

**INSTITUTO FEDERAL DE MINAS GERAIS
CAMPUS SÃO JOÃO EVANGELISTA
RODOLFO LUIZ CARVALHAIS LIMA**

**EFEITO DE BENZEMILAPURINA NA PRODUÇÃO DE MUDAS *IN VITRO* DE
JACARANDÁ DA BAHIA (*Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth)**

**SÃO JOÃO EVANGELISTA
2016**

RODOLFO LUIZ CARVALHAIS LIMA

**EFEITO DE BENZEMILAPURINA NA PRODUÇÃO DE MUDAS *IN VITRO* DE
JACARANDÁ DA BAHIA (*Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto Federal de Minas Gerais - Campus São João Evangelista como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Dra. Juliana Jerásio Bianche
Co-orientador Me. Alisson José E. Carvalho

SÃO JOÃO EVANGELISTA

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

L733e Lima, Rodolfo Luiz Carvalhais.
2016

Efeito de Benzemilapurina na produção de mudas in vitro de Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth. / Rodolfo Luiz Carvalhais Lima. – 2016.

28f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus São João Evangelista, 2016.

Orientadora: Dra. Juliana Jerásio Bianche.

Coorientador: Me. Alisson José E. Carvalho.

1. Citocinina. 2. Espécies arbóreas. 3. Reguladores de crescimento. I. Lima, Rodolfo Luiz Carvalhais. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus São João Evangelista. III. Título.

CDD 631.8

Elaborada pela Biblioteca Professor Pedro Valério

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais
Campus São João Evangelista

Bibliotecária Responsável: Rejane Valéria Santos – CRB-6/2907

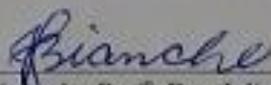
RODOLFO LUIZ CARVALHAIS LIMA

EFEITO DE BENZEMILAPURINA NA PRODUÇÃO DE MUDAS *IN VITRO* DE
JACARANDÁ DA BAHIA (*Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth)

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Instituto Federal de Minas Gerais- Campus
São João Evangelista como exigência parcial
para obtenção do título de Bacharel em
Agronomia.

Aprovada em: 12, 12, 2016

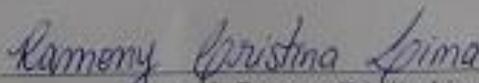
BANCA EXAMINADORA



Orientador Prof.ª Dra. Juliana Jerásio Bianche
Instituto Federal de Minas Gerais – Campus São João Evangelista



Co-orientador Prof. Me. Alisson José Eufrásio de Carvalho
Instituto Federal de Minas Gerais – Campus São João Evangelista



Mestranda Ramony Cristina Lima
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – Campus Diamantina

DEDICATÓRIA

A todos meus familiares,
Em especial aos meus pais,
Antônio Luiz de Lima &
Maria da Conceição Carvalhais Lima.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida.

Agradeço a todos meus familiares, em especial meus pais, Antônio Luiz de Lima e Maria da Conceição Carvalhais Lima, por sempre estarem presentes em minha vida, sempre me incentivando e apoiando.

Aos meus professores pelo apoio, confiança, orientações, em especial agradeço minha orientadora prof. Dra. Juliana, pelo auxílio, pelo voto de confiança e motivação.

A todos funcionários do IFMG – Campus São João Evangelista que de alguma forma contribuíram realização desse trabalho.

Não poderia de deixar de agradecer a todos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado, sempre me ajudando, em especial ao Caique, Camila, Wesley.

"Nenhum caminho é longo demais quando um amigo nos
acompanha".

(Autor desconhecido)

RESUMO

O uso de reguladores de crescimentos pode influenciar na germinação *in vitro* de várias espécies arbóreas. Objetivou-se avaliar o efeito de concentrações da citocinina 6-Benzemilapurina na germinação *in vitro* de sementes de Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra* Fr Allem). O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), do IFMG-Campus São João Evangelista no período de setembro a outubro de 2016. O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), constando quatro tratamentos com oito repetições, onde, cada unidade amostral apresentou-se cinco repetições de tubos de ensaio com uma semente cada, em esquema fatorial (4 x 8 x 5). Foi avaliado o efeito de quatro concentrações ($T_1 - 0,0 \text{ mg.L}^{-1}$; $T_2 - 2,0 \text{ mg.L}^{-1}$; $T_3 - 4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ e $T_4 - 8,0 \text{ mg.L}^{-1}$) de 6-Benzemilapurina (BAP) na germinação. Foram selecionadas sementes que não apresentavam nenhum dano mecânico, posteriormente foram desinfestadas em câmara de fluxo laminar, por 1 minuto em álcool 70% e imergidas em hipoclorito de sódio, 2,5 % de cloro ativo, acrescido com três gotas de Tween-20 durante 10 minutos. Não houve quebra de dormência. Foi utilizado meio de cultura MS (Murashige & Skoog), sendo o mesmo autoclavado a 120 °C, 1 atm por 20 minutos. Cada frasco continha 15 ml de meio nutritivo. Após transplante das sementes para o meio, as mesmas foram mantidas em sala de crescimento por 30 dias à temperatura $25 \pm 2 \text{ °C}$, sob fotoperíodo de 16 horas luz e 8 horas escuro na mesma temperatura. Aos 30 dias, avaliou-se a porcentagem de germinação, emissão da parte aérea, tamanho da parte aérea, número de raízes, diâmetro do coleto, número de folhas, tamanho das raízes, massa fresca da raiz, massa fresca parte aérea, índice de contaminação e oxidação do meio de cultura. Realizou-se análise de variância a 5 % de significância e regressão linear para os parâmetros significativos. A significância estatística em nível de tratamento foi observado para o tamanho médio de raízes ($p > 0,05$) e para o número de folhas ($p > 0,01$). Dosagens muito baixas e/ou muito elevadas desse hormônio proporcionaram maior comprimento das raízes e maior número de folhas. Recomenda-se mais estudos sobre adição de hormônios na germinação *in vitro* de sementes dessa espécie.

Palavras-chave: Citocinina. Espécies arbóreas. Hormônio.

ABSTRACT

The use of growth regulators may influence the in vitro germination of various tree species. The objective of this study was to evaluate the effect of cytokinin 6-Benzemilapurine concentrations on in vitro germination of the seeds of Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra* Fr Allem). The experiment was conducted at the Vegetable Tissue Culture Laboratory (LCTV), IFMG-Campus São João Evangelista from September to October 2016. The experiment was conducted in a completely randomized design (DIC), consisting of four treatments with eight replicates, where each sample unit was submitted to five replicates of test tubes with one seed each, in a factorial scheme (4 x 8 x 5). The effect of four concentrations (T1 - 0.0 mg.L⁻¹, T2 - 2.0 mg.L⁻¹, T3 - 4.0 mg.L⁻¹ and T4 - 8.0 mg.L⁻¹) of 6-Benzylaminopurine (BAP) on germination. Seeds with no mechanical damage were selected, subsequently disinfested in a laminar flow chamber for 1 minute in 70% alcohol and immersed in sodium hypochlorite, 2.5% active chlorine plus three drops of Tween-20 10 minutes. There was no break in dormancy. MS culture medium (Murashige & Skoog) was used, the same being autoclaved at 120 ° C, 1 atm for 20 minutes. Each vial contained 15 ml of nutrient medium. After transplanting the seeds to the medium, they were kept in the growth room for 30 days at 25 ± 2 °C, under a photoperiod of 16 light hours and 8 dark hours at the same temperature. At 30 days, the percentage of germination, aerial shoot size, shoot size, number of roots, collection diameter, leaf number, root size, fresh root mass, fresh aerial mass, Contamination and oxidation of the culture medium. Analysis of variance was performed at 5% significance and linear regression for the significant parameters. Statistical significance at treatment level was observed for mean root size (p> 0.05) and leaf number (p> 0.01). Very low and / or very high doses of this hormone provided greater root length and greater number of leaves. Further studies on the addition of hormones in the in vitro germination of seeds of this species are recommended.

Key words: Cytokinin. Tree species. hormones.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Sementes de *Dalbergia nigra* Vell. (A), inoculação das sementes ao meio de cultura (B), sementes já inoculadas no meio de cultura (C).....19
- Figura 2. Representação gráfica dos atributos tamanho da raiz avaliados no cultivo *in vitro* de sementes de Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra*) em função de concentrações de BAP ($Y=\beta_0+\beta_1C+\beta_2*C^2$)22
- Figura 3. Representação gráfica do atributo número de folhas avaliado no cultivo *in vitro* de sementes de Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra*) em função de concentrações de BAP ($Y=\beta_0+\beta_1C+\beta_2*C^2$).....23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição do meio de cultura MS – Murashig & Skoog.....	18
Tabela 2. Ajuste do modelo linear quadrático ¹	21
Tabela 3. Resumo da análise de variância durante a germinação <i>in vitro</i> Jacarandá da Bahia (<i>Dalbergia nigra</i> Vell.), diferentes concentrações BAP (6-Benzemilapurina)	21
Tabela 4. Resumo da análise de variância dos atributos avaliados durante germinação <i>in vitro</i> Jacarandá da Bahia – <i>Dalbergia nigra</i> em diferentes concentrações de 6-Benzemilapurina...	24

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	13
2- REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1- JACARANDÁ DA BAHIA.....	15
2.2- PROPAGAÇÃO DE PLANTAS	16
2.2.1- Micropropagação	16
2.3- FITOHORMÔNIOS	17
3- METODOLOGIA DA PESQUISA	19
3.1- DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO	19
3.2- PREPARO DO MEIO DE CULTIVO	19
3.3- INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	20
3.4- ANÁLISE MORFOGÊNICA.....	21
4- RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
5- CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1 INTRODUÇÃO

O jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth) é uma espécie nativa, pertencente à família Fabaceae, apresenta caráter pioneiro, chega a atingir quando adulta, altura de 15 a 25 metros, o diâmetro de seu tronco varia de 40 a 80 centímetros. Os indivíduos dessa espécie apresentam característica de produzir grandes quantidades de sementes. Essa espécie é encontrada nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (DONADIO & DEMATTÊ, 2000).

O jacarandá da Bahia apresenta inúmeras qualidades, dentre elas, pode ser utilizada em reflorestamento, devido ser altamente resistentes a solos secos e baixas pluviosidades, é uma espécie muito indicada para restauração de áreas degradadas, além de que sua madeira apresenta densidade entre 0,75 a 1,22 g.cm⁻³, também pode ser utilizada na construção de instrumentos musicais, o que contribuiu para a extinção das espécies nativas. Pouco tem sido feito para a multiplicação das reservas naturais, pois faltam estudos sobre vários aspectos do desenvolvimento, mesmo assim os programas de reflorestamento vêm buscando explorar o potencial de espécies nativas, pelas condições adaptativas e por estas facilitarem o restabelecimento do equilíbrio entre a fauna e a flora, além da grande importância que essas espécies têm na produção de madeira e na conservação ambiental (MARQUES et al., 2006).

A falta de interesse em plantar o jacarandá da Bahia *D. nigra* Vell. é devido a informações na literatura que consideram que esta espécie apresenta crescimento lento e sua alta variação em relação ao índice de germinação. Dessa forma, a técnica de cultura de tecidos surge como uma alternativa para melhorar os índices de germinação e garantir maiores taxas de crescimento e desenvolvimento dessa espécie. A técnica de propagação se baseia no princípio da totipotencialidade da célula vegetal, ou seja, na capacidade de uma célula dar origem a uma nova planta (GALVÃO et al., 1979; MARTINS et al., 2008).

O processo de cultura de tecidos pode ser destacado como sendo uma importante ferramenta de produção de mudas de diferentes espécies, na qual possibilita uma maior produção em curto espaço de tempo, além de preservar as plantas matrizes sem riscos de infecção por microrganismos (SARTOR et al., 2013; BARBOSA; CALDAS, 2001).

A técnica de propagação de plantas *in vitro* é realizada principalmente em laboratórios, isso ocorre devido a necessidade de um ambiente estéril, e controlado, de modo a permitir um bom desenvolvimento das plântulas. Os principais laboratórios especializados em produção comercial de mudas encontram-se na região Sudeste e Sul (STANCATO et al., 2001).

A utilização de sementes como explantes apresenta algumas vantagens, dentre elas, a facilidade de coleta, a disponibilidade em quantidades altas, além de serem mais facilmente descontaminadas em relação a gemas coletadas sob condições naturais. No processo de micropropagação de plantas do cerrado são utilizados alguns hormônios sintéticos, dentre eles a citocininas como BAP (6-Benzemilapurina). A utilização de hormônios estimula a divisão celular e o controle da morfogênese (FUKUDA, 2011).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de BAP (6-Benzemilapurina) na produção de mudas *in vitro* de jacarandá da Bahia.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 JACARANDÁ DA BAHIA

A *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth (Jacarandá da Bahia) é uma planta da família Fabaceae. A árvore dessa espécie apresenta altura variando entre 15 a 25 m, com diâmetro na altura do peito - DAP entre 40 a 80 cm (DONADIO & DEMATTÊ, 2000). Esta espécie apresenta casca fina pardo acinzentada, que se descama em placas longitudinais, permitindo o aparecimento da madeira avermelhada-escura. As folhas são compostas, as flores pequenas, violáceas e perfumadas, os frutos são sâmaras, oblongo e as sementes achatadas, negras e lisas. A floração ocorre nos meses de janeiro a fevereiro e frutificando de março a agosto (LORENZI, 2002). Segundo Rêgo & Possamai (2006), essa espécie é caracterizada como perenifólia a semi-caducifólia, apresentando características secundária tardia a clímax, exclusiva da Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica) dos estados da Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo e Minas Gerais.

A madeira do Jacarandá da Bahia é considerada de alto valor comercial, por ser empregada na fabricação de móveis e pisos nobre (RÊGO & POSSAMAI, 2006). Assim como na fabricação de instrumentos musicais, revestimento de móveis, caixas de rádio, televisão, e também pode ser usada em acabamentos internos na construção civil (GONÇALVES et al., 2014).

Por meio dos avanços extrativistas, assim como, o processo de abertura de novas estradas e o avanço da pecuária, configuram ações que contribuíram para que ocorresse a ameaça de diversas espécies florestais, dentre elas o jacarandá da Bahia (HEINE, 2010). Atualmente, pouco se tem feito em relação a conservação e multiplicação de reservas florestais naturais, e um dos aspectos que dificulta em relação a recuperação dessas áreas é a falta de estudos a respeito dos benefícios das espécies nativas, entretanto, os programas de reflorestamento vêm examinando o potencial das dessas espécies avaliando as mesmas em relação a sua adaptabilidade além das mesmas proporcionarem o restabelecimento do equilíbrio ecológico local (BERNARDINO et al., 2007).

Em relação a biodiversidade de plantas nativas nas propriedades rurais, o jacarandá da Bahia possibilita a preservação dos recursos naturais, como sendo uma opção ao complemento de renda dos produtores, melhorando dessa forma a qualidade de vida dos mesmos (FUKUDA, 2011; BOTIN & CARVALHO, 2015).

2.2 PROPAGAÇÃO DE PLANTAS

O Brasil apresenta atualmente alta produtividade em suas florestas plantadas, principalmente pelas condições climáticas favoráveis, qualidade genética das florestas e pelo manejo adequado (SILVA, 2005). Segundo Canesin et al. (2012), o uso de bioestimulantes é considerado uma das técnicas que proporcionam acréscimo na produção de mudas de espécies nativas.

A propagação de plantas por meio da utilização de sementes ou sexuada, é descrito como sendo o principal meio de reprodução dos vegetais na natureza, embora existam outras formas, como é o caso da propagação vegetativa ou assexuada que consiste na multiplicação de indivíduos utilizando partes vegetativas dos mesmos, dentre as formas de propagação existem diversos métodos como: enxertia, estaquia, mergulhia, alporquia e micropropagação (FRANZON et al., 2010).

2.2.1 Micropropagação

A técnica de propagação vegetativa *in vitro*, também denominada de micropropagação é a aplicação mais prática e de maior impacto da cultura de tecidos (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). A utilização da micropropagação em nível comercial é considerada uma realidade na contemporaneidade em diversos países do mundo, com destaque para a Europa Ocidental e os Estados Unidos (TORRES et al., 1998). O cultivo *in vitro* permite o crescimento e multiplicação de células, tecidos, órgãos ou partes de órgãos de uma planta sobre um meio nutritivo e em condições assépticas e ambientais controladas (iluminação e temperatura). Esta técnica se baseia principalmente no aproveitamento da totipotência das células vegetais, ou seja, na capacidade de produzir órgãos (organogênese) ou embriões que originarão uma planta inteira (embriogênese somática) em um meio de cultivo favorável (INÁCIO, 2010; CARVALHO et al., 2006). Corroborando Ulisses et al. (2010), a técnica de cultivo *in vitro* de plantas abrange conhecimentos interdisciplinares das áreas de morfologia, fisiologia, bioquímica, fitopatologia, genética, entre outras.

A utilização do cultivo de plantas *in vitro* na área florestal é uma importante ferramenta para a conservação de germoplasmas e da aceleração dos programas de melhoramento pela multiplicação de clones de melhor qualidade e em maiores quantidades, além de promover o rejuvenescimento de clones selecionados, o alto potencial na obtenção de sementes sintéticas, da limpeza clonal, pelo fato de obter mudas livres de microrganismos patogênicos, também é utilizada como base para outras técnicas biotecnológicas, como a

transformação genética, (ARAÚJO & LÉDO, 2012). A utilização da micropropagação torna-se possível a elevada produção de mudas em um intervalo de tempo reduzido, permitindo maior controle das condições ambientais e a preservação de plantas matrizes de modo que não ocorra riscos de contaminação por micro-organismos patogênicos (SARTOR et al., 2013).

O sucesso da micropropagação é considerado dependente de inúmeras variáveis que se eventualmente não forem avaliadas podem induzir falhas durante o processo (TORRES et al., 1998). Dentre as variáveis a serem observadas, a desinfestação apresenta grande importância, uma vez que a obtenção de um tecido descontaminado se torna difícil, sendo assim, o processo de desinfestação e germinação *in vitro* de sementes permite a obtenção de plantas assépticas (LENCINA et al., 2014).

A biotecnologia florestal tem como objetivo apoiar os programas de melhoramento genético, para que desse modo possa garantir o suprimento de produtos madeireiros no mercado, além de promover maiores conhecimentos em relação as espécies e gêneros existentes de modo a compreender a evolução e a distribuição de caracteres adaptativos em um contexto ecológico (CANÇADO, 2012).

O meio de cultura utilizado durante o processo de cultivo *in vitro* deve apresentar todas as fontes de micro e macronutrientes, vitaminas, reguladores de crescimento e fontes de carbono e oxigênio para que a planta consiga desenvolver-se como se estivesse em condições naturais de campo, mesmo que o cultivo seja feito *in vitro* e a planta seja heterotrófica e apresente tamanho limitado. Além das funções nutritivas o meio de cultivo deve servir como suporte físico para o explante (CARVALHO et al., 2006).

No cultivo *in vitro* o meio MS (Murashige e Skoog, 1962) é universalmente utilizado especialmente para o estudo da morfogênese, da cultura de meristemas e regeneração de plantas, caracterizando-se pela elevada concentração de sais minerais (QUISEN & ANGELO, 2008).

2.3 FITOHORMÔNIOS

A expressão hormônio vem do grego *horman*, que tem significado “estimular” (BOTIN & CARVALHO, 2015). As citocininas são hormônios vegetais, que são responsáveis pelo desempenho dos papéis fisiológicos importantes nas plantas, desse modo, este hormônio é considerado indispensável nos processos de divisão celular, principalmente na germinação *in vitro* (TAIZ & ZEIGER, 2009). Algumas razões relacionadas a esse hormônio interferem no sucesso do processo de multiplicação *in vitro* dentre eles, o tipo e a sua concentração. Uma das fontes mais usadas desse hormônio é o BAP (6-Benzemilapurina), com elevados índices

de eficiência para a multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias, além de ser uma fonte mais barata em relação as demais (TORRES et al., 1998; VIANNA et al, 2010).

A citocinina é considerada um essencial hormônio para o processo de germinação de plantas (PICOLOTTO et al., 2007), este fitorregulador atua nos processos de quebra da dominância apical, na formação de brotos, senescência da folha, crescimento da raiz além de atuar na germinação de semente e respostas ao estresse (INÁCIO, 2010; FURTADO et al., 2007).

Mediante a técnica de micropropagação diversas citocininas sintéticas são utilizadas, como exemplo o BAP (6-Benzemilapurina), Cinetina (6-furfurilaminopurina) e 2Ip (isopenteniladenina), entre outras (FUKUDA, 2011).

3 METODOLOGIA DA PESQUISA

3.1 DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, Campus São João Evangelista (IFMG-SJE). As sementes de *Dalbergia nigra* foram adquiridas no próprio campus, no setor de Agricultura III, sendo que estas estavam armazenadas em saco de papel na câmara fria a 5°C. A coleta ocorreu em outubro de 2015 em remanescente de mata atlântica do próprio campus. As avaliações do experimento foram realizadas por 30 dias durante os meses de setembro a outubro de 2016.

O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), constando quatro tratamentos com oito repetições, onde, cada unidade amostral apresentou-se cinco repetições de tubos de ensaio com uma semente cada, em esquema (4 x 8 x 5). Foi avaliado o efeito de quatro concentrações ($T_1 - 0,0 \text{ mg.L}^{-1}$; $T_2 - 2,0 \text{ mg.L}^{-1}$; $T_3 - 4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ e $T_4 - 8,0 \text{ mg.L}^{-1}$) de 6-Benzemilapurina (BAP) na germinação *in vitro* de *Dalbergia nigra*. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e regressão quadrática determinadas a 5% de significância em relação ao tamanho da parte aérea e 1% de significância sobre o número de folhas. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio dos *softwares* Excel® e Assistat (SILVA & AZEVEDO, 2009).

3.2 PREPARO DO MEIO DE CULTIVO

Para realização do experimento foi utilizado o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), o qual apresenta compostos básicos ao desenvolvimento das plântulas (Tabela 1). A utilização desse meio se justifica pelo fato de ser um dos mais amplamente utilizados em experimentos de cultivo *in vitro* (CARVALHO et al., 2006).

Os preparos dos meios de cultura seguiram todos os procedimentos laboratoriais (QUINSE & ANGELO, 2008), adequando as diferentes concentrações de BAP. Posteriormente procedeu-se a autoclavagem das unidades experimentais em temperatura de 121°C e pressão atmosférica à 1 atm por período de 20 minutos.

Tabela 1: Composição do meio de cultura MS - Murashige & Skoog

Componente	Fórmula	Concentração (mg.L ⁻¹)
Macronutrientes		
Nitrato de amônio	NH ₄ NO ₃	1650
Nitrato de potássio	KNO ₃	1900
Cloreto de cálcio	CaCl ₂ .2H ₂ O	441
Sulfato de magnésio	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
Fosfato de potássio	KH ₂ PO ₄	170
Sódio EDTA	Na ₂ EDTA	37,25
Iodeto de potássio	KI	0,83
Micronutrientes		
Sulfato de ferro	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,85
Sulfato de manganês	MnSO ₄ .H ₂ O	16,9
Sulfato de zinco	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	6,2
Molibdato de sódio	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
Cloreto de cobalto	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Sulfato de cobre	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
Vitaminas		
Ácido nicotínico	C ₆ H ₅ NO ₂	0,5
Cloridrato de piridoxina	C ₆ H ₁₂ ClNO ₂	0,5
Cloridrato de tiamina	C ₁₂ H ₁₈ C ₁₂ N ₄ OS	0,5
Glicina	C ₂ H ₅ NO ₂	2
Fitorreguladores		
Benzemilapurina (BAP)	C ₁₂ H ₁₁ N ₅	0,5
Ácido naftalenoacético (ANA)	C ₁₂ H ₁₀ O ₂	0,3
Outro		
Ágar	(C ₁₂ H ₁₈ O ₉)	7000
Sacarose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	30000
Mio-inositol	C ₆ H ₁₂ O ₆	100

*Para macronutrientes, micronutrientes, vitaminas e fitorreguladores foi preparado uma solução previamente (solução estoque), levando em consideração cada solução separadamente do meio de cultivo final.

Fonte: Murashige & Skoog, 1962 apud Oliveira, 2005.

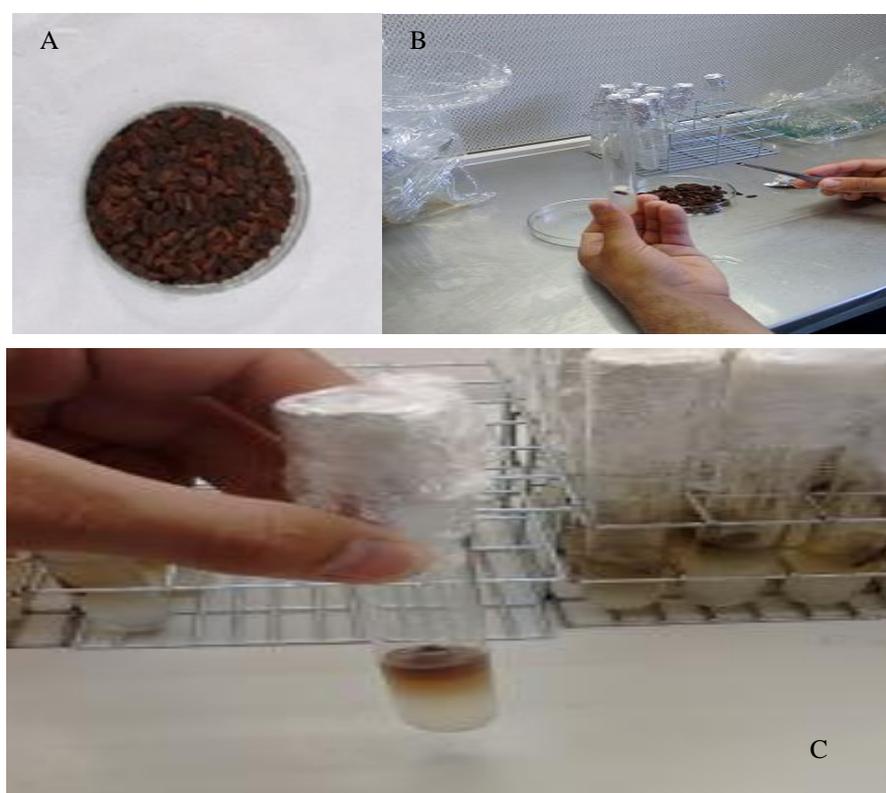
3.3 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO

Foram utilizadas uma semente por tubo de ensaio contendo 15 ml de meio tipo MS. Realizou-se a seleção das sementes com características isentas de danos mecânicos e injúrias por agentes insetos-pragas, posteriormente realizou-se a desinfestação das sementes em câmara de fluxo laminar por 1 minuto em álcool 70% e imergidas em hipoclorito de sódio 2,5 % de cloro ativo, acrescido três gotas de Tweesn-20 durante 10 minutos em tríplice lavagem (ARAÚJO & LÉDO, 2012). Não houve o processamento por meio de escarificação mecânica

nas sementes, devido não ocorrer problemas relacionados à dormência (RODRIGUES et al., 2007).

Após o preparo do meio de cultivo procedeu-se a inoculação em câmara de fluxo laminar, depositando as sementes em posição horizontal centralizado ao tubo de ensaio (Figura 1). Em seguida foram conduzidos os tratamentos para sala de crescimento, mantidas em período de 30 dias à temperatura 25 ± 2 °C sob fotoperíodo de 16 horas luz e 8 horas escuro na mesma temperatura.

Figura 2: Sementes de *Dalbergia nigra* Vell. (A), inoculação das sementes ao meio de cultura (B), sementes já inoculadas no meio de cultura (C).



Fonte: Autor

3.4 ANÁLISE MORFOGÊNICA

As avaliações procederam diariamente até a contagem final aos trinta dias após a inoculação das sementes. Foram analisadas as seguintes variáveis: porcentagem de germinação, emissão da radícula, tamanho da parte aérea, número de raiz, diâmetro do coleto, tamanho da raiz e número de folhas.

A germinação foi caracterizada pelo surgimento da raiz primária e foram consideradas normais as plântulas que apresentaram sistema radicular, parte aérea e cotilédones bem

desenvolvidos, sendo feita as contagens diárias das plântulas germinadas durante 30 dias. Para determinação do tamanho da parte aérea – TPA, Tamanho da Raiz Maior - TRM e diâmetro do coleto – DC de cada tratamento foram aferidas com auxílio de escalas graduadas e/ou paquímetro digital, medindo da superfície do meio nutritivo até o ponto de inserção das folhas definitivas no final do experimento. As variáveis número de raiz e número de folhas procedeu-se a contagem absoluta das porções de interesse.

As avaliações referentes a contaminação procederam-se diariamente, sendo que foram quantificados a presença de agentes contaminantes junto a sementes no meio de cultivo, as análises referentes a oxidação do meio foram avaliadas diariamente até o final do experimento, sendo que foram quantificados aqueles meios em que era observado a presença escura, devido a oxidação de compostos enzimáticos presentes na estrutura das sementes (SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Não foi observado significância estatística ($p \leq 0,05$), para os atributos, germinação (Germ), emissão da radícula (ER), tamanho da parte aérea (TPA), número de raiz (NR), diâmetro do caule (DC), massa fresca parte aérea, massa fresca raiz, contaminação, oxidação, emissão da parte aérea, número de raiz. O efeito estatístico significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$) foi observado para o atributo tamanho da raiz e estatístico significativo pelo teste F ($p \leq 0,01$) para o atributo número de folhas (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Ajuste do modelo linear quadrático¹

Parâmetros	Tamanho da Raiz	Número de Folha
β_0	0,0699	0,0632
β_1	- 0,7221	- 0,4202
β_2	3,2607	2,3306
\bar{R}^2	0,98	0,99
Teste <i>t</i>	$p > 0,05$	$p > 0,01$

¹ $Y = \beta_0 + \beta_1 C + \beta_2 C^2$; em que C = concentração de BAP (g.L^{-1}). R^2 ajustado = coeficiente de determinação ajustado;

Tabela 3. Resumo da análise de variância durante germinação *in vitro* Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth), diferentes concentrações de BAP (Benzemilapurina).

F.V	G.L	Q.MF			
		T.Raiz	N.Folhas	T.Raiz	N.Folhas
Regressão quadrática	1	5,21645	8,00000	4,6213 *	7,6581 **
Tratamento	3	4,51882	3,20833	4,0032	
Resíduo	28	1,12879	1,04464		
Total	31				
CV exp (%)		48,22	46,72		
Média		2,20313	2,18750		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade.

*significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Tamanho da Raiz (T.Raiz), Número de folhas (N.Folhas).

Os valores de coeficiente de variação observados para os atributos significativos (Tabela 3) estão de acordo com a faixa normalmente encontrada para a maioria das características biológicas na cultura de tecidos de 5,0 % a 50,0 %, (OLIVEIRA et al., 2009).

A curva de regressão mostrou que houve efeito das concentrações de BAP no tamanho da raiz, (Figura 2). Submetidos ao cálculo de derivada observa-se que na concentração de 5,16 g.L^{-1} o tamanho médio da raiz foi de 1,40 cm. Essa dosagem proporcionou o menor tamanho médio de raiz. Segundo Dias (2008), em trabalho com rabo-de-raposa (*Arrajadoa* spp.), o

BAP em concentrações elevadas atua de forma negativa na formação de raízes. Entretanto no tratamento com a dosagem de 8,0 g.L⁻¹ promoveu um acréscimo nesse parâmetro, com média superior a 3 cm por raiz. O tamanho das raízes é considerado um importante fator para a fase de aclimação de espécies arbóreas germinadas *in vitro* (SOARES et al., 2012), sendo que o sucesso do desenvolvimento e crescimento das mudas oriundas da técnica de propagação *in vitro* submetidas ao processo de aclimação pode ser diretamente influenciado pelo tamanho radicular das mesmas, portanto as mudas que apresentam maior comprimento radicular conseguem explorar as camadas mais profundas do solo, contribuindo para maior absorção de água e nutrientes.

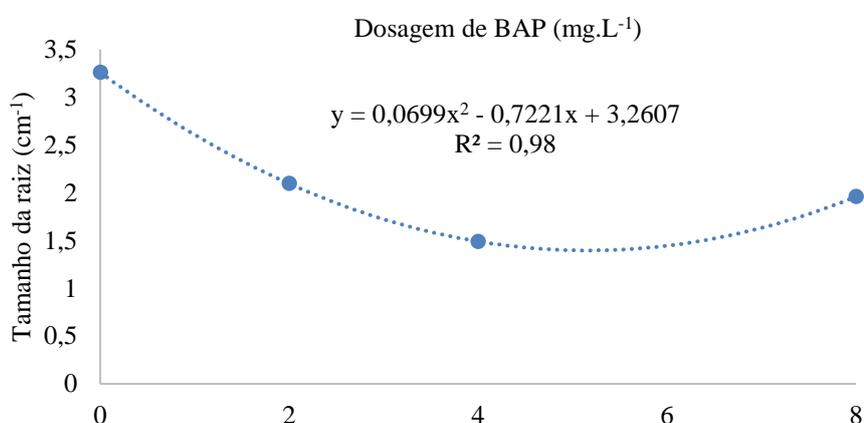


Figura 2. Representação gráfica dos atributos tamanho da raiz avaliados no cultivo *in vitro* de sementes de Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra*) em função de concentrações de BAP ($Y = \beta_0 + \beta_1 C + \beta_2 C^2$).

A curva de regressão mostrou que houve efeito das concentrações de BAP no número de folhas. Realizando a primeira derivada e igualando a zero esta equação, observa-se que na concentração de 3,32 g.L⁻¹ obteve-se 1,63 folhas, sendo que essa dosagem proporcionou o menor número de folhas. Entretanto dosagens superiores a essa observou-se um acréscimo nesse atributo, sendo que os tratamentos com 4,0 e 8,0 g.L⁻¹, expuseram média superior a 3 folhas por plântula.

Observou-se efeito estatístico ($p < 0,01$) em relação ao número de folhas (Tabela 3, Figura 3) pode-se afirmar que a presença do BAP no meio de cultura promoveu alterações em relação a produção de folhas da *D. nigra* sendo que a ausência do hormônio ao meio proporcionou valores consideráveis de folhas e quando aumentou a dosagem para 2,0 mg.L⁻¹ ocorreu decréscimo. Entretanto nos tratamentos com 4,0 e 8,0 mg.L⁻¹ foram observados

acréscimo em relação a quantidade de folhas por planta. Comportamento semelhante foram observados por Santana et al. (2011), utilizando dosagens do hormônio (0,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 mg.L⁻¹) com manjeriço (*Ocimum basilicum* L.- Lamiaceae) ao avaliarem o número de folhas, concluíram que as maiores médias foram obtidas tanto na ausência quanto na presença de BAP.

O tratamento com 8,0 mg.L⁻¹ apresentou maior quantidade de folhas produzidas em relação aos demais, justificando que a utilização de doses mais altas proporcionaram maior número de folhas na espécie em estudo (Figura 1), quando comparado a utilização de menores doses, entretanto o tratamento sem a utilização do BAP (0,0 mg.L⁻¹) apresentou resultado superior quando comparado aos tratamentos 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹. Portanto pode-se afirmar que a presença do BAP em concentrações mais elevadas induziu as plântulas de *D. nigra* a produzirem maior número de folhas, o que pode ser justificado devido essa dosagem se aproximar mais da dose ideal para esse parâmetro em relação a essa espécie (Tabela 3, Figura 3). Devido à escassez de trabalho em relação a utilização do BAP na germinação de sementes da espécie *D. nigra*, mais estudos devem ser realizados.

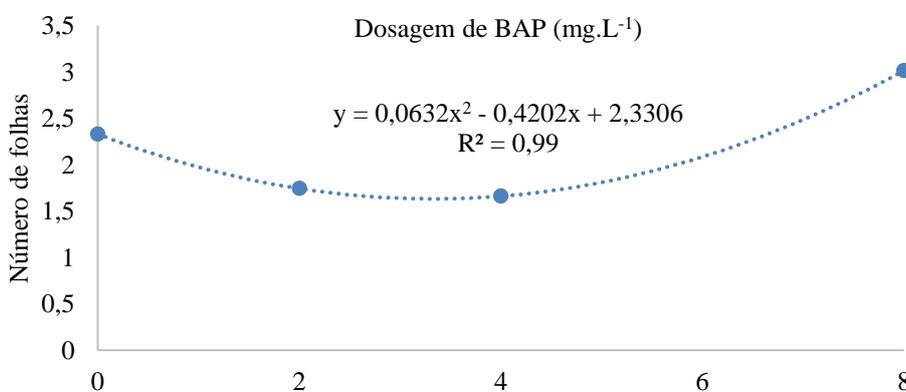


Figura 3. Representação gráfica do atributo número de folhas avaliado no cultivo *in vitro* de sementes de Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra*) em função de concentrações de BAP ($Y = \beta_0 + \beta_1 C + \beta_2 C^2$).

De acordo com a Tabela 4, as variáveis germinação (Germ), emissão da radícula (ER), tamanho da parte aérea (TPA), número de raiz (NR), diâmetro do caule (DC), não foram influenciados pelos tratamentos ($p < 0,05$).

Tabela 4: Resumo da análise de variância dos atributos avaliados durante germinação *in vitro* Jacarandá *Dalbergia nigraem* diferentes concentrações de 6 – benzemilapurina.

FV.	G.L.	Q.M.				
		Germ	ER	TPA	NR	DC
Regressão quadrática	1	18,85 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,031 ^{ns}	0,88 ^{ns}
Tratamento	3	2,6979	2,69	10,81	1,78	0,75
Resíduo	28	1,7901	1,79	11,52	1,81	0,35
Total	31					
CV exp (%)		42,39	42,39	46,72	42,71	36,67
Média Global		3,16	3,16	7,27	3,16	1,61

^{ns}. Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Segundo Soares et al. (2012), comparando o uso de BAP e GA₃ (Giberelina) na germinação e número de plântulas de *Dendrobium nobile* Lindl. (Olho de boneca) observaram que os tratamentos com BAP propiciaram os menores números de plântulas e as menores taxas de germinação, enquanto a ausência do regulador proporcionou altas taxas de germinação. Entretanto não foi encontrado no presente trabalho resultados semelhantes.

Uma alternativa para melhorar o índice germinativo das sementes de jacarandá seria realizar a embebição das mesmas em solução de GA₃, o que proporcionaria maior índice de velocidade de germinação devido ao estímulo da giberelina na síntese de enzimas alfa e beta amilase que digerem as reservas armazenadas nos endospermas, formando açúcares, aminoácidos e ácidos nucleicos que são absorvidos e transportados para as regiões de crescimento do embrião, o que estimularia o alongamento celular fazendo com que a raiz rompa o tegumento da semente uniformizando a germinação, como foi descrito por Zonta et al., (2005). Reis et al. (2007), avaliando a mesma espécie com adição de GA₃ e BAP ao meio de cultura encontraram que as hastes caulinares apresentaram maior comprimento quando submetidas a dosagem de 2 mg. L⁻¹ de BAP.

5 CONCLUSÃO

A utilização de 6-Benzemilapurina (BAP) atua como inibidor de raízes na germinação *in vitro*, assim como no tamanho da parte aérea do jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra* Vell.).

Dosagens muito baixas e/ou muito elevadas desse hormônio proporcionaram maior comprimento das raízes e maior número de folhas,

O uso de citocinina-BAP na germinação *in vitro* de sementes de jacarandá da Bahia é recomendado em dosagens mais elevadas, como 8,0 mg.L⁻¹, uma vez que essa proporcionou melhores resultados.

Recomenda-se mais estudos sobre adição de hormônios na produção de mudas *in vitro* de *D. nigra*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, A.G., LÉDO, A. S. III Ciclo de palestras sobre cultivo *in vitro* de plantas. **Embrapa**, Brasília-DF, 2012.
- Assistat-Statistical attendance. In: **WORLD ON COMPUTERS IN AGRICULTURE**. 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.
- BARBOSA, S. B. S. C., CALDAS, L. S. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* abacaxizeiro híbrido PExSC-52. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 3, p. 417-423, 2001. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/14109/12283>>. Acesso em: dezembro de 2016.
- BOTIN, A. A.; CARVALHO, A. Reguladores de crescimento na produção de mudas florestais. **Alta Floresta-MT**, v.13, n.1, p.83-96, 2015.
- CANÇADO, G. M. A.; LONDE, L. N. Biotecnologia Aplicada a agropecuária. **Caldas: EPAMIG Sul de minas – Laboratório de biotecnologia vegetal**, 2012.
- CANESIN, A., MARTINS, J. M. D. T., SCALON, S. P. Q., MASETTO, T. E. Bioestimulante no vigor de sementes de plântulas de Faveiro (*Dimorphandra mollis Bents.*). **Cerne**, Lavras, v.18, n. 2, p.309-315, 2012.
- CARVALHO, J. M. F. C., SILVA, M. M. A., MEDEIROS, M. J. L. Fatores inerentes à micropropagação. Campina Grande-PB, 28p. (**Embrapa Algodão, Documentos, 148**),2006.
- DIAS, M. M., N, S., P, M. C. T., M, C. A. R. Emergência e desenvolvimento da cactácea rabo-de-raposa (*Arrojadoa spp*) em diferentes meios de cultura e recipientes. **Revista Ceres**, 2008. Disponível em:<<http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/3302/1189>>, acesso em dezembro de 2016.
- DONADIO, N.M.M & DEMATTÊ, M.E.S.P., Morfologia de frutos, sementes e plântulas de Canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)Toub.) e Jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. Ex Benth.) – Fabaceae. Jaboticabal: **FCAV/UNESP**, 2000, 64-73p.
- FRANZON, R. C.; CARPENEDO, S.; SILVA, J. C. S. Produção de mudas; principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras. **EMBRAPA**, Planaltina-DF, 2010.
- FUKUDA, W.S. Propagação *in vitro* de Jacaranda *ulei* Bureau & Schum (Bignoniaceae). Brasília-DF, 2011. Disponível em:<http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/11989/1/2012_WagnerSantosFukuda.pdf>. Acesso em: 7 de novembro de 2016.
- FURTADO, C. M.; CARVALHO, J. M. F. C.; CASTRO, J. P.; SILVA, H. Comparação da frequência de regeneração *in vitro* do amendoim (*Arachis hipogaea*), utilizando diferentes citocininas. **Paraíba**, v.7, n.1, 2007.
- GALVÃO, A. P. M., FERREIRA, C. A., TEIXEIRA, L. B. Observações sobre o comportamento do Jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* Fr, Allem) em povoamento puro na

Amazônia. Manaus-AM, 1979.

Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr19/cap04.pdf>>. Acesso em 3 de novembro de 2016.

GONÇALVES, E.O., PAIVA, H.N., NEVES, J.C.L., KLIPPEL, V.H., CALDEIRA, M.V.W. Crescimento de Jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* ((Vell.) Fr. Al. ex Benth)) sob diferentes doses de NPK. **Rio Pomba-MG**, 2014, v. 20 n. 3, 493-500p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. **Brasília: EMBRAPA/SPI**, 1998. p. 183-260.

HEINE, M. L. O jacarandá da Bahia. Ilhéus com amor, 2010. Disponível em: <https://ilheuscomamor.wordpress.com/2010/11/12/o-jacarand-da-bahia/>. Acesso em novembro de 2016.

INÁCIO, M. C. Estudo agrônomo, químico e biológico de *Cachlopernum regium* (Mart. Ex. Scharank): Uma planta medicinal do cerrado. **Botucatu-SP**, 2010.

LENCINA, K. H., BISOGNON, D. A., KIELSE, P., FLEIG, N. P. F. Estabelecimento e crescimento *in vitro* de plantas de grábia. **Santa Maria**, v.44, n.6, p.1025-1030, 2014.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v. 1, 352 p.

LORENZI, H. E., MATOS, F.J. **DEA. Plantas medicinais no Brasil/Nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2002. 512p. MARTINS, C. C., BELISARIO, L., TOMAZ, C. A., ZUCARELI, C. Condições Climáticas, características do fruto e sistema de colheita na qualidade fisiológica de sementes de jacarandá. **Revista Árvore**, v.32, n.4, Viçosa-MG, 2008.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F., A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, R. L.; MUNIS, J. A.; ANDRADE, M. J. B.; REIS, R. L. et al. Precisão experimental em ensaios com a cultura do feijão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 1, p. 113-119, 2009.

PICOLOTTO, L.; BIANCHI, V. J.; FACHINELLO, J. C. Ação de giberelinas e citocininas na germinação de pessegueiro. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.8, n.3, p.225-232, 2007.

QUISEN, R. C., ANGELO, P. C. S. Manual de procedimentos do laboratório de cultura de tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental. **Embrapa Amazônia Ocidental Manaus-AM**, 2008. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/47132/1/Doc-61-A5.pdf>>. Acesso em: 14 de novembro de 2016.

RÊGO, G.M., POSSAMAI, E. Caracterização Morfológica da semente, plântula e muda de Jacarandá-da-bahia. **Colombo-PR**, 2006, n. 52, 141-150p.

RODRIGUES, R. R., GANDOLFI, S. NAVE, A. BRANCALION, P. N. Informações sobre coleta, beneficiamento, armazenamento e quebra de dormência de espécies florestais nativas.

LERF **Esalq-SP**, 2007. Disponível em:

http://wandersonandrade.com.br/officeboy/cedagro/20110930_minicursos/Quebra_de_dormencia_de_sementes_nativas2.pdf. Acesso em novembro de 2016.

SANTANA, J. G. S., FONSECA, V. O., COSTA, A. S., ARRIGONI-BRANK, F., BLANK, A. F. Influência de concentrações de BAP na micropropagação de manjeriçã (*Ocimum basilicum* L.). 2011. **Apoio CNPq e RARO'S**. Disponível em:

<http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/46_0650.pdf>. Acesso: 05 dez 2016.

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. **Uberlândia-MG**, 2013, v.29, n.2, 408-411p.

SILVA, F. A. S & AZEVEDO, C. A. V. Principal components analysis in the software SILVA, P. H. M. Sistemas de propagação de mudas de essências florestais. **Piracicaba-SP**, 2005. Disponível em: <<http://www.ipef.br/silvicultura/producaomudaspropagacao.asp>>. Acesso em: 13 de novembro de 2016.

SILVA, F. A. M., BORGES, M. F. M., FERREIRA, M. A. Métodos para Avaliação do grau de Oxidação Lipídica e da Capacidade Antioxidante. **QUÍMICA NOVA**, 22, 1999. Disponível: <<http://scielo.br/pdf/qn/v22n1/1143.pdf>>. Acesso em: dezembro de 2016.

SOARES, J.S. *et al.* Germinação assimbiótica e desenvolvimento de *Dendrobium nobile* Lindl. sob efeito de reguladores vegetais no tratamento pré-germinativo. **Rev. bras. Plantas med.**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 617-623, 2012. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S15165722012000400007&lng=pt&nrm=iso>. Acesso: em 05 dez. 2016.

STANCATO, G. C., BELMELMONS, P. F., VEGRO, C. R. L. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes *in vitro* e sua viabilidade econômica: estudo de caso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 7, n. 1, p.25-33, 2001.

TAIZ L. E ZEIGER E. **Fisiologia Vegetal**. 4. Ed., Porto Alegre. Artmed, p. 605-633, 2009.

TORRES, A. C., CALDAS, L. S., BUSO, J.A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. **Brasília-DF**, p.195-2010, 1998.

ULISSES, C.; WILLADINO, L.; ALBUQUERQUE, C. C.; CÂMARA, T. R. Clonagem vegetal. Recife, **Anais da Academia Pernambucana de Ciências Agrônômicas**, vol. 7, p.86-91, 2010.

VIANNA, V. F.; VEDOVATO, N. P. F.; TREVISOLI, S. H.U.; BIZARI, E.; MAURO, A. O. Estabelecimento de gemas apicais de pinhão manso em meio de cultura contendo BAP (6-BENZILAMINOPURINA). **FATEC-JB**, Jaboticabal, v.1, 2010.

ZONTA, J.B. *et al.* Germinação de sementes do maracujazeiro (*Passiflora alata* Dryand) submetidas a tratamentos físicos no tegumento e a pré- embebição em ácido giberélico (GA3). **Encontro latino americano de pós-graduação**, 5, 2005. Anais... Universidade Vale do Paraíba. 2005.