Mudas de canafístula sob diferentes adubações, ao final de 120 dias, apresentaram altura de plantas entre 20 e 30 cm em estudos realizados por Cruz et al. (2012) e Mussi et al. (2013). No presente trabalho, aos 180 DAP, a menor altura de plantas obtida foi de 28,2 cm e a maior altura de 41,72 cm, sugerindo a aptidão das mudas ao plantio no campo, para o quesito altura, independente do tratamento.

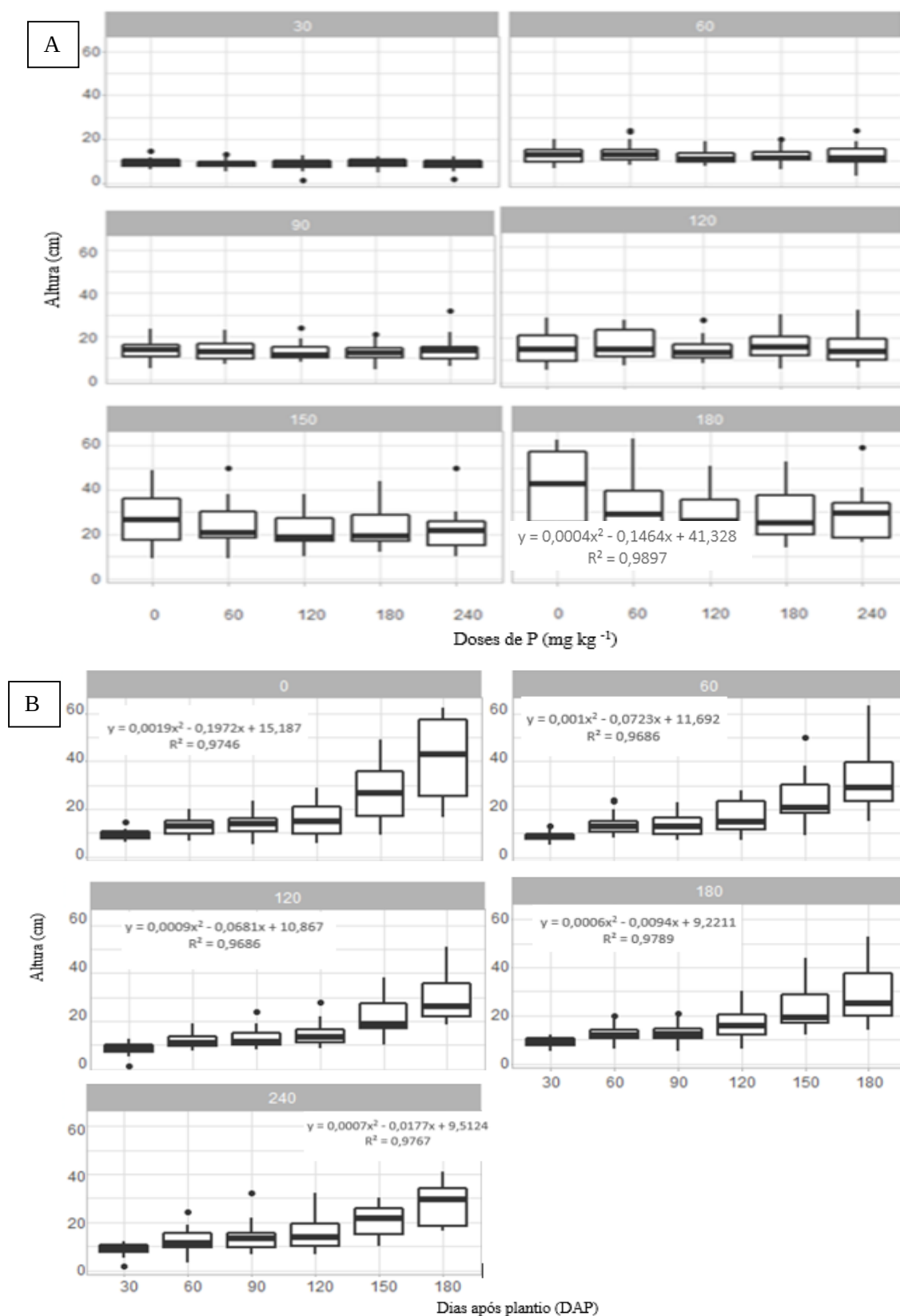
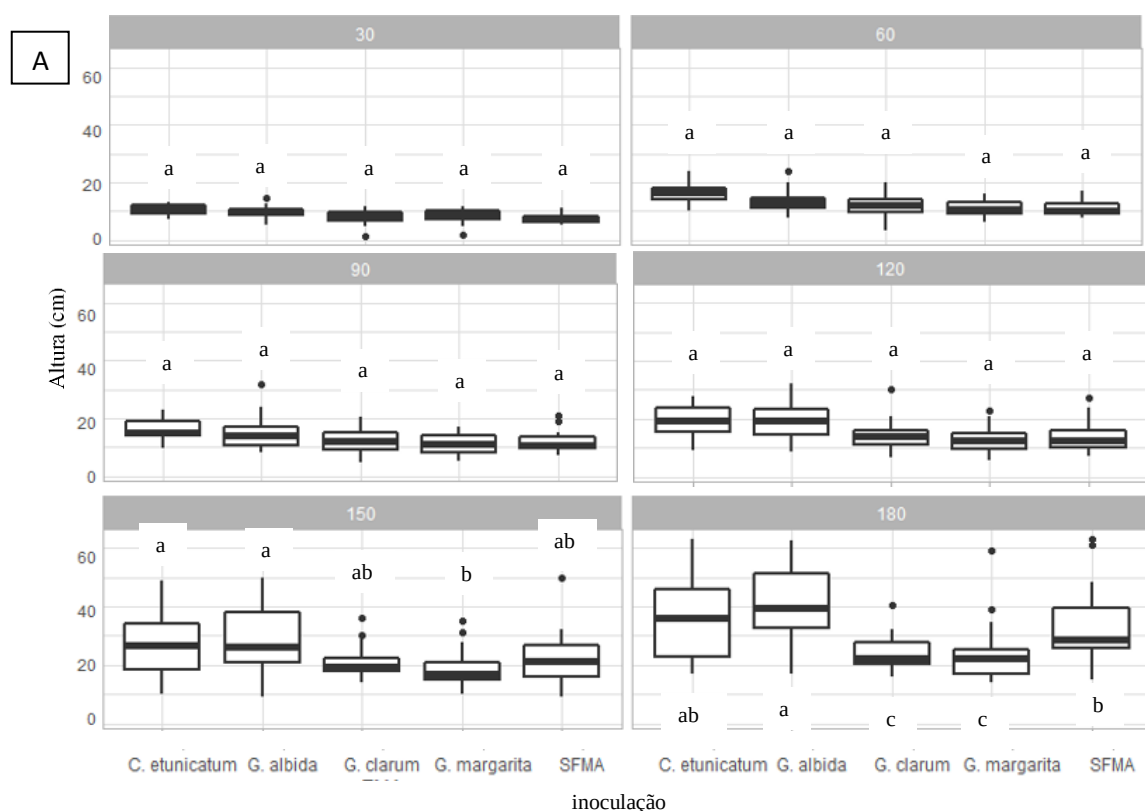


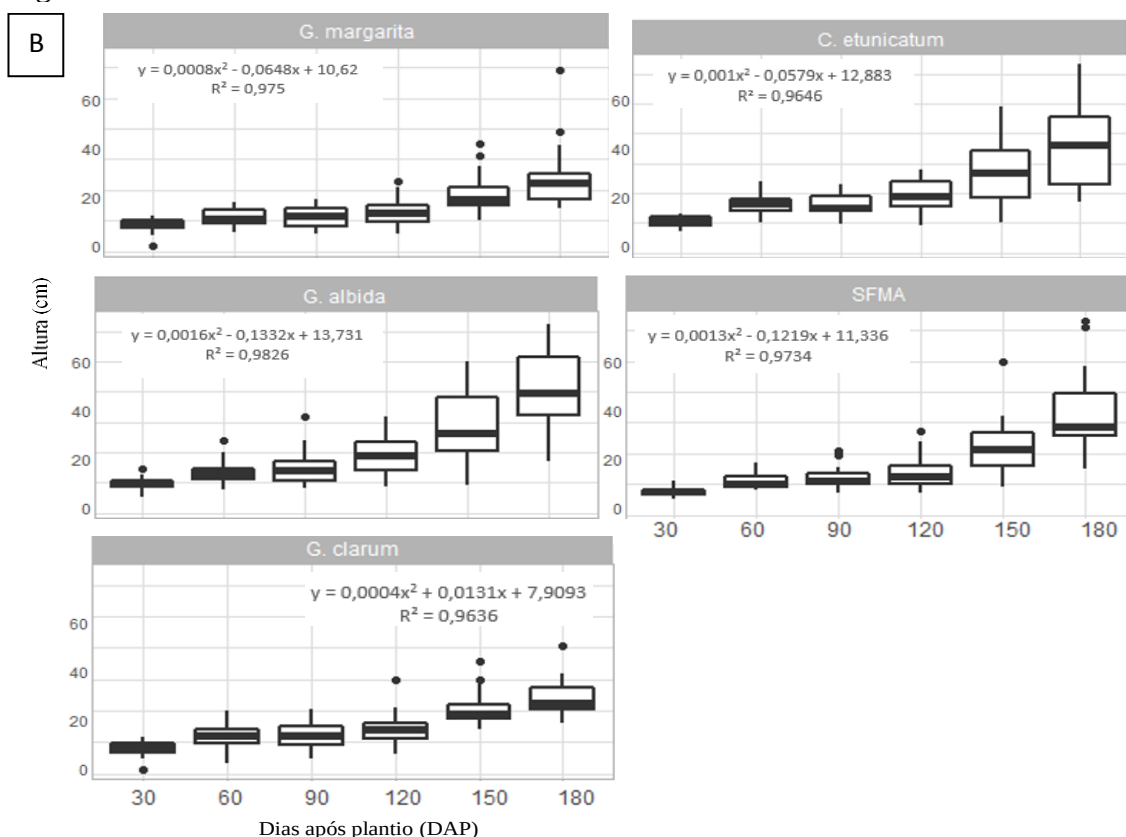
Figura 2. Altura (cm) de mudas de canafístula (A) aos 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após o plantio, sob aplicação de fósforo e (B) efeito de doses de fósforo (0, 60, 120, 150 e 240 mg kg^{-1}) no tempo.

A inoculação com FMAs não promoveu, inicialmente, efeito significativo sobre a altura de plantas (Figura 3A). *G. albida* e *C. etunicatum* promoveram desempenho superior e significativo estatisticamente na altura de plantas, a partir de 150 DAP, enquanto as mudas inoculadas com *G. margarita* e *G. clarum* apresentaram o menor crescimento. A inoculação com *G. albida* e *C. etunicatum* levaram ao maior crescimento das mudas com incrementos de 42,8% e 13,4%, respectivamente, em relação ao controle. As mudas micorrizadas com *G. clarum* e *G. margarita* apresentaram médias de altura 3,35% e 2,7% inferiores ao tratamento sem micorrização. Houve ajuste quadrático para todos os tratamentos de inoculação (Figura 3B), onde verifica-se baixo crescimento no início e um incremento maior em altura no final do ciclo.



...continua...

Fig. 3. Continua



Médias seguidas de letras distintas são diferentes entre si a 1% de probabilidade.

Figura 3. Altura (cm) de mudas de canafístula (A) aos 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após o plantio sob inoculação com fungos micorrízicos e (B) efeito da inoculação com fungos micorrízicos (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora albida* e *Clareoideoglomus etunicatum*) e o controle (sem FMAs) no tempo.

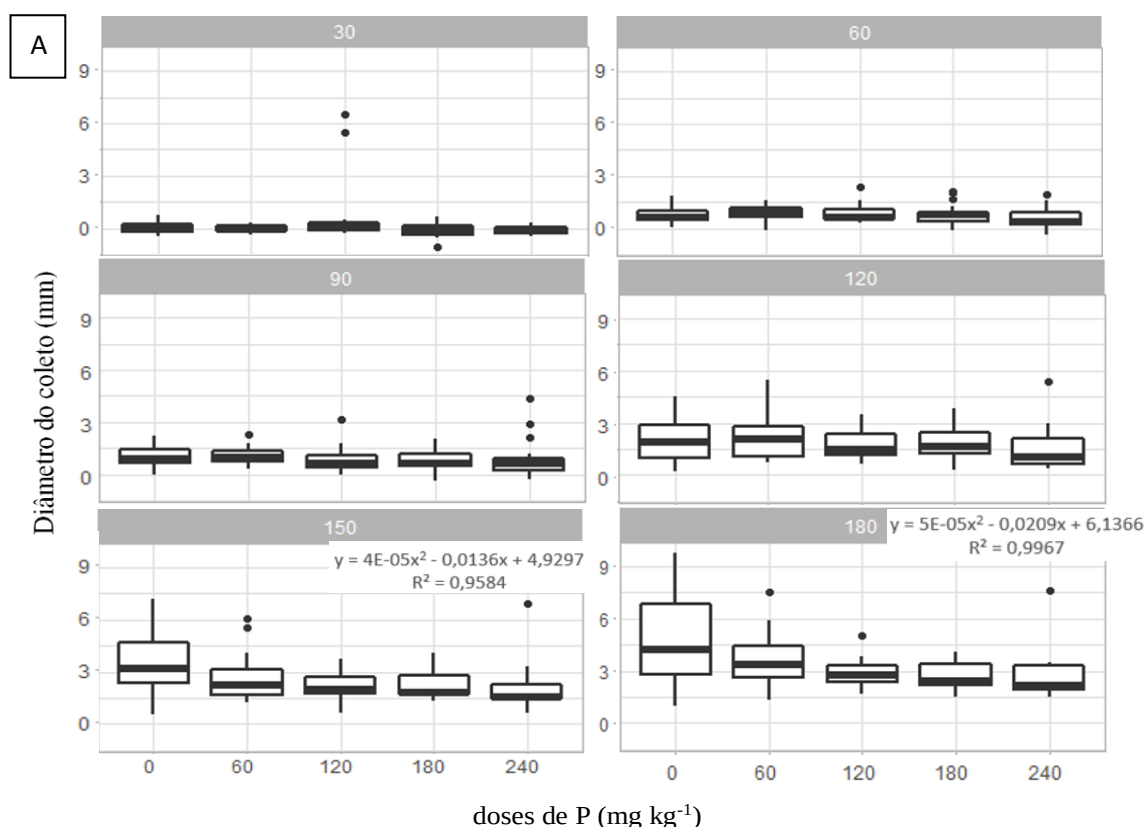
Para diâmetro do coleto, os valores médios obtidos nas mudas de canafístula, aos 180 dias após o plantio, variaram de 4,17 a 6,15 mm (Figura 4A), encontrando-se abaixo ou no nível inferior dos valores descritos por Gonçalves et al. (2000), para caracterizar mudas de espécies nativas de qualidade quanto ao diâmetro do coleto (5 e 10 mm), mas semelhantes aos dados obtidos por Cruz et al. (2012) que obtiveram menor DC de 5,53 e maior DC de 7,59 mm para mudas de canafístula.

De acordo com Scheer et al. (2012), o diâmetro do coleto é importante na avaliação do potencial da muda para sobrevivência e crescimento após o plantio em campo. O maior diâmetro do colo sugere maior alocação de fotoassimilados na parte aérea, podendo ser considerado para indicar a capacidade de sobrevivência de mudas em condições de campo e auxiliar na definição das doses de fertilizantes a serem utilizadas na produção das mudas (SCALON et al., 2001). Segundo Souza et al. (2006),

dentro de uma mesma espécie, as plantas com maior diâmetro apresentam maior sobrevivência, devido maior capacidade de formação e crescimento de novas raízes.

Na Figura 4A, observa-se que o incremento em diâmetro apresentou a mesma tendência da altura, não tendo ocorrido efeito significativo das doses de fósforo sobre o crescimento das mudas no início do ciclo, até os 120 dias. A diferença no incremento das mudas em função das doses de fósforo aplicadas foi verificada aos 150 e 180 dias, onde houve ajuste quadrático para a variável. Aos 150 dias, a dose mínima calculada foi 170 mg kg^{-1} de fósforo, que propiciou o menor diâmetro do coleto (3,77 mm). Aos 180 dias, o menor diâmetro (3,95 mm) foi proporcionado pela dose mínima calculada de 209 mg kg^{-1} de fósforo.

Ainda, na Figura 4B, pode-se acompanhar o padrão de crescimento em diâmetro das mudas para cada dose de fósforo aplicada. O incremento em diâmetro das mudas de canafístula com o tempo apresentou ajuste quadrático para todas as doses de fósforo, tendo as mudas sem aplicação de fósforo (dose zero) maior diâmetro ao final do ciclo. As mudas que não receberam adubação fosfatada obtiveram maior diâmetro médio (6,15 mm) ao final das avaliações.



...continua...

Fig. 4. Continua

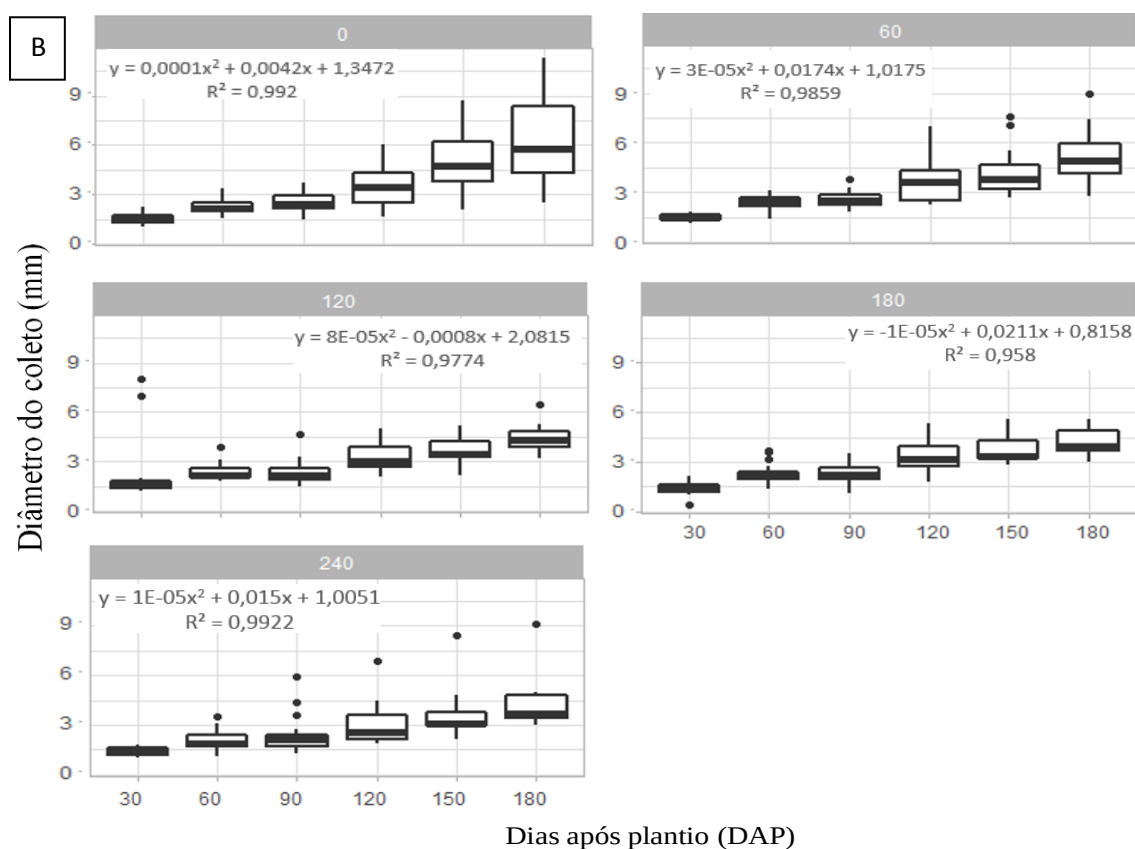


Figura 4. (A) Diâmetro do coleto (mm) de mudas de canafístula (A) aos 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após o plantio, sob aplicação de fósforo e (B) efeitos de doses de fósforo (0, 60, 120, 150 e 240 mg kg⁻¹) no tempo.

Os tratamentos com micorrização não apresentaram efeito significativo sobre o incremento em diâmetro do coleto das mudas ao longo das avaliações (Figura 5).

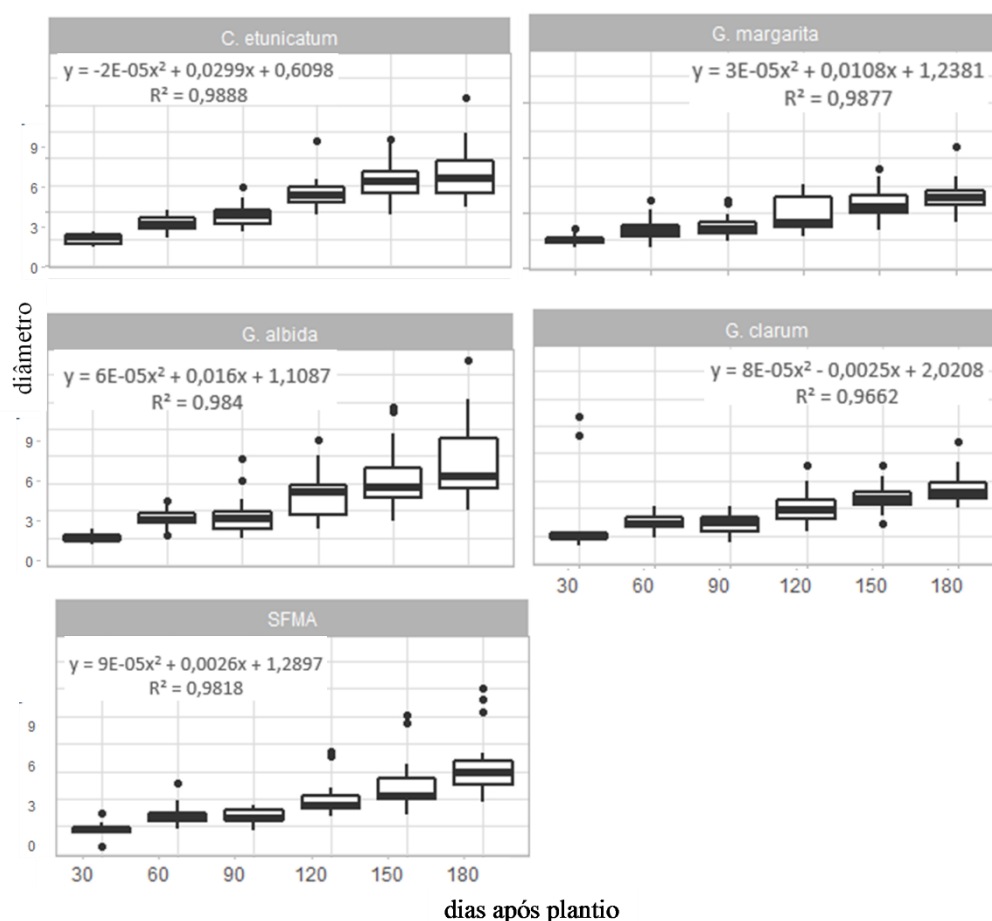


Figura 5. Diâmetro do coleto (mm) de mudas de canafístula em função da inoculação com fungos micorrízicos (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora albida* e *Clareoideoglomus etunicatum*) e o controle (sem FMAs) no tempo.

Os dados de crescimento apontam uma superioridade da simbiose entre a canafístula e *G. albida*. Mesmo com o alto grau de variação nas características, percebe-se benefício da presença do fungo para o crescimento das mudas. As associações micorrízicas com *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum* se mostraram negativas para o crescimento das mudas de canafístula, as quais apresentaram de modo geral, crescimento inferior ao controle.

A ausência de resposta no período inicial de crescimento para as características altura e diâmetro do coleto, segundo Pasqualine et al. (2007), é atribuída às próprias reservas nutricionais contidas nas sementes, ao tempo necessário para o estabelecimento da simbiose funcional e à própria condição de micotrofia (dependência micorrízica) da planta. De acordo com Silva et al. (2006), a baixa colonização micorrízica pode ser

explicada pelo fato de que o estabelecimento da simbiose efetiva com algumas espécies de mudas pode demorar mais de seis meses.

Estudos realizados por Fahey et al. (2016) constataram que a taxa de crescimento relativo aumentou com a colonização por FMA em *Luehea seemanii* e *Tabebuia rosea*, no entanto, não alterou o crescimento de *Ficus insipida* e *Ochroma pyramidale*, indicando que, mesmo nos primeiros meses de crescimento, a colonização pode ser benéfica para algumas espécies e para outras não.

Para as variáveis massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST) e Índice de Qualidade de Dickson (IQD) a interação dose de P x fungos micorrízicos apresentou diferenças significativas a 1% de probabilidade no teste F conforme Tabela 2.

Tabela 2. Valores de p para massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST), relação massa seca de parte aérea-massa seca de raiz (MSPA/MSR) e Índice de Qualidade de Dickson (IQD) de mudas de canafístula em função da inoculação com fungos micorrízicos e aplicação de diferentes doses de fósforo

Fonte de Variação	MSPA	MSR	MST	MSPA/MSR	IQD
FMA	$9,433 \times 10^{-6} **$	$1,013 \times 10^{-5} **$	$9,739 \times 10^{-7} **$	0,52000	$3,679 \times 10^{-6} **$
DOSE	$1,640 \times 10^{-7} **$	$2,500 \times 10^{-9} **$	$2,280 \times 10^{-9} **$	0,2401	$1,200 \times 10^{-9} **$
FMA X DOSE	$1,696 \times 10^{-4} **$	$7,710 \times 10^{-8} **$	$1,459 \times 10^{-6} **$	0,7149	$2,170 \times 10^{-8} **$

** (significativo a $p < 0,01$)

De forma geral o acúmulo de matéria seca obtido, tanto para parte aérea como para raiz foi baixo, tendo em vista a perda de folhas e morte de mudas em razão de ataque de cochonilhas que ocorreu próximo aos 120 dias de plantio.

Mudas sem inoculação e inoculadas com *G. albida* e *C. etunicatum*, na ausência de fósforo apresentaram maior teor de matéria seca (parte aérea, raiz e total) que as mudas dos demais tratamentos.

Os teores de matéria seca de parte aérea e raiz são apresentados nas Figuras 6 e 7. Somente sob a dose zero de fósforo houve diferença significativa entre tratamentos com micorrizas para as variáveis massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR), onde as mudas inoculadas com *G. albida* apresentaram maior desempenho (27,5 g de MSPA, 12,9 g de MSR), seguidas por *C. etunicatum* (11,37 g de MSPA e 5,09 g de MSR), SFMA (11,13 g de MSPA e 2,76 g de MSR), *G. margarita* (3,07 g de

MSPA e 0,99 g de MSR) e *G.clarum* (1,21 g de MSPA e 0,66 g de MSR). Os fungos *G. clarum* e *G. margarita* apresentaram desempenho inferior aos demais tratamentos com micorrizas. (Figura 6A e 6B).

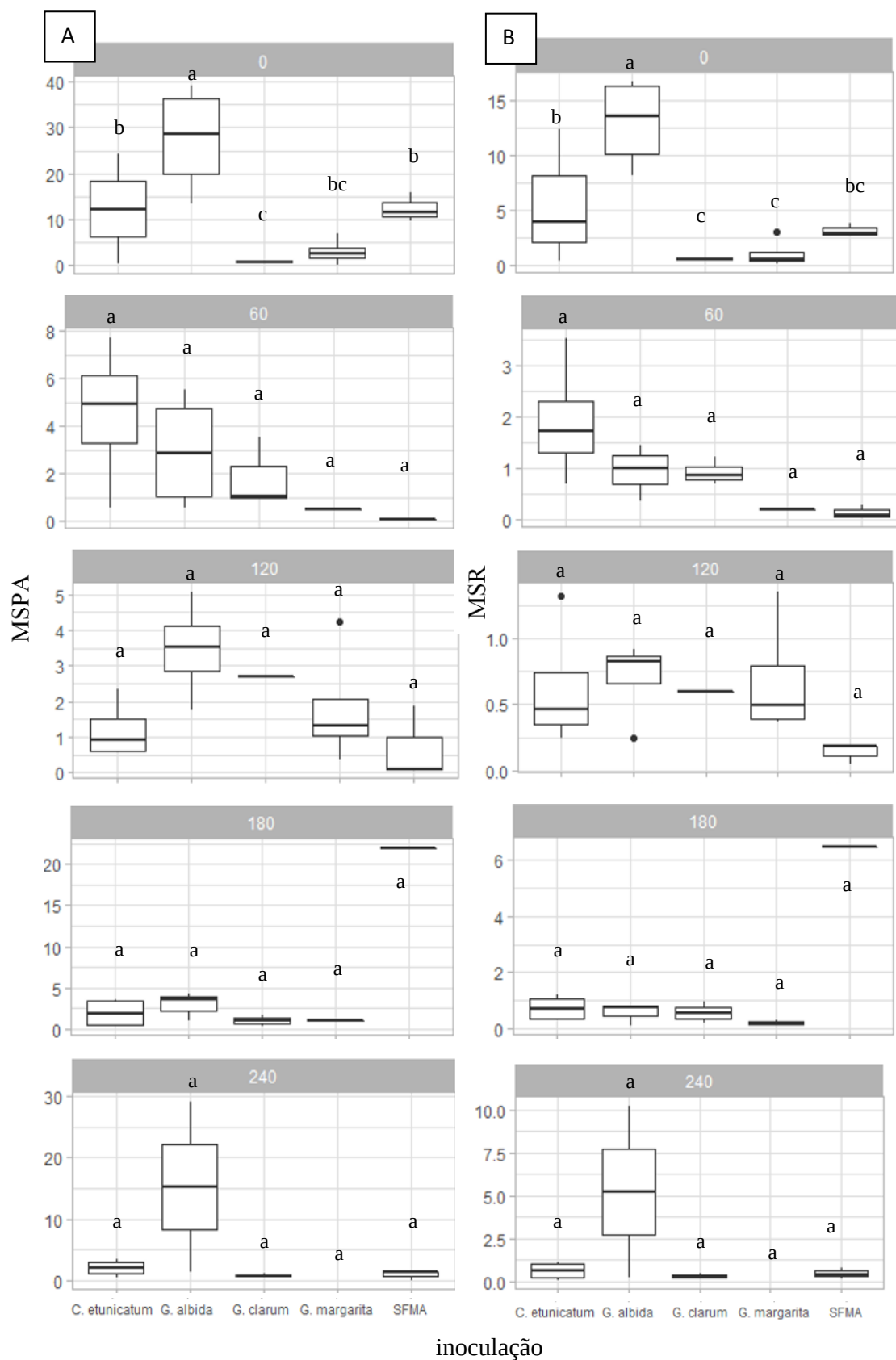
A Figura 7 ilustra o acúmulo de matéria seca em cada tratamento com micorrização em resposta às doses de P. Somente mudas inoculadas com *C. etunicatum*, *G. albida* e apresentaram diferenças estatísticas significativas para as doses de fósforo. Houve ajuste quadrático para as variáveis, mostrando a maior eficiência, dos dois simbiontes, no acúmulo de matéria de parte aérea e raiz na ausência de P. As doses mínimas de fósforo calculadas para MSPA (Figura 7A) e MSR (Figura 7B) com inoculação de *G. albida* foram 142 e 166 mg kg⁻¹ de P, respectivamente e para *C. etunicatum* foram 151 mg kg⁻¹ de P para MSPA e 142 mg kg⁻¹ de P para MSR. Os demais tratamentos com fungos micorrízicos não apresentaram diferenças estatisticamente para as doses de fósforo estudadas.

Em acúmulo de massa seca total (MST), os resultados obtidos foram semelhantes aos resultados de MSPA e MSR. As doses mínimas de fósforo calculadas que promoveriam o menor acúmulo de MST em plantas inoculadas com *G. albida*, e *C. etunicatum* foram 149 e 174 mg kg⁻¹ de P (Figura 8).

Os resultados demonstram que o aumento nas doses de P apresentam maior efeito sobre a simbiose entre as mudas de canafístula e *G. albida*, quando comparada à simbiose com *C. etunicatum*.

Feitosa e Santos (2016), pesquisando os efeitos da inoculação de *G. etunicatum* e doses de P em mudas de duas espécies da família Fabaceae, *Piptadenia stipulacea* (jurema branca) e *Caesalpineia ferrea* (pau-ferro) verificaram que não houve diferença entre as produções de MSPA para os diferentes tratamentos de P nas mudas micorrizadas, e, que na ausência de micorrização a produção de matéria seca foi significativamente inferior às mudas micorrizadas.

Os dados de matéria seca obtidos corroboram com os dados de colonização e crescimento, demonstrando superioridade na simbiose com *G. albida*, bem como a desvantagens na inoculação com *G. margarita* e *G. clarum*.



Médias seguidas de letras distintas são diferentes entre si a 1% de probabilidade.

Figura 6. (A) Massa seca de parte aérea – MSPA e (B) Massa seca de raiz – MSR (g) de mudas de canafistula submetidas a inoculação com fungos micorrízicos em função das doses 0, 60, 120, 180 e 240 mg kg⁻¹ de fósforo.

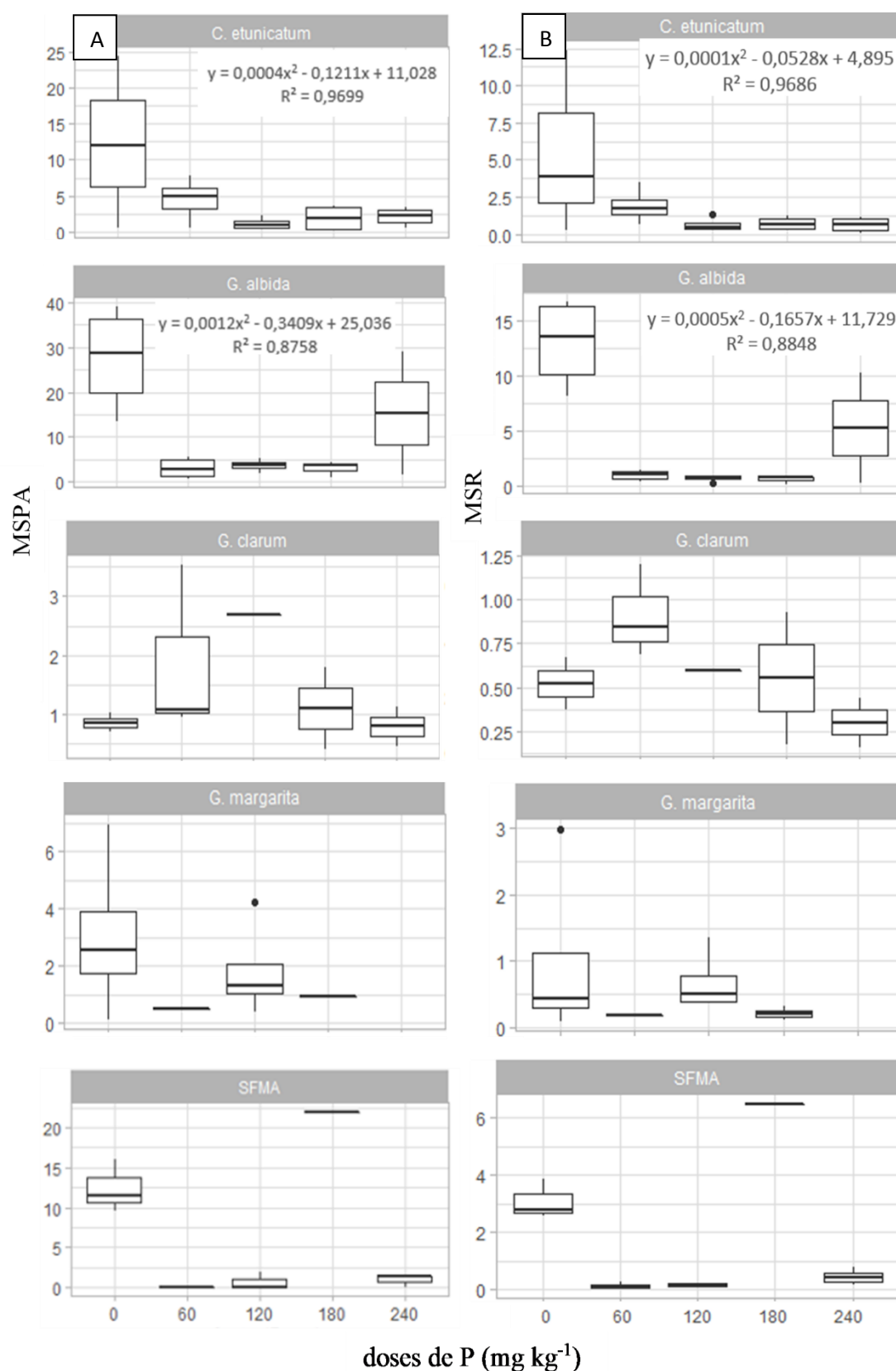
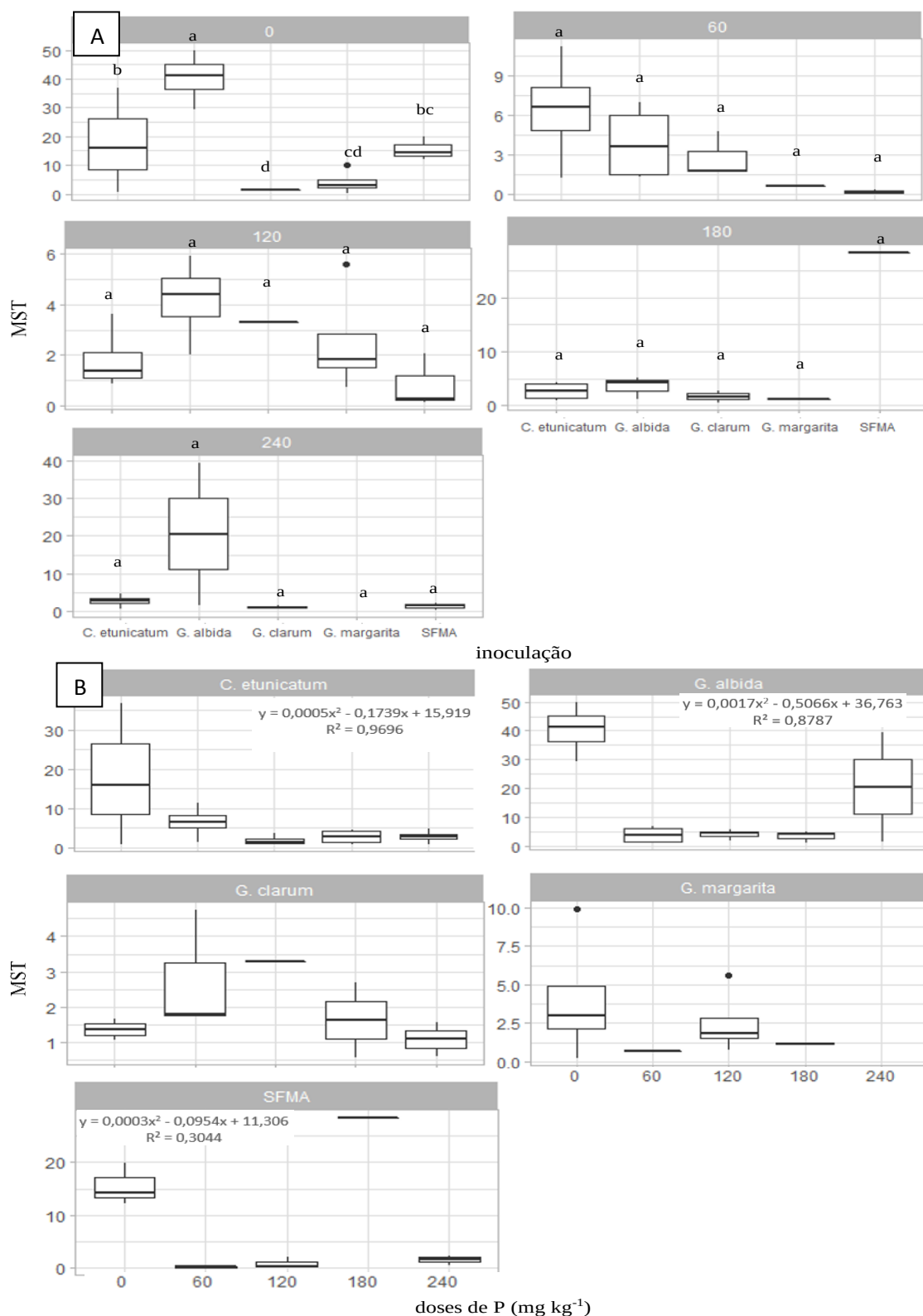


Figura 7. (A) Massa seca de parte aérea – MSPA e (B) Massa seca de raiz – MSR (g) de mudas de canafístula inoculadas com fungos micorrízicos (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora albida* e *Clareoideoglomus etunicatum*) e o controle (sem FMAs) sob doses de fósforo.



Médias seguidas de letras distintas são diferentes entre si a 1% de probabilidade.

Figura 8. (A) Massa seca total (MST) de mudas de canafístula sob inoculação com fungos micorrízicos sob as doses 0, 60, 120, 180, 240 mg kg⁻¹ de fósforo e (B) respostas fisiológicas de mudas de canafístula inoculadas com fungos micorrízicos (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora albida* e *Clareoideoglomus etunicatum*) e o controle (sem FMAs) sob doses de fósforo.

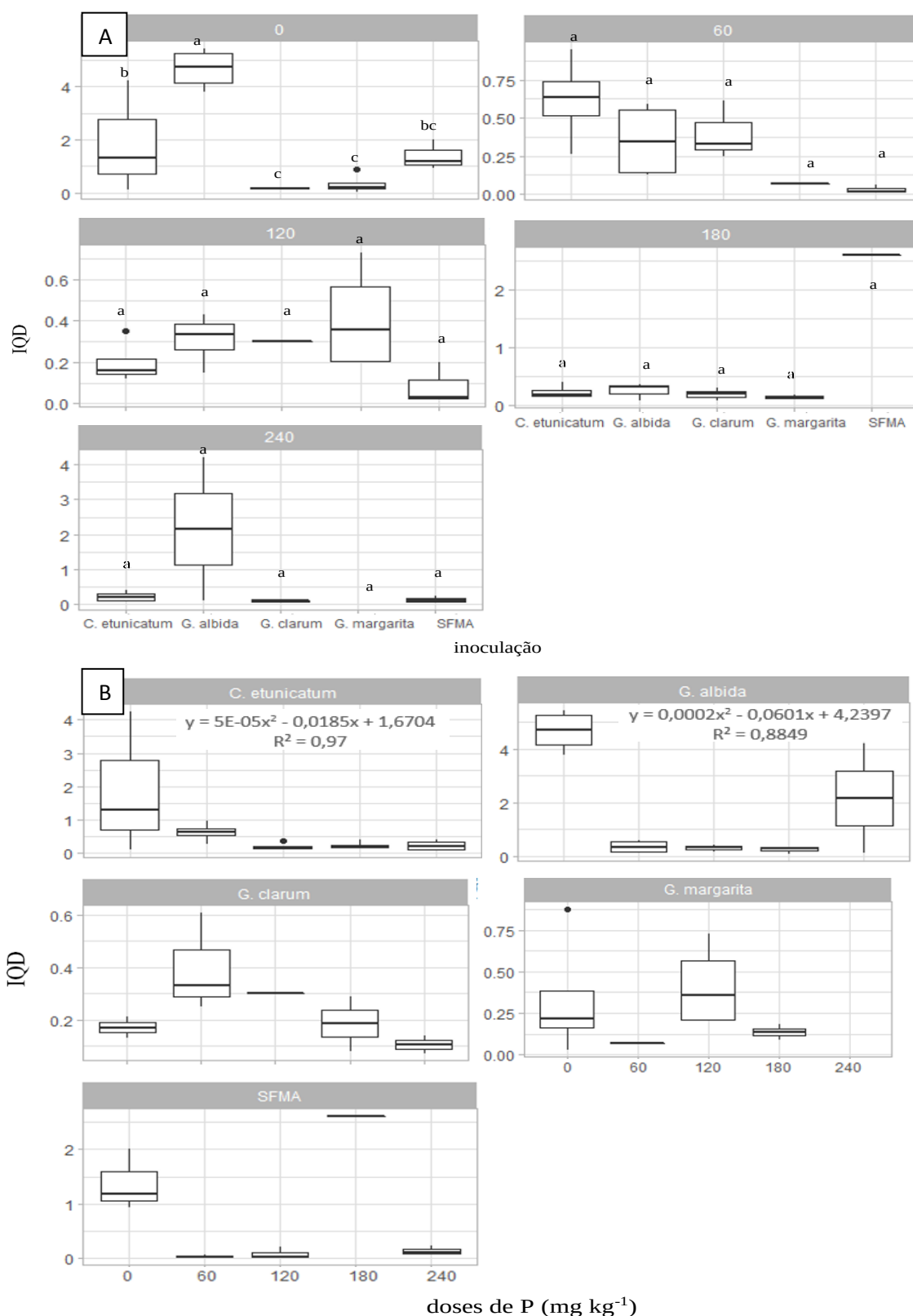
Na Figura 9A e 9B são apresentados os valores de dispersão de IQD obtidos no presente trabalho.

Só houve diferença entre os tratamentos com FMAs na ausência de fósforo, onde os maiores valores de IQD foram 4,67; 1,74 e 1,24 para *G. albida*, *C. etunicatum* e SFMA, respectivamente. Nos tratamentos com aplicação de fósforo, os valores de IQD obtidos foram abaixo de 1,0 (Figura 9A).

A avaliação da qualidade das mudas de plantas arbóreas, ainda no viveiro, por meio de índices que expressam relações entre os parâmetros de crescimento, pode ser uma ferramenta para identificar seu adequado desenvolvimento, bem como se as mudas estão com o máximo potencial para sobrevivência após a expedição para o campo (SILVA et al, 2012).

De acordo com Caldeira et al. (2012), quanto maior o IQD, melhor a qualidade da muda produzida porém, não há na literatura valores de referência quanto à qualidade para as diferentes espécies arbóreas nativas, o que dificulta a análise dos índices (FERRAZ e ENGEL, 2011). Gomes e Paiva (2011) afirmam que para as mudas serem consideradas de qualidade é necessário IQD maior que 0,2 (*Pseudotsuga Menziessi* e *Picea Abies*). O valor descrito se aplica bem a canafístula, com destaque para os tratamentos com FMAS supracitados.

A Figura 9B ilustra a resposta de mudas sob inoculação com o simbionte específico em relação às doses de fósforo aplicadas. Mudas inoculadas com *G. albida* e *C. etunicatum* submetidos à dose zero apresentaram maior qualidade das mudas com IQD superiores aos demais tratamentos micorrízicos. Foram obtidas, para ambos os tratamentos, curva de ajuste quadrático para IQD em relação das doses de fósforo aplicadas, onde as doses mínimas de fósforo calculadas para os tratamentos *G. albida* e *C. etunicatum* foram 150 e 185 mg kg⁻¹. Segundo Gomes et al. (2013) e Caldeira et al. (2008), o IQD é uma característica variável em função da espécie, do manejo das mudas no viveiro, do tipo e proporção do substrato, do volume do recipiente e, principalmente, de acordo com a idade em que a muda foi avaliada. Em *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* a inoculação com *Glomus clarum* + *Gigaspora margarita* não resultou em benefícios no incremento em qualidade das mudas (SOARES et al., 2017). No caso em estudo, a simbiose com *G. albida* proporcionou maior qualidade de mudas de canafístula.



Médias seguidas de letras distintas são diferentes entre si a 1% de probabilidade.

Figura 9 (A). Índice de Qualidade de Dickson - IQD de mudas de canafístula inoculadas com fungos micorrízicos sob as doses 0, 60, 120, 180, 240 mg kg⁻¹ de fósforo e (B) respostas fisiológicas de mudas de canafístula inoculadas com fungos micorrízicos (*Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora albida* e *Clareoideoglomus etunicatum*) e o controle (sem FMAs) sob doses de fósforo.

O índice de clorofila não sofreu influência do uso de FMAs e das doses de P nas avaliações realizadas aos 90 e 120 DAP.

Quanto à dependência micorrízica (DM) e eficiência micorrízica (EM), as mudas inoculadas com a espécie *G. albida* apresentaram alta dependência e eficiência micorrízica para todas as doses de fósforo avaliadas, exceto na dose 180 mg kg⁻¹. O mesmo comportamento foi observado para *C. etunicatum* com destaque para a dose 60 mg kg⁻¹ de fósforo, onde a dependência é classificada como alta (Figuras 10 e 11). A eficiência da associação entre FMAs e plantas pode ser quantificada através de um índice obtido através da razão entre a diferença do peso seco de plantas inoculadas e não inoculadas, pelo peso seco de plantas inoculadas, expresso em porcentagem. Os percentuais representam o grau de dependência da planta pelo fungo, onde >75% é considerada dependência muito alta; 51 a 75%, dependência alta; 26% a 50%, dependência média e 0% dependência nula (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; MIRANDA, 2008).

Pode-se verificar também que as respostas quanto à dependência a simbiose foram diferentes em razão do microbionte e das doses de P, onde os simbiontes *G. clarum* e *G. margarita* apresentaram alta dependência para as doses 60 e 120 mg kg⁻¹ de fósforo, e valores de dependência micorrízica negativa para as demais doses (Figura 9 e 10). Isso sugere que plantas inoculadas com estes fungos e nestas doses de P apresentaram menor acúmulo de massa seca em comparação ao controle e que os microbiontes não encontraram condições favoráveis para beneficiar as mudas, sendo possível caracterizar esta interação como parasítica.

A capacidade do fungo de estimular o crescimento da planta é determinada pelas características dos componentes da simbiose, principalmente do microbionte, que pode apresentar diferentes graus de eficiência, sendo até mesmo ineficaz ou parasítico temporário das plantas hospedeiras. Contudo, a disponibilidade de fósforo no solo é fator determinante na resposta da planta a inoculação com FMA, e indica o grau de benefício da associação que varia quanto à dependência micorrízica (DM) e indica o potencial de benefício da inoculação (FEITOSA e SANTOS, 2016).

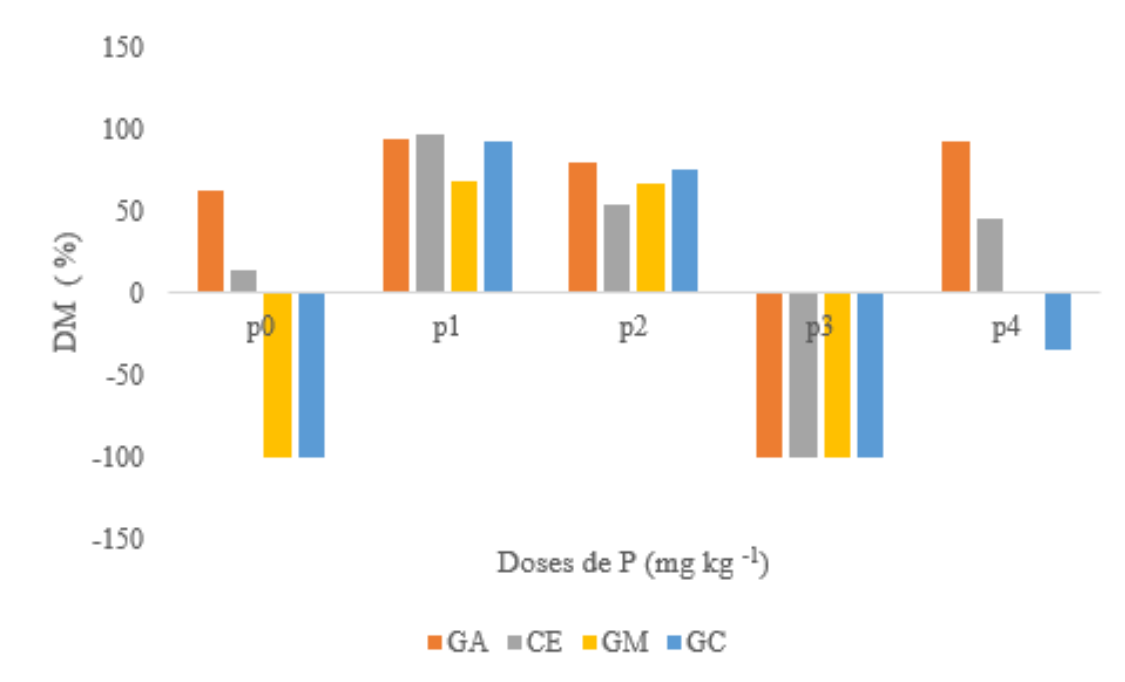


Figura 10. Dependência micorrízica em mudas de canafístula inoculadas com diferentes fungos micorrízicos (GA: *Gigaspora albida*; CE: *Clareoideoglossum etunicatum*; GM: *Gigaspora margarita*; GC: *Glomus clarum*).

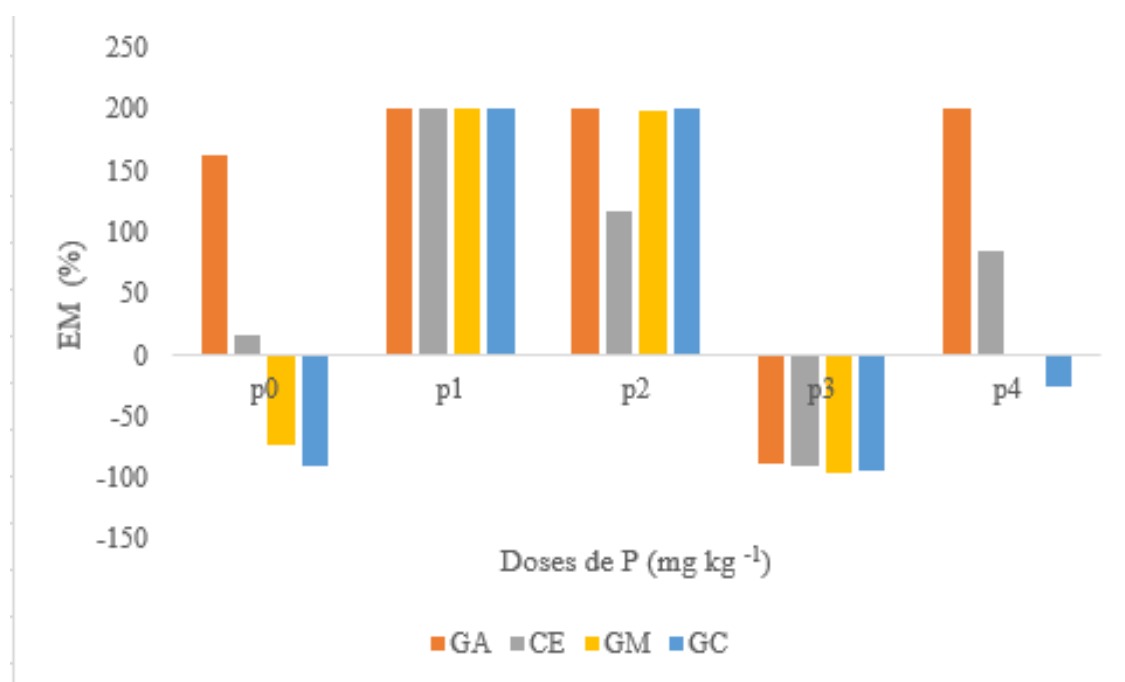


Figura 11. Eficiência micorrízica em mudas de canafístula inoculadas com diferentes fungos micorrízicos (GA: *Gigaspora albida*; CE: *Clareoideoglossum etunicatum*; GM: *Gigaspora margarita*; GC: *Glomus clarum*).

4. CONCLUSÕES

- A ação de *G. albida* no desenvolvimento de mudas de canafístula foi maior na ausência de adubação fosfatada;
- A adubação fosfatada na dose 60 mg kg⁻¹ P proporcionou melhores condições para micorrização da espécie *C. etunicatum*;
- A simbiose com as espécies *G. clarum* e *G. margarita* é ineficaz para a produção de mudas;

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAI, F.K., GONÇALVES, G. G. G.; PEREIRA, S. B.; COMUNELLO, E.; VITORINO, A. C. T.; DANIEL, O. Espacialização da precipitação e erosividade na Bacia Hidrográfica do Rio Dourados - MS. **Engenharia Agrícola**, v. 30, n. 5, p. 922-931, 2010.
- BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; STENZEL, N. M. C. Mycorrhizal efficiency in acerola seedlings with different levels of phosphorus. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 54 n. 3, p. 457-464, 2011.
- BRACHTVOGEL, E. L.; MALAVASI, U. C. Volume do recipiente, adubação e sua forma de mistura ao substrato no crescimento inicial de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert em viveiro. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 2, p. 223-232, 2010.
- BRANCALION, P. H. S.; RODRIGUES, R. R.; GANDOLFI, S.; KAGEYAMA, P. Y.; NAVE, A. G.; GANDARA, F. B.; BARBOSA, L. M.; TABARELLI, M. Instrumentos legais podem contribuir para a restauração de florestas tropicais biodiversas. **Revista Árvore**, Viçosa, v.34, n.3, p.455-470, 2010.
- BRITO, V. N.; TELLECHEA, F. R. F.; HEITOR, L. C.; FREITAS, M. S. M.; MARTINS, M. A. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada na produção de mudas de paricá. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 2, p. 485-497, 2017.
- CALDEIRA, M. V. W.; BLUM, H.; BALBINOT, R.; LOMBARDI, K. C. Uso do resíduo do algodão no substrato para produção de mudas florestais. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais*, v. 6, p. 191 - 202. 2008.
- CALDEIRA, M. V. W.; DELARMELINA, W. M.; LÜBE, S. G.; GOMES, D. R.; GONÇALVES, E. O.; ALVES, A. F. Biossólido na composição de substrato para a produção de mudas de *Tectona grandis*. **Floresta**, Curitiba, v. 42, n. 1, p. 77 - 84, 2012.
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C. Fósforo e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares no estabelecimento de mudas de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 34, n. 3, p. 119-125, 2004.
- CHAGNON, P. L.; BRADLEY, R. L.; MAHERALI, H.; KLIRONOMOS, J. N. A trait-based 475 framework to understand life history of mycorrhizal fungi. **Trands plant Science**, London, v. 18, p. 476-491, 2013.
- COLODETE, C. M., SOUZA, S. B. DE; BARBIRATO, J. de O., RUAS, K. F. Novas perspectivas da simbiose micorrízica e seus facilitadores transmembrânicos na interface da troca bidirecional de nutrientes minerais: revisão. **Perspectiva on line: Biologia & Saúde**. Campos dos Goytacazes. v. 12, n. 3, p. 8-21, 2014.
- COSTA, C. M. C.; CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; SANTOS, V. F.; MAIA, L. C. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de mangabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p.225- 232, 2005.

COUTINHO, E. S.; BARBOSA, M.; BEIROZ, W.; MESCOLOTTI, D. L. C.; BONFIM, J. A.; BERBARA, R. L. L.; FERNANDES, G. W. Soil constraints for arbuscular mycorrhizal fungi spore community in degraded sites of rupestrian grassland: **Implications for restoration. European Journal of Soil Biology**, Amsterdã, v. 90, p. 51–57, 2019.

CRUZ, C. A. F. E., PAIVA, H. N. de, CUNHA, A. C. M. C. M. da, NEVES, J. C. L. Produção de mudas de canafístula cultivadas em latossolo vermelho amarelo álico em resposta à macronutrientes. **Cerne**, Lavras, v. 18, n. 1, p. 87-98, 2012.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forestry Chronicle**, Canadá, v. 36, n. 1, p. 10-13, 1960.

DOBO, B.; ASEFA, F.; ASFAW, Z. Phosphorus requirement for colonization by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and effect of AMF inoculants on growth of perennial crops and agroforestry trees. **East African Journal of Science**, v. 10, n. 2, p. 77-86, 2016.

FAHEY, C.; WINTER, K.; SLOT, M.; KITAJIMA, K. Influence of arbuscular mycorrhizal colonization on whole-plant respiration and thermal acclimation of tropical tree seedlings. **Ecology and Evolution**; v.6, n.3, p.859–870, 2016.

FARIAS D. da H.; PINTO, M. A. V.; CARRA, B.; SCHUCH, M. W.; SOUZA, P. V. D. Desenvolvimento de mudas de mirtilheiro inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, p. 655-663, 2014.

FEITOSA, A. G.; SANTOS, D. R. Fósforo e fungos micorrízicos no crescimento de mudas arbóreas da caatinga. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Patos, v. 12, n. 4, p. 392-396, 2016.

FERRAZ, A. de V.; ENGEL, V. L. Efeito do tamanho de tubetes na qualidade de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* l. var. *stilbocarpa* (HAYNE) LEE ET LANG.), ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (MART. EX DC.) SANDL.) e guarucaia (*Parapiptadenia rigida* (BENTH.) BRENNAN). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 413-423, 2011.

FERREIRA, D. A.; CARNEIRO, M. A. C.; SAGGIN-JUNIOR, O. J. Fungos micorrízicos arbusculares em um Latossolo Vermelho sob manejos e usos no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 51-61, 2012.

GOMES, J. M.; PAIVA, H. N. **Viveiros florestais (propagação sexuada)**. Viçosa: UFV, 2011. 116p.

GOMES, D. R.; CALDEIRA, M. V. W.; DELARMELINA, W. M.; GONÇALVES, E. O.; TRAZZI, P. A. Lodo de esgoto como substrato para a produção de mudas de *Tectona grandis* L. **Cerne**, Lavras, v. 19, n. 1, p. 123 - 131, 2013.

GONÇALVES, J. L. M.; SANTARELLI, E. G.; MORAES NETO, S. P. Produção de mudas de espécies nativas: substrato, nutrição, sombreamento e fertilização. In: GONÇALVES, J. L. M, BENEDETTI, V. **Nutrição e fertilização florestal**. Instituto de Pesquisas Florestais (Ipef), Piracicaba, São Paulo, 2000. p.310-350.

HEITOR, L. C.; FREITAS, M. S. M.; BRITO, V. N.; CARVALHO, A. J. C.; MARTINS, M. A. Crescimento e produção de capítulos florais de calêndula em resposta à inoculação micorrízica e fósforo. **Horticultura Brasileira**, Vitoria da Conquista, v. 34, n. 1, 2016.

HOFFMANN, V. L.; LUCENA, S. V. **Para entender micorrizas arbusculares**. EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA Algodão, Doc. 156, Campina Grande-PB, 2006, 22p.

KIRIACHEK, S. G.; AZEVEDO, L. C. B. de; PERES, L. E. P.; LAMBAIS, M. R. Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 1-16, 2009.

KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycology Rasearch, Cambridge**, v.92, n.4, p.488-505, 1989.

LEE, E. H.; EO, J. K.; KA, K. H.; EOM, A. H. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their roles in ecosystems. **Mycobiology**, v. 41, p. 121-125, 2013.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 309p.

MASSAD, M. D.; DUTRA, T. R; MEIRELES, I. E. da S. M. SARMENTO, M. F. Q.; SANTOS, A. R. dos; MENEZES, E. S. Avaliação do crescimento de canafístula em diferentes densidades de mudas por bandeja e volumes de tubetes. **Ecologia e Nutrição Florestal**, Santa Maria, v.5, n. 1, p. 1-9, 2017.

M'BARKI, N.; TEKAYA, M.; ALSSAOUL, F.; CHEHAB, H. Comparative microscopic observations of arbuscular mycorrhizal fungi after colonization of five Tunisian olive cultivars. **African Journal of Agricultural Research**. v. 13, n. 21, p. 1095-1100, 2018.

MIRANDA, J. C. C. Dinâmica de fungos micorrízicos arbusculares e produção de inoculante. In: MIRANDA, J. C. C. de. **Cerrado: micorriza arbuscular: ocorrência e manejo**. Planaltina: EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA Cerrados, cap. 4, p. 67-86, 2008.

MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Ed. UFLA, 2006.

MUSSI, N. S. CARVALHO, M. de O.; SILVA, M. M.; CAMPOS, A. N. da R.; CUNHA, A. C. M. C. M. Substratos orgânicos na produção de mudas de canafístula. **Cadernos de Agroecologia**. Porto Alegre, v. 8, n. 2, 2013 (Resumos do VIII Congresso Brasileiro de Agroecologia).

OWEN, D.; WILLIAMS, A. P.; GRIFFITH, G.W.; WITHERS, P. J. A. Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition. **Applied Soil Ecology**, v. 86, p. 41–54, 2015.

PAIVA, N.; GOMES, M. **Viveiros florestais (cadernos didáticos)**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2000. 69 p.

PASQUALINE, D.; UHLMANN, A.; STURMER, S. L. Arbuscular mycorrhizal fungal communities influence growth and phosphorus concentration of woody plants species from the Atlantic rain forest in South Brazil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 245, n. 1/3, p. 148-145, 2007.

PATERSON, E.; SIM, A.; DAVIDSON, J.; DANIELL, T. J. Arbuscular mycorrhizal hyphae promote priming of native soil organic matter mineralisation. **Plant and Soil**, v. 408, p. 243-254, 2016.

PINHEIRO J. et al. R Core Team. **nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models**. R package version 3.1-139. 2019. <URL: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>>.

PLENCHETTE, C.; FORTIN, J. A.; FURLAN, V. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. **Plant and Soil**, The Hague, v. 70, n. 2, p. 199-209, 1983.

RAIJ, B. Van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1997. 285p.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <http://www.R-project.org/>

ROSARIO-MARTINEZ, H. **phia: Post-Hoc Interaction Analysis**. R package version 0.2-1. 2015. <https://CRAN.R-project.org/package=phia>

SAMARÃO, S. S.; RODRIGUES, L. A.; MARTINS, M. A.; MANHÃES, T. M.; ALVIM, L. A. da M. Desempenho de mudas de graviola inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em solo não-esterilizado, com diferentes doses de fósforo. **Acta Scientiarum Agronomy**. Maringá. v. 33, n. 1, p. 81-88, 2011.

SANTOS, P. C.; FREITAS, M. S. M.; FREITAS, S. J.; SILVA, M. P. S. Fungos micorrízicos no crescimento e nutrição de rebentos oriundos de coroa de abacaxi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 658-665, 2011.

SCALON, S. P. Q.; SCALON FILHO, H.; RIGONI, M. R.; VERALDO, F. Germinação e crescimento de mudas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) sob condições de sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.3, p.652-655. 2001.

SCHEER, M. B.; CARNEIRO, C.; BRESSAN, O. A.; SANTOS, K. G. Compostos de lodo de esgoto para a produção de mudas de *Anadenanthera colubrina* (vell.) Brenan. **Cerne**, Lavras, v. 18, n. 4, p. 613-621, 2012.

SCHNEIDER, J. OLIVEIRA, L. M. de; GUILHERME, L. R. G. Espécies tropicais de pteridófitas em associação com fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com arsênio. **Química Nova**, v. 35, p. 709-714, 2012.

SHELDRAKE, M.; ROSENSTOCK, N. P.; REVILLINI, D.; OLSSON, P. A.; MANGAN, S.; SAYER, E. J.; WALLANDER, H.; TURNER, B. L.; TANNER, E. V. J. Arbuscular mycorrhizal fungal community composition is altered by long-term litter removal but not litter addition in a lowland tropical forest. **New Phytologist**, v. 214, p. 455-467, 2017.

SILVA, M. A.; SILVA, F. S. B.; YANO-MELO, A. M. Fungos micorrízicos arbusculares e vermicomposto na aclimação de *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum e *Zingiber spectabile* Griff. (Zingiberaceae). **Acta Botânica Brasileira**, Belo Horizonte, v. 20, n. 2, p. 249-256, 2006.

SILVA, R. F.; SAIDELLES, F. L. F.; KEMERICH, P. D. C.; STEFFEN, R. B.; SWAROWSKY, A.; SILVA, A.S. Crescimento e qualidade de mudas de Timbó e Dedaleiro cultivadas em solo contaminado por cobre. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 16, n. 8, p. 881-886, 2012.

SOARES, M. T. S.; GAIAD, S.; RESENDE, A. S. de; MENEZES, G. I. de; FERNANDES, F. A.; FERNANDES, A. H. B. M. Qualidade de mudas de espécies arbóreas procedentes do Bioma Pantanal e inoculadas com fungos micorrízicos. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 37, n. 91, p. 311-322, 2017.

SOUZA, C. A. M.; OLIVEIRA, R. B.; MARTINS FILHO, S.; LIMA, J. S. Desenvolvimento em campo de espécies florestais em diferentes condições de adubação. **Ciência Florestal**, v. 16, p. 243-249, 2006.

SUGAI, M. A. A.; COLLIER, L. S.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Inoculação micorrízica no crescimento de mudas de angico em solo de cerrado. **Bragantia**, Campinas, v. 70, p. 416-423, 2011.

TABARELLI, M.; AGUIAR, A. V.; RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; PERES, C. A. Prospects for biodiversity conservation in the Atlantic Forest: Lessons from aging human-modified landscapes. **Biological Conservation**, Amsterdã, v. 143, p. 2328-2340, 2010.

TROUVELOT, A., KOUGH, J. L.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. (Ed.). **Mycorrhizae: physiology and genetics**. Paris: INRA-Press, p. 217-221, 1986.

VALLADARES NETO, J.; SANTOS, C. B. dos; TORRES, E. M.; ESTRELA, C.; PERES, C. A. Boxplot: um recurso gráfico para a análise e interpretação de dados quantitativos. **Rev Odontol Bras Central**, v. 26, n. 76, p. 1-6, 2017.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Há existência de diversidade genética entre e dentro das populações de canafístula estudadas, indicando a possibilidade de seleção de indivíduos para melhoramento e conservação da espécie. Considerando a fragmentação das populações de canafístula no estado de Mato Grosso do Sul e a escassez de relatos na literatura sobre a distribuição dessa variabilidade dentro ou entre populações, estes resultados contribuem para o conhecimento genético da espécie, fornecendo subsídios para programas de melhoramento genético, conservação e manejo florestal no estado.

Para prosseguimento no estudo da diversidade da espécie, sugere-se a seleção de progênies para composição de um pomar de produção de sementes e, em fases futuras, a seleção de famílias ou clones para utilização em projetos de produção comercial ou restauração de áreas de reserva legal, visando a produção local de madeira de forma sustentável.

No tocante à produção de mudas, o estabelecimento de um protocolo de micropropagação da espécie é imprescindível para a produção de mudas em larga escala, quer seja para fomentar a restauração de áreas, ou para fins comerciais. A provável recalcitrância de espécie, sugerida neste trabalho, deve ser o primeiro ponto a ser investigado.

Para a produção de mudas em fase de viveiro, o conhecimento de alternativas biológicas, como é o caso de FMAs, que favoreçam o crescimento e desenvolvimento das mudas e promovam melhor estabelecimento a campo é imprescindível do ponto de vista ambiental, uma vez que auxiliam os processos de recuperação das áreas degradadas. Para a canafístula, o uso de *G. albida* na ausência de adubação fosfatada, se mostra a alternativa mais viável ambiental e economicamente sob as condições do presente estudo para o desenvolvimento das mudas.