

Bio - 262



**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE**  
**Faculdade de Ciências**  
**Departamento de Ciências Biológicas**

**Trabalho de Licenciatura**

Efeito da Inoculação por Fungos Endomicorrízicos  
(Vesículo-arbusculares) na propagação vegetativa de  
*Vangueria infausta*, *Securidaca longipedunculata* e  
*Warburgia salutaris*

**Autor:** Sérgio Tomás Gomane

Maputo, Junho de 2005



**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE**  
**Faculdade de Ciências**  
**Departamento de Ciências Biológicas**

**Trabalho de Licenciatura**

Efeito da Inoculação por Fungos Endomicorrízicos  
(Vesículo-arbusculares) na propagação vegetativa de  
*Vangueria infausta*, *Securidaca longipedunculata* e  
*Warburgia salutaris*

**Autor:** Sérgio Tomás Gomane

**Supervisor:** Prof. Doutor Orlando A. Quilambo

Maputo, Junho de 2005

## Resumo

O presente trabalho foi realizado na estufa do Departamento de Ciências Biológicas da UEM e subdividiu-se em 3 fases:

1ª fase (preparação do inóculo): Dezembro de 2003 a Maio de 2004.

2ª fase (realização do 1º ensaio): Junho a Agosto de 2004. Neste ensaio as bases das estacas foram embebidas em 5% de sacarose por 24 horas e posteriormente subdividiram-se as estacas em 2 grupos (estacas colocadas em vaso contendo solo com inóculo e as colocadas em vaso contendo solo sem inóculo).

3ª fase (realização do 2º ensaio): Julho a Setembro de 2004. As estacas foram sujeitas a 2 tratamentos: (1) tratamento com hormona – ácido 3-indolbutírico (AIB), onde as bases das estacas foram mergulhadas no pó de hormona e depois colocadas em vasos contendo solo com inóculo e sem inóculo; (2) tratamento com incisão na base das estacas. As estacas foram depois mantidas em vasos contendo solo sem inóculo e com inóculo.

Este trabalho teve como objectivo geral estudar o efeito da inoculação por fungos endomicorrízicos (vesículo-arbusculares) na propagação vegetativa de *Vangueria infausta*, *Securidaca longipedunculata* e *Warburgia salutaris*.

No primeiro ensaio, as estacas da *Warburgia salutaris* do solo com inóculo tiveram um maior tempo de sobrevivência em relação às estacas da *Vangueria infausta*, *Securidaca longipedunculata* e *Warburgia salutaris* do solo sem inóculo, assim como da *Vangueria infausta* e *Securidaca longipedunculata* do solo com inóculo.

No segundo ensaio, as estacas da *Vangueria infausta* e *Securidaca longipedunculata* do solo com inóculo e sem inóculo sujeitas ao tratamento com incisão tiveram maior sobrevivência e formaram maior número de folhas em relação às estacas do tratamento com hormona. As estacas da *Warburgia salutaris* do solo sem inóculo submetidas ao tratamento com incisão, formaram maior número de folhas em relação às estacas do solo com e sem inóculo submetidas ao tratamento com hormonas e, do solo com inóculo submetidas ao tratamento com incisão.

O presente estudo permite concluir que as espécies de *Warburgia salutaris*, *Securidaca longipedunculata* e *Vangueria infausta* são de difícil propagação pelos métodos convencionais.

## Glossário/Abreviaturas

%M – Intensidade de colonização.

l – qx - Proporção de plantas sobreviventes no tempo t.

2.4-D – Ácido 2.4-dicloro-fenóxi-acético.

AIA – Ácido-3-indol acético.

AIB – Ácido-3-indol butírico.

ANA- Ácido naftaleno acético.

qx – Proporção de plantas mortas no tempo t.

S (t) – Função da sobrevivência.

Si – *Securidaca* do solo com inóculo.

Sih - *Securidaca* do solo com inóculo do tratamento com hormona.

Sii - *Securidaca* do solo com inóculo do tratamento com incisão.

Ssi – *Securidaca* do solo sem inóculo.

Ssih – *Securidaca* do solo sem inóculo do tratamento com hormona.

Ssii - *Securidaca* do solo sem inóculo do tratamento com incisão.

Vi – *Vangueria* do solo com inóculo.

Vih - *Vangueria* do solo com inóculo do tratamento com hormona.

Vii - *Vangueria* do solo com inóculo do tratamento com incisão.

Vsi – *Vangueria* do solo sem inóculo.

Vsih - *Vangueria* do solo sem inóculo do tratamento com hormona.

Vsii - *Vangueria* do solo sem inóculo do tratamento com incisão.

Wi – *Warburgia* do solo com inóculo.

Wih - *Warburgia* do solo com inóculo do tratamento com hormona.

Wii - *Warburgia* do solo com inóculo do tratamento com incisão.

Wsi – *Warburgia* do solo sem inóculo.

Wsih – *Warburgia* do solo sem inóculo do tratamento com hormona.

Wsii - *Warburgia* do solo sem inóculo do tratamento com incisão.

X - número de plantas mortas.

## Agradecimentos

Endereço a mais profunda gratidão:

- Ao projecto DEIBI (Projecto de Desenvolvimento do Ensino e Investigação na Área de Biologia), pelo apoio financeiro e material prestado.
- Ao meu supervisor Prof. Doutor Orlando António Quilambo, pelo incansável apoio e paciência demonstrado na transmissão dos seus conhecimentos.
- A dra. Célia Martins e dr. Alexandre Sitóe, pelo apoio prestado durante a realização do relatório.
- A dra. Annae, pelo apoio concedido durante a realização dos ensaios.
- Ao Plácido, pelo apoio concedido durante a análise estatística dos dados.
- Ao Sr. Domingos e Sofrimento Matsimbe, pela transmissão dos seus conhecimentos durante a preparação dos ensaios.
- A Dona Helena e Sr. Sitóe do laboratório de Fisiologia Vegetal, pelo apoio durante a preparação das soluções.
- A todos trabalhadores da estufa do Departamento de Ciências Biológicas, pelo apoio prestado durante o enchimento dos vasos.
- A todos docentes e funcionários do Departamento de Ciências Biológicas que directa ou indirectamente contribuíram para a minha formação.
- Aos meus pais e irmãs, pelo amor e carinho demonstrado ao longo de toda a minha carreira estudantil.
- Ao Jeremias Mocuba, pela troca de ideias durante a preparação do inóculo e realização dos ensaios.
- Aos meus colegas Ivan Nerantzoulis, Mauricio Lipassule, Adolfo Vubil, Milton Zavale, Osvaldo Chacate, Eurídice Vicente, Camélia Boa e Elizabeth Buce, pelo encorajamento e apoio concedido ao longo da minha carreira universitária.
- Finalmente a todos meus colegas que ingressaram no Departamento de Ciências Biológicas no ano 2000/2001, pela grande amizade concedida.

## **Declaração de Honra**

Declaro por minha honra que o presente trabalho é da minha autoria e é o culminar duma investigação feita por mim, o relatório foi elaborado por mim e os dados apresentados são resultado do trabalho de campo por mim executado.

---

Sérgio Tomás Gomane

## Dedicatória

Dedico o presente trabalho à memória inesquecível da minha falecida irmã, Lúcia Gomane.

## Índice

Conteúdo	Página
<b>1. Introdução</b> .....	1
1.2 Objectivos .....	7
1.2.1 Objectivo geral .....	7
1.2.2 Objectivos específicos .....	7
1.3 Hipóteses .....	7
<b>2. Área de Estudo</b> .....	7
<b>3. Material e Métodos</b> .....	8
3.1 Material Vegetal .....	8
3.1.1 Material e Equipamento Experimental .....	8
3.1.2 Soluções e Reagentes .....	9
3.2 Metodologia .....	9
3.2.1 Preparação do inóculo .....	9
3.2.1.2 Determinação da infecção por fungos micorrízicos nas raízes de milho .....	10
3.2.2 Montagem do primeiro ensaio .....	11
3.2.2.1 Condições de Crescimento do primeiro ensaio .....	11
3.2.3 Montagem do segundo ensaio .....	12
3.2.3.1 Condições de Crescimento do segundo ensaio .....	12
3.3 Parâmetros analisados .....	13
3.3.1 Colonização micorrízica .....	13
3.3.3 Análise de sobrevivência .....	14
<b>4. Análise Estatística dos Dados</b> .....	14
<b>5. Resultados</b> .....	15
5.1 Intensidade total de colonização nos fragmentos da raiz de milho ( <i>Zea mays</i> ) .....	15
5.2 Resultados do Primeiro Ensaio .....	16
5.2.1 Curva de sobrevivência do primeiro ensaio .....	16
5.3 Resultados do Segundo Ensaio .....	16
5.3.1 Curvas de sobrevivência do segundo ensaio .....	17
5.3.1.1 <i>Warburgia salutaris</i> .....	17



---

5.3.1.2 <i>Vangueria infausta</i> .....	18
5.3.1.3 <i>Securidaca longipedunculata</i> .....	19
5.4 Número de folhas formadas.....	20
5.4.1 <i>Warburgia salutaris</i> .....	20
5.4.2 <i>Vangueria infausta</i> .....	21
5.4.3 <i>Securidaca longipedunculata</i> .....	22
<b>6. Discussão</b> .....	22
6.1 Intensidade de colonização nos fragmentos da raiz de milho ( <i>Zea mays</i> ).....	23
6.2 Curvas de sobrevivência do primeiro ensaio.....	23
6.3 Curvas de sobrevivência do segundo ensaio e o número de folhas formadas.....	24
6.3.1 <i>Warburgia salutaris</i> .....	24
6.3.2 <i>Vangueria infausta</i> .....	26
6.3.3 <i>Securidaca longipedunculata</i> .....	27
<b>7. Conclusões</b> .....	29
<b>8. Recomendações</b> .....	30
<b>9. Limitações</b> .....	30
<b>10. Referências bibliográficas</b> .....	31

## 1. Introdução

A propagação vegetativa é uma forma de reprodução assexuada em plantas, na qual os órgãos vegetativos são capazes de produzir novos indivíduos (Hale & Margham, 1988). Quando este tipo de propagação é praticado, a variação genética e o progresso evolucionário são essencialmente eliminados (Hartmann *et al.*, 1997).

De acordo com Hartmann *et al.* (1997), o mérito da propagação vegetativa consiste na:

- Fixação de genótipos;
- Uniformidade na propagação;
- Facilitação da propagação;
- Encurtamento do tempo para florir;
- Combinação de mais de um genótipo numa única planta;
- Controlo das fases de desenvolvimento.

Um dos problemas que advêm da propagação vegetativa por estacas é o fracasso no enraizamento das mesmas. O enraizamento das estacas é um fenómeno complexo que envolve eventos muito diferentes (Garrido *et al.*, 1998). Segundo Dore (1965), Girouard (1967), Cameron & Thomson (1969), Smith & Thorpe (1975), White & Lowell (1984b) e Gaspar *et al.* (1990), o processo de enraizamento pode ser dividido em pelo menos duas fases: (i) formação dos primórdios da raiz, que ocorre dentro das estacas e (ii) crescimento, que ocorre fora das estacas.

Por outro lado, a propagação vegetativa pode também aumentar o ataque por doenças e susceptibilidade a insectos, desde que as gerações resultantes careçam de diversidade genética (Hartmann *et al.*, 1997).

Na natureza existe uma associação denominada micorriza que se forma entre fungos e raízes das plantas, que é indicada como benéfica para as plantas, assim como para os fungos (Cool *et al.*, 1988).

Uma das funções mais importantes das micorrizas vesículo-arbusculares é o aumento da absorção de fósforo (Russell, 1982; Dixon & Wheeler, 1986; Howeler *et al.*, 1987; Tinker, 1978; Kucey *et al.*, 1989), garantindo assim a sobrevivência das espécies e o aumento da adaptação das mesmas (Merryweather & Fitter, 1995a, 1995b e 1996).

Este aumento na absorção é conseguido pelo crescimento extensivo das hifas externas, o que lhes permite explorar o fósforo dos lugares mais remotos para os mais próximos, permitindo a sua absorção pela raiz através da difusão (Sanders & Tinker, 1971; Nye & Tinker, 1977). Por seu turno, a exploração física do solo é facilitada pelo pequeno diâmetro das hifas, 3-4  $\mu\text{m}$  (Abbott & Robson, 1985; Jakobsen & Rosendahl, 1990; O'Keefe & Sylvia, 1992), tornando-lhes bem adaptadas na absorção de fósforo a partir dos microporos do solo que, são inacessíveis as raízes ou pêlos radiculares (Prasad & Power, 1997) que têm um diâmetro maior que 10  $\mu\text{m}$  (Varma & Hock, 1999).

As micorrizas vesículo-arbusculares não só aumentam a absorção de fósforo, mas também de água e outros nutrientes tais como N, Mg e Fe (Bohrer *et al.*, 2003). Elas também actuam como atenuadores de stress tais como: acidez do solo, salinidade e toxicidade por metais pesados (Pfeiffer & Bloss, 1988; Dodd *et al.*, 1990).

Danos provocados por patógenos do solo podem também ser reduzidos pela presença de micorrizas arbusculares (Dehne, 1982; Cayrol, 1991; Perrin, 1990). Contudo, para se atingirem efeitos benéficos, são requeridos 10-20% dos produtos fotossintéticos para a formação, manutenção e função das estruturas micorrízicas (Robson *et al.*, 1994).

Assim, a inoculação de plantas com fungos micorrízicos vesículo-arbusculares pode possibilitar um aumento na produção das culturas (Howeler *et al.*, 1987) e o crescimento de uma ampla variedade de espécies de plantas (Harley & Smith, 1983 citado por Koske & Gemma, 1995).

A adição de fungos micorrízicos em solos parece ter valor como técnica de conservação para algumas plantas que são difíceis de propagar (Koske & Gemma, 1995), uma vez que espécies ameaçadas e outras com valor comercial são geralmente difíceis de propagar.

Uma das áreas onde a *Vangueria infausta*, *Securidaca longipedunculata* e *Warburgia salutaris* ocorrem é a floresta do Licúati, no extremo sul da província de Maputo. É uma região rica em diversidade biológica, existindo cerca de 3000 espécies, a maioria das quais lenhosas, com aproximadamente 40% de espécies endêmicas (White, 1983, citado por Nuvunga, 1998).

A *Vangueria infausta* é uma árvore de 3-7 m de altura, da família Rubiaceae que ocorre em matas arbustivas. As suas raízes são utilizadas como remédio para malária e pneumonia. Os seus frutos são comestíveis e podem ser usados para a produção de pudins (Palgrave, 1993).

A *Securidaca longipedunculata* é uma árvore da família Polygalaceae, com aproximadamente 6 m de altura, ocorrendo em vários tipos de florestas (Palgrave, 1993). A raiz é usada no tratamento de dores de dente, inflamações, dores de cabeça (Palgrave, 1993), constipações, convulsões, diarreias, epilepsia e tuberculose (Gelfand *et al.*, citados por Nuvunga, 1998). As folhas são usadas no tratamento de mordeduras de cobras e atenuamento da tosse. As suas sementes germinam com dificuldade e as plantas jovens não são transplantadas com facilidade (Palgrave, 1993).

A *Warburgia salutaris* é uma planta ameaçada (Scott-Shaw, 1999; Golding, 2002) da família Canellaceae, com 5-10 m de altura, alcançando 20 m em algumas áreas. Ocorre também em Malawi, Zâmbia (Palgrave, 2002), África do sul (Van Wyk *et al.*, 2000), Boane e Inhambane (Fato, 1995). A casca interna é usada no tratamento da constipação comum, sinusite, doenças pulmonares e juntamente com a raiz, é usada no tratamento de malária (Palgrave, 1993; Mander *et al.*, 1995, citados por Rabe & Staden, 2000).

Um dos problemas que se enfrenta na propagação vegetativa de plantas é a alta taxa de perda de estacas que por diversas razões não chegam a brotar (Hartmann *et al.*, 1997). Sendo as micorrizas arbusculares importantes no desenvolvimento das plantas, em condições desfavoráveis, torna-se interessante estudar os seus possíveis efeitos no crescimento das mesmas, a dependência das espécies vegetais em relação à associação micorrízica, a associação existente entre a formação e estabelecimento de micorrizas e a sobrevivência das plantas. O estudo poderá contribuir para encontrar técnicas eficazes de propagação das espécies usadas para fins medicinais, incluindo as ameaçadas e melhorar a produção de outras espécies.

## 1.2 Objectivos

### 1.2.1 Objectivo geral

- Estudar os efeitos da inoculação por fungos endomicorrízicos (vesículo-arbusculares) na propagação vegetativa de *Warburgia salutaris*, *Securidaca longipedunculata* e *Vangueria infausta*.

### 1.2.2 Objectivos específicos

1. Determinar a resposta das plantas à inoculação por fungos endomicorrízicos (vesículo-arbusculares), através da medição de parâmetros de crescimento.
2. Determinar e comparar a dependência relativa das 3 espécies vegetais em relação à associação micorrízica.
3. Determinar a associação entre a formação, estabelecimento de micorrizas e a sobrevivência das 3 espécies vegetais em estudo.

## 1.3 Hipóteses

1. As plantas inoculadas com fungos endomicorrízicos apresentam um maior peso seco das raízes e folhas, assim como maior volume ocupado pelas raízes em relação às plantas não inoculadas (Koske & Gemma, 1995)
2. Existe uma associação positiva entre o estabelecimento de micorrizas e a sobrevivência das espécies.

## 2. Área de Estudo

O trabalho foi realizado no Campus Universitário, na estufa pertencente ao Departamento de Ciências Biológicas da UEM.

### 3. Material e Métodos

#### 3.1 Material Vegetal

Estacas com 10-20 cm de comprimento e 1-10 mm de diâmetro das seguintes plantas:

- *Vangueria infausta*;
- *Securidaca longipedunculata*;
- *Warburgia salutaris*.

#### 3.1.1 Material e Equipamento Experimental

- Vasos (plásticos de polietileno de cor preta e tamanho 20\*30 cm);
- Estufa a 80<sup>o</sup> C;
- Bisturi;
- 5 placas de petri;
- Papel absorvente;
- Pinça;
- Marcador;
- 2 pás;
- Tesoura de poda;
- Termômetro;
- Medidor da radiação fotossintética;
- Microscópio óptico;

- Laminas de microscopia;
- Lamelas;
- Frascos;
- Inóculo comercial de Hannover (micoplanta).
- Hormona em pó (AIB) - Seradix B n° 3 (8g/Kg).

### 3.1.2 Soluções e Reagentes

- 10% (p/v) de KOH;
- 1% (p/v) de HCl;
- Glicerol ácido (500 ml de glicerol a 95.9% + 450 ml de água destilada e 50 ml de HCl a 1%);
- 0.05% de azul de Tripano.
- 5% de sacarose

## 3.2 Metodologia

### 3.2.1 Preparação do inóculo

- Misturou-se em vasos de barro ½ (metade) do inóculo comercial de Hannover, constituído por partículas de argila com um tamanho de 2-4 mm; micoplanta 510 *Glomus intraradices*; micoplanta 139 *Glomus etunicatum* e micoplanta 49 *Glomus intraradices*, misturadas numa proporção de 1:1:1 (Quilambo, 2000) e ½ (metade) de solo (sem inóculo) arenoso constituído por cerca de 85,6% de areia, 13,4% de argila, 1% de limo, 0,06% de nitrogênio e 188mg/kg de fósforo (Machava, 2000) retirado a partir de 20 cm de profundidade, incluindo as raízes, nos arredores da estufa do Departamento de Ciências Biológicas.



- Colocou-se em pré-germinação sementes de milho não tratadas com fungicidas ou outros produtos químicos, em placas de petri durante 48 horas.
- Humedeceu-se o solo com água da torneira e após este absorver a água, seleccionou-se e colocou-se em cada um dos 30 vasos 3 a 5 plântulas de milho, com uma radícula de 1 a 2 cm.
- As plantas foram regadas regularmente com água da torneira (3 vezes por semana).
- Após a floração, a irrigação foi interrompida e uma semana depois, as plantas foram cortadas ao nível do substrato.
- Foi determinada a intensidade de colonização das raízes por fungos micorrízicos, conforme descrito em 3.2.1.2
- Fez-se a secagem à temperatura ambiente do inóculo produzido (retirando dos vasos e espalhando sobre os sacos plásticos estendidos no chão) e aplicou-se a um dos grupos de vasos que continham as estacas, conforme descrito em 3.2.2.

#### **3.2.1.2 Determinação da infecção por fungos micorrízicos nas raízes de milho**

A determinação da intensidade de colonização das raízes de milho por fungos micorrízicos foi feita com base no método de Ambler & Young (1977), citado por Machava (2000). Este método consistiu em alcalinizar o tecido das raízes com KOH a 10% (p/v) em frascos, por meio de um aquecimento a 90<sup>o</sup>C na estufa, durante 30 minutos. Depois, retirou-se as raízes do tubo contendo KOH e lavou-se duas vezes com água da torneira; acidificou-se em seguida com HCl a 1% (p/v), por meio de um aquecimento a 90<sup>o</sup>C na estufa durante 30 minutos. Depois deste procedimento lavou-se as raízes com água da torneira. Em seguida procedeu-se à coloração com 0.05% (p/v) de azul de Tripano em glicerol ácido, com aquecimento a 90<sup>o</sup>C na estufa, durante 30 minutos. Por fim, aqueceu-se com glicerol ácido sem azul de Tripano por um período de 30 minutos a 90<sup>o</sup>C. Para a observação das raízes no microscópio óptico, estas foram cortadas em fragmentos de cerca de 1 cm de comprimento e foram colocados 20 segmentos destes (provenientes de cada um dos 30 vasos que continham as raízes) numa lâmina, usando

glicerol acídico como meio de montagem e cobrindo depois com uma lamela. Foram analisados no total, 600 fragmentos.

### 3.2.2 Montagem do primeiro ensaio

Neste ensaio as bases de todas as estacas foram embebidas em 5% de sacarose por 24 horas e após este procedimento, colocou-se as estacas em 2 grupos de vasos: vaso de solo com inóculo e vaso de solo sem inóculo (150 vasos por cada grupo).

1. Encheram-se 150 vasos com solo sem inóculo para o controle. Estimou-se o peso do solo contido num dos vasos que foi previamente enchido e com base na estimativa feita adicionou-se em seguida nos restantes 150 vasos (para a experiência), 90% do solo sem inóculo e 10% do inóculo previamente preparado.

2. Humedeceu-se o solo em todos vasos e deixou-se absorver à água.

3. Cortaram-se 100 estacas de *Vangueria infausta*; 100 de *Warburgia salutaris* e 100 de *Securidaca longipedunculata* (estas foram colhidas na Floresta do Licuáti); embebeu-se as bases das estacas em 5% de sacarose por 24 horas, de modo a promover o enraizamento das mesmas (Paton & Schwabe, 1987 citados por Hartmann *et al.*, 1997); as 100 estacas de cada espécie foram posteriormente subdivididas em 2 grupos de 50 estacas e colocadas em solo com e sem inóculo, iniciando-se deste modo com a propagação vegetativa.

#### 3.2.2.1 Condições de Crescimento do primeiro ensaio

Os vasos que continham as estacas foram mantidas numa estufa cuja temperatura diária foi de  $19.3 \pm 1.1$ ;  $23.6 \pm 2.6$ ;  $23.1 \pm 2.8$  ( $^{\circ}\text{C}$ ) às 9, 12 e 15 horas, respectivamente e a radiação fotossintética diária foi de  $10.5 \pm 6.9$ ;  $15.3 \pm 10.5$  e  $9.0 \pm 6.3$  ( $\mu\text{mol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) às 9, 12 e 15 horas, respectivamente. As estacas presentes em vasos eram regadas moderadamente com água da torneira, 3 vezes por semana.

Devido à alta taxa de mortalidade das estacas recorreu-se a um segundo ensaio, tendo sido usado tratamento com incisão e tratamento com hormona.

### 3.2.3 Montagem do segundo ensaio

As estacas foram submetidas a 2 tratamentos diferentes (tratamento com incisão e tratamento com hormona), tendo sido formado posteriormente em cada tratamento dois grupos de estacas: estacas presentes nos vasos com inóculo e estacas presentes nos vasos sem inóculo.

A preparação do solo obedeceu aos passos 1 e 2, conforme descrito em 3.2.2, havendo diferença apenas no número de vasos. Para este ensaio usou-se 30 vasos por tratamento. As estacas sujeitas ao tratamento com hormona foram previamente embebidas em água após o seu corte e as sujeitas ao tratamento com incisão foram embebidas em 5% de sacarose.

- Tratamento das estacas com hormona – ácido 3- indol butírico (AIB)

Mergulhou-se a base de 30 estacas (de cada espécie) no pó de hormona (AIB) por 2 segundos, as quais foram depois subdivididas num grupo de 15 e colocadas em vasos contendo solo com e sem inóculo.

- Tratamento das estacas com incisão

Embebeu-se as bases de 30 estacas em 5% de sacarose por 24 horas e depois fez-se uma incisão de cerca de 3cm na base das mesmas, tendo sido depois colocadas 15 estacas em vasos contendo solo com inóculo e as restantes 15 em vasos contendo solo sem inóculo .

#### 3.2.3.1 Condições de Crescimento do segundo ensaio

Neste ensaio não foi possível medir a temperatura, devido à avaria do aparelho. Os vasos contendo as estacas foram mantidas numa estufa cuja radiação fotossintética diária foi de  $13.8 \pm 12.5$ ;  $20.4 \pm 14.5$ ;  $15.5 \pm 14.7$  ( $\mu\text{mol.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) às 9, 12 e 15 horas, respectivamente. As estacas presentes em vasos eram regadas moderadamente com água da torneira, 3 vezes por semana.

### 3.3 Parâmetros analisados

#### 3.3.1 Colonização micorrízica

A intensidade da colonização (%M) por fungos micorrízicos no córtex de cada segmento da raiz foi estimada através de uma observação microscópica, atribuindo-se valores de 1 a 5 (do menos colonizado ao mais colonizado) conforme a percentagem de infecção do córtex de cada segmento da raiz, consoante a fórmula que se segue:

$$\%M = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1)/N \text{ Ambler \& Young (1977), citado por Machava (2000)}$$

Onde: M-Intensidade da colonização

$n_5$ -Segmento da raiz com mais de 95% do seu córtex colonizado;

$n_4$ - Segmento da raiz com mais de 70% do seu córtex colonizado;

$n_3$ . Segmento da raiz com mais de 30% do seu córtex colonizado;

$n_2$ - Segmento da raiz com mais de 5% do seu córtex colonizado;

$n_1$ - Segmento da raiz com uma colonização abaixo de 1%.

N-Número total de segmentos a serem observados

#### 3.3.2 Crescimento

A análise do crescimento foi feita semanalmente por observação directa e posterior contagem manual do número de folhas.

### **3.3.3 Análise de sobrevivência**

A análise da sobrevivência foi feita com base no método de Kaplan – Meier (Pagano & Gauvreau, 2004). Este método consiste em estimar a probabilidade de que um indivíduo sobreviva em determinado período de tempo, através da contagem de espécimes sobreviventes, conforme as tabelas 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13 em anexo.

## **4. Análise Estatística dos Dados**

Os dados foram analisados no pacote estatístico Statistix.

As diferenças no número de folhas formadas pelas estacas, assim como as diferenças na sobrevivência das estacas, nos diversos tratamentos, foram analisadas usando One-Way ANOVA (Fowler & Cohen, 1996). E caso os pressupostos não fossem verificados para o seu uso, recorria-se a um teste não paramétrico, Kruskal – Wallis test (Fowler & Cohen, 1996).

## 5. Resultados

### 5.1 Intensidade total de colonização nos fragmentos da raiz de milho (*Zea mays*)

As raízes de milho, que foram depois usadas como fonte de inóculo, tiveram uma intensidade total de colonização por fungos micorrízicos igual a 30%. De um modo geral, as raízes mais finas são as que apresentavam maior infecção por fungos micorrízicos em relação as mais grossas.

## 5.2 Resultados do Primeiro Ensaio

### 5.2.1 Curva de sobrevivência do primeiro ensaio

A probabilidade de sobrevivência para as 3 espécies diminuiu consideravelmente após um mês, atingindo uma percentagem abaixo de 10% nos casos da *Securidaca longipedunculata* e *Warburgia salutaris*, do solo sem inóculo assim como do solo com inóculo e cerca de 35% para a *Vangueria infausta* (fig. 1). A sobrevivência das estacas da *Warburgia salutaris* do solo com inóculo, prolongou-se até o 3º mês mas com uma probabilidade de sobrevivência de 2% (fig. 1).

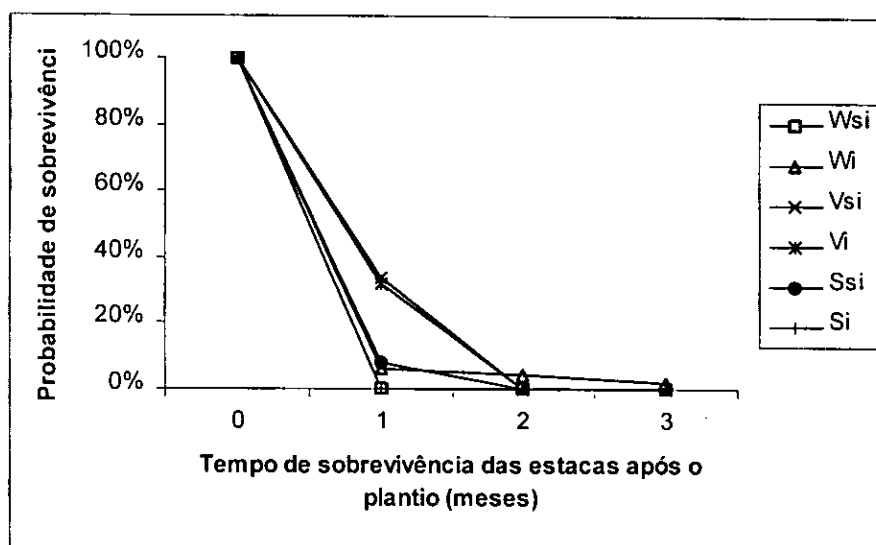


Figura 1. Curva de sobrevivência das estacas da *Warburgia salutaris*, *Vangueria infausta* e *Securidaca longipedunculata*. Os valores referem-se à sobrevivência de 50 estacas por cada tratamento. Wsi é *Warburgia* do solo sem inóculo; Wi-*Warburgia* do solo com inóculo; Vsi-*Vangueria* do solo sem inóculo; Vi-*Vangueria* do solo com inóculo; Ssi-*Securidaca* do solo sem inóculo e Si-*Securidaca* do solo com inóculo.

Não houve diferenças significativas na sobrevivência das 3 espécies (ANOVA,  $P > 0.05$ ).

## 5.3 Resultados do Segundo Ensaio

### 5.3.1 Curvas de sobrevivência do segundo ensaio

#### 5.3.1.1 *Warburgia salutaris*

A curva de sobrevivência das estacas da *Warburgia salutaris* submetidas ao tratamento com incisão e hormona (AIB) no solo cóm e sem inóculo, teve um comportamento mais ou menos similar ao longo da experiência. No final da experiência registou-se uma probabilidade de sobrevivência de 7% para as estacas do tratamento com incisão do solo com inóculo; 13% para as estacas do solo sem inóculo submetidas ao tratamento com hormona e incisão e 12% para as estacas do solo com inóculo submetidas ao tratamento com hormona. (fig. 2).

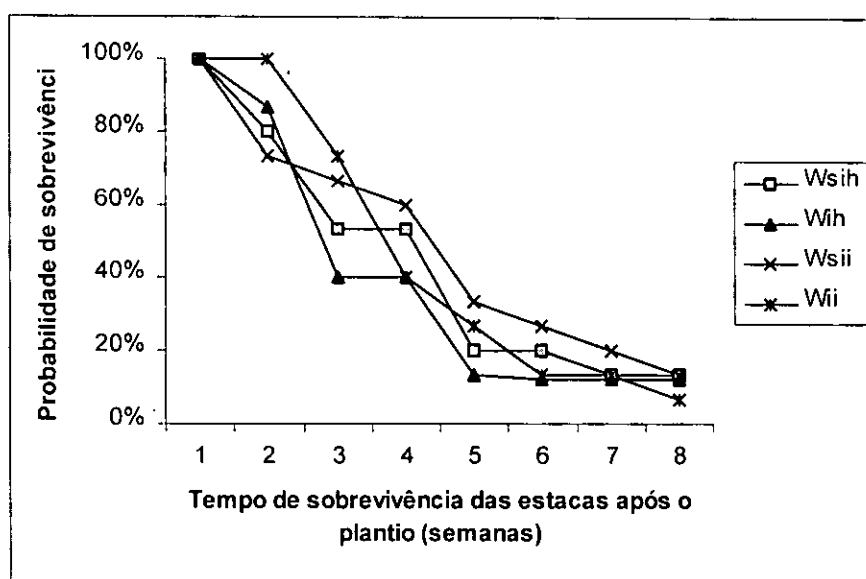


Figura 2. Curva de sobrevivência das estacas da *Warburgia salutaris* nos diferentes tratamentos. Os valores referem-se à sobrevivência de 15 estacas por cada tratamento. Wsih é *Warburgia* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Wih-*Warburgia* do solo com inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Wsii-*Warburgia* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com incisão; Wii-*Warburgia* do solo com inóculo submetida ao tratamento com incisão.

As diferenças na sobrevivência entre as estacas do solo com e sem inóculo submetidas aos tratamentos com hormona e incisão não foram significativas (ANOVA,  $P > 0.05$ ).



### 5.3.1.2 *Vangueria infausta*

A probabilidade de sobrevivência das estacas nos tratamentos com incisão foi maior em relação à das estacas do tratamento com hormona (AIB), tendo no final da experiência uma probabilidade de 47 e 33% no solo com e sem inóculo, respectivamente. As estacas do tratamento com hormona (AIB) do solo sem inóculo não resistiram por longo período (fig. 3).

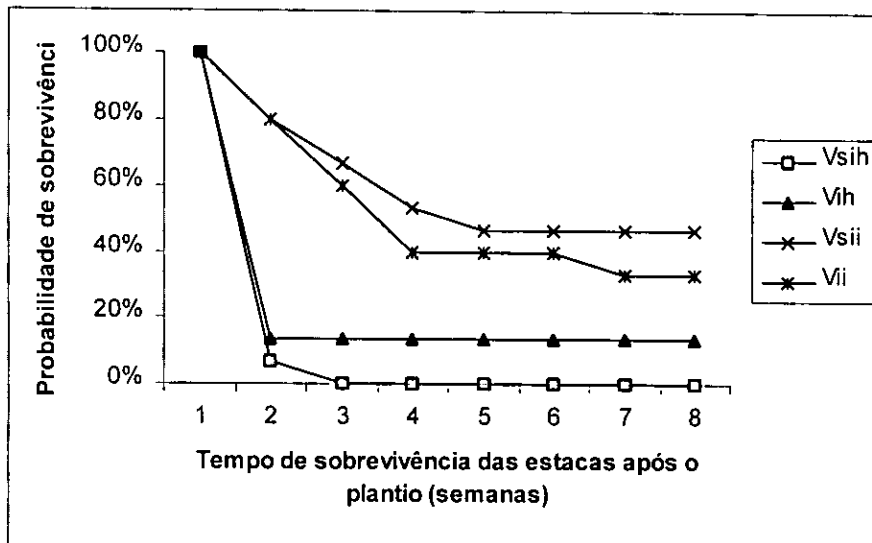


Figura 3. Curva de sobrevivência das estacas da *Vangueria infausta* nos diferentes tratamentos. Os valores referem-se à sobrevivência de 15 estacas por cada tratamento. Vsih é *Vangueria* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Vih- *Vangueria* do solo com inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Vsii- *Vangueria* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com incisão; Vii- *Vangueria* do solo com inóculo submetida ao tratamento com incisão.

As diferenças na sobrevivência entre as estacas da *Vangueria infausta* do solo sem inóculo, submetidas ao tratamento com incisão, após uma imbibição da base das mesmas em sacarose por 24 horas (Vsii), com as estacas da *Vangueria infausta* submetidas aos tratamentos com hormona (Vsih e Vih) foram significativas; assim como as diferenças entre as estacas da *Vangueria infausta* do solo com inóculo submetidas ao tratamento com incisão (Vii) em relação às da *Vangueria infausta* submetidas ao tratamento com hormona (Vsih e Vih), (ANOVA,  $P < 0.05$ ).

### 5.3.1.3 *Securidaca longipedunculata*

A sobrevivência das estacas da *Securidaca longipedunculata* sujeitas ao tratamento com incisão foi maior em relação à dos tratamentos com hormona (AIB), ao longo da experiência. No final da experiência a probabilidade de sobrevivência para as estacas do tratameneto com incisão foi de 47% no solo com inóculo e 27% no solo sem inóculo. Notou-se uma probabilidade de sobrevivência nula para as estacas submetidas ao tratamento com hormona, no solo sem e com inóculo a partir da 2ª e 3ª semana (fig. 4).

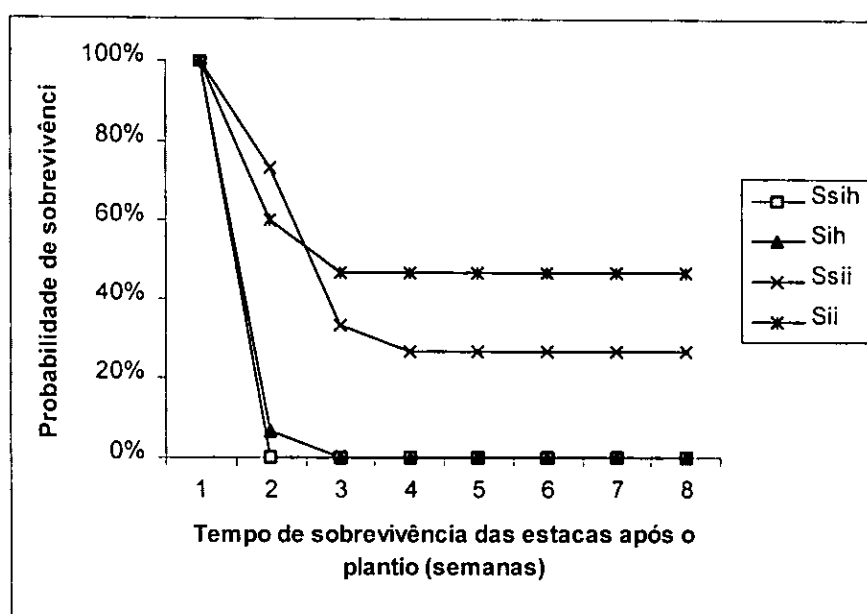


Figura 4. Curva de sobrevivência das estacas da *Securidaca longipedunculata* nos diferentes tratamentos. Os valores referem-se à sobrevivência de 15 estacas por cada tratamento. Ssih é *Securidaca* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Sih- *Securidaca* do solo com inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Ssii- *Securidaca* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com incisão; Sii- *Securidaca* do solo com inóculo submetida ao tratamento com incisão.

Houve diferenças significativas na sobrevivência entre as estacas da *Securidaca longipedunculata* do solo com inóculo submetidas ao tratamento com incisão (Sii) e as estacas submetidas ao tratamento com hormona do solo com e sem inóculo. (Sih e Ssih), (ANOVA,  $P < 0.05$ ).

## 5.4 Número de folhas formadas

### 5.4.1 *Warburgia salutaris*

O número total de folhas formadas mostrou uma grande variação entre os diversos tratamentos, sendo as estacas do solo sem inóculo sujeitas ao tratamento com incisão a que mais folhas formaram, seguidas das estacas do solo com inóculo submetidas aos tratamentos com incisão e hormona (AIB) e por fim estacas do solo sem inóculo submetidas ao tratamento com hormona (AIB). Notou-se uma diminuição do número de folhas formadas da 6<sup>a</sup> para a 7<sup>a</sup> semana nas estacas do solo sem inóculo submetidas ao tratamento com hormona. (fig. 5).

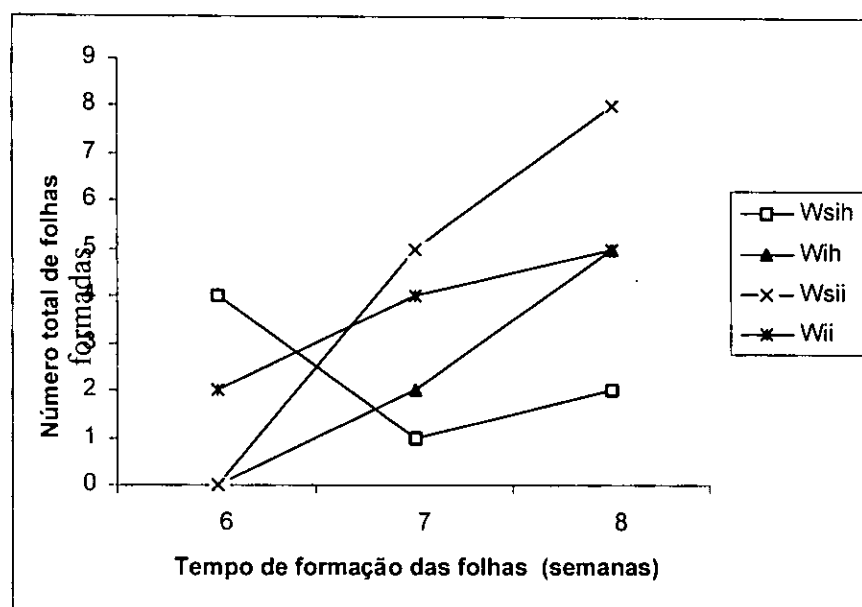


Figura 5. Número total de folhas da *Warburgia salutaris* nos diferentes tratamentos. Wsih é *Warburgia* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Wih-*Warburgia* do solo com inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Wsii-*Warburgia* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com incisão; Wii-*Warburgia* do solo com inóculo submetida ao tratamento com incisão.

O número total de folhas formadas entre as estacas do solo com e sem inóculo submetidas ao tratamento com incisão e hormona não mostraram diferenças significativas (ANOVA,  $P > 0.05$ ).

### 5.4.2 *Vangueria infausta*

Nesta espécie, o número máximo de folhas foi de 27 (na 7<sup>a</sup> semana) nas estacas do solo com inóculo submetidas ao tratamento com incisão, mas verificou-se uma diminuição das mesmas da 7<sup>a</sup> para a 8<sup>a</sup> semana. Nas estacas do solo sem inóculo do tratamento com hormona (AIB), não houve brotamento (fig. 6).

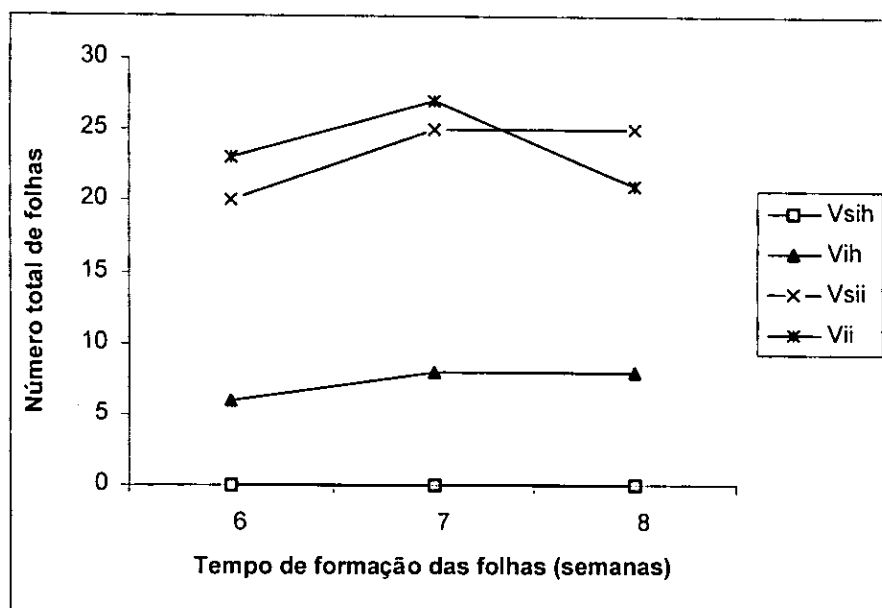


Figura 6. Número total de folhas da *Vangueria infausta* nos diferentes tratamentos. Vsih é *Vangueria* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Vih- *Vangueria* do solo com inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Vsii- *Vangueria* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com incisão; Vii- *Vangueria* do solo com inóculo submetida ao tratamento com incisão.

Houve diferenças estatisticamente significativas no número total de folhas formadas entre as estacas do solo com inóculo submetidas ao tratamento com incisão, com as estacas do solo sem inóculo submetidas ao tratamento com hormona (Kruskal – Wallis test,  $P < 0.05$ ).

### 5.4.3 *Securidaca longipedunculata*

O número máximo de folhas produzidas (65) verificou-se nas estacas submetidas ao tratamento com incisão do solo com inóculo, na 6ª semana. Houve um decréscimo no número de folhas formadas da 7ª para a 8ª semana, nas estacas submetidas ao tratamento com incisão, havendo também 2 grupos de estacas que não chegaram a brotar (estacas do solo com e sem inóculo, submetidas ao tratamento com hormona - AIB) (fig. 7).

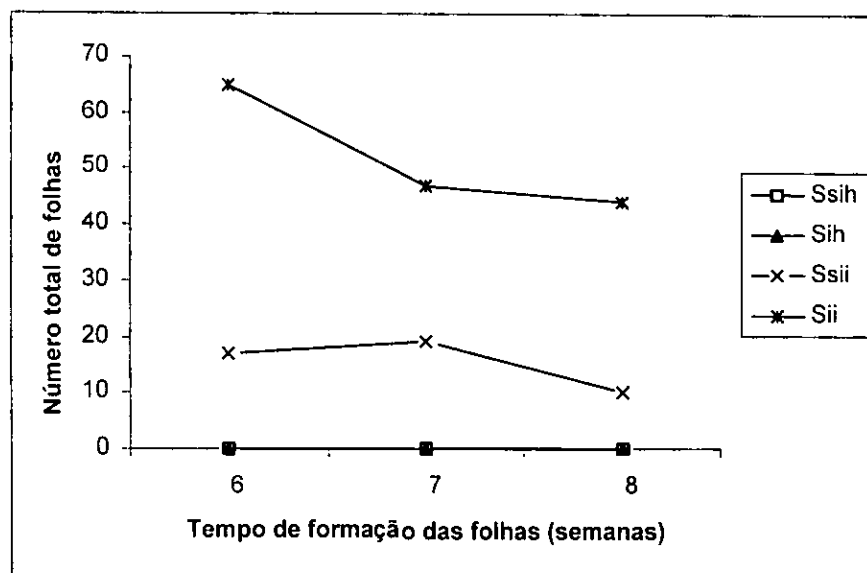


Figura 7. Número total de folhas da *Securidaca longipedunculata* nos diferentes tratamentos. Ssih é *Securidaca* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Sih- *Securidaca* do solo com inóculo submetida ao tratamento com hormona (AIB); Ssii- *Securidaca* do solo sem inóculo submetida ao tratamento com incisão; Sii- *Securidaca* do solo com inóculo submetida ao tratamento com incisão.

O número total de folhas formadas entre as estacas do solo com e sem inóculo submetidas ao tratamento com incisão e hormona não mostraram diferenças estatisticamente significativas (Kruskal - Wallis test,  $P > 0.05$ ).

## 6. Discussão

### 6.1 Intensidade de colonização nos fragmentos da raiz de milho (*Zea mays*)

A intensidade de colonização total nos diferentes fragmentos da raiz de milho foi de 30%. Por outro lado, verificou-se que as raízes mais finas geralmente apresentavam-se mais infectadas em relação as mais grossas. Estes resultados estão de acordo com Gryndler e Lipavsky (1995) citados por Machava (2000), que indicaram que intensidade de infecção por fungos micorrízicos aumenta em direcção ao ápice da raiz.

### 6.2 Curvas de sobrevivência do primeiro ensaio

No 1<sup>o</sup> mês da experiência, a probabilidade de sobrevivência reduziu consideravelmente nas 3 espécies em estudo (fig. 1). A *Vangueria infausta* foi à espécie que teve maior sobrevivência no 1<sup>o</sup> mês com 32 e 34% no solo com e sem inóculo, respectivamente (fig. 1). Nesse mesmo período, as folhas que haviam sido formadas, começavam já a murchar, o que segundo Browse (1979), pode dever-se ao facto das reservas alimentares terem sido consumidas antes das estacas estarem em condições de terem vida independente. Por outro lado, a *Warburgia salutaris* do solo com inóculo foi à espécie que mais tempo de sobrevivência teve, mas com uma probabilidade de sobrevivência muito reduzida (2%) (fig. 1).

Apesar das folhas presentes nas estacas estimularem o enraizamento (Reuveni & Ravivi, 1981) e aumentarem a sobrevivência (Wilson, 1994), o uso das estacas que continham folhas no presente estudo não foi satisfatório. No caso da *Warburgia salutaris*, a maior parte das folhas eram imaturas (Kawase, 1972 & Wilson, 1993), o que de acordo com Hartmann *et al.* (1997) e Esau (1976) são mais susceptíveis a dessecação. Além disso, folhas imaturas são importadoras fotossintéticas e podem competir pelos recursos com as raízes em desenvolvimento (Fischer & Hansen, 1977). Enquanto isso, nas folhas maduras, os conteúdos de amido tendem a atingir um máximo e são exportadoras dos recursos

fotossintéticos (Donnelly, 1977), essenciais para a produção de raízes (Leakey & Coutts, 1989; Newton *et al.*, 1992).

Um dos factores que provavelmente poderá ter influenciado a fraca probabilidade de sobrevivência destas espécies é a temperatura. O ensaio decorreu num período de frio, onde a temperatura foi de  $19.3 \pm 1.1$ ;  $23.6 \pm 2.6$ ;  $23.1 \pm 2.8$  ( $^{\circ}\text{C}$ ) às 9, 12 e 15 horas, respectivamente. Browse (1979) indica que as estacas que desenvolvem raízes com muita dificuldade sobrevivem melhor em temperaturas mais elevadas.

### 6.3 Curvas de sobrevivência do segundo ensaio e o número de folhas formadas

Dada a alta taxa de mortalidade das estacas recorreu-se a um segundo ensaio (com alteração dos tratamentos), o qual resultou também em elevadas mortes, não tendo sido possível analisar todos os parâmetros de crescimento e de colonização micorrízica, porque não houve formação de raízes em todas as estacas.

#### 6.3.1 *Warburgia salutaris*

Nesta espécie a curva de sobrevivência nos tratamentos com incisão e hormona, no solo com e sem inoculo não mostrou grandes variações. E ao longo da experiência verificou-se que as estacas mais largas sobreviviam mais tempo em relação às mais finas, apesar destas brotarem com muita dificuldade. Este comportamento deve-se provavelmente à maior capacidade de armazenamento das reservas nutritivas. Estudos feitos por Kibbler *et al.* (2004) envolvendo *Backhousia citriodora* e Howard (1994) com *Prunus insititia* demonstraram que caules largos aumentavam a capacidade de sobrevivência mas tinham uma probabilidade de formação de raízes menor em relação aos finos (Howard & Ridout, 1991).

Outro factor que provavelmente poderá ter contribuído para o fracasso no enraizamento desta, assim como das outras espécies em estudo, pode ser a idade da planta mãe. De acordo com Welander & Snygg (1987), Ahuja (1991), Haung *et al.* (1992), Kibbler *et al.* (2004), Talbert *et al.* (1993) e Berhe & Negash (1998), estacas derivadas de plantas mãe

juvenis formam raízes com muita facilidade em relação às estacas derivadas de plantas mãe maduras. Este resultado é explicado pelo (1) decréscimo dos conteúdos de auxina com a idade (Leopold & Kriedemann, 1975); (2) aumento dos tecidos lignificados, no qual as mudanças morfológicas são reduzidas ou prevenidas completamente (White & Lovell, 1984a); (3) presença de grandes números de células esclerenquimatosas, que reduzem a quantidade de tecidos parenquimatosos, a um nível que limita os sítios de formação de raízes primordiais (White & Lovell, 1984b); (4) decréscimo na resposta pelos tecidos maduros a substâncias promotoras de enraizamento (Zajczkowski, 1973 & Hartmann *et al.*, 1990); (5) aumento da produção dos inibidores da raiz (Hartmann *et al.*, 1990) e (6) envelhecimento fisiológico (Leakey *et al.*, 1992).

Um estudo feito por Berhe & Negash (1998) com *Juniperus procera* mostrou que 24% das estacas provenientes de plantas mães juvenis (com 1.5 a 2 anos de idade) foram capazes de formar raízes e, apenas uma única estaca proveniente de planta mãe madura (de 25 a 30 anos de idade) enraizou.

Houve um aumento contínuo no que concerne ao número total de folhas formadas nas estacas do solo com e sem inóculo submetidas ao tratamento com incisão e nas estacas do solo com inóculo sujeitas ao tratamento com hormona. Nas estacas do solo sem inóculo submetidas ao tratamento com hormona, a diminuição do número de folhas da 6<sup>a</sup> para a 7<sup>a</sup> semana (fig.5) esteve relacionado com a morte de algumas estacas (fig.2) que haviam brotado.



### 6.3.2 *Vangueria infausta*

Nesta espécie o uso da hormona diminuiu a sobrevivência das estacas, principalmente as estacas do solo sem inóculo (fig. 3), provavelmente devido ao facto da auxina usada não ter sido adequada ou ainda pelo facto da concentração não ter sido óptima para a espécie em causa. Berhe & Negash (1998) nos seus estudos com *Juniperus procera* tiveram melhores resultados de enraizamento em estacas tratadas com AIA em relação às tratadas com AIB, ANA e 2.4-D.

Embora o papel das auxinas tem sido reconhecido, estudos envolvendo várias espécies de árvores tropicais têm mostrado resultados variados, desde o efeito nulo (Ofori *et al.*, 1996 & Shiembo *et al.*, 1996) a efeitos altamente significativos (Leakey, 1990; Tchoundjeu & Leakey, 1996).

No tratamento com incisão notou-se uma maior probabilidade de sobrevivência das estacas em relação às estacas dos tratamentos com hormona, tendo já no final da experiência uma probabilidade de sobrevivência de 47 e 33%, no solo sem inóculo e com inóculo, respectivamente (fig. 3). Por outro lado, verificou-se que essas estacas possuíam estruturas mais ou menos arredondadas, em volta da parte que sofreu incisão, que provavelmente estejam relacionadas com a posterior formação das raízes pois, as estacas do mesmo tratamento que não sobreviveram até ao final da experiência não possuíam essas estruturas, as quais mostraram-se também presentes nas duas únicas estacas sobreviventes do solo com inóculo submetidas ao tratamento com hormona.

As estacas sujeitas ao tratamento com incisão tiveram maior número de folhas em relação às do tratamento com hormona, devido provavelmente a maior probabilidade de sobrevivência, que resultou no brotamento de quase todas as estacas. Neste grupo, o número máximo de folhas foi de 27 (no solo com inóculo) na 7ª semana, mas o número diminuiu na 8ª semana (fig. 6) pois, algumas folhas estavam já a murchar. No final da experiência o número máximo de folhas formadas nas estacas do solo sem inóculo do

tratamento com incisão foi de 25 e, estacas do solo sem inóculo sujeitas ao tratamento com hormona, não chegaram a brotar (fig. 6), o que pode dever-se à morte dessas estacas nas primeiras semanas.

### 6.3.3 *Securidaca longipedunculata*

A sobrevivência das estacas sujeitas ao tratamento com incisão foi maior em relação às estacas do tratamento com hormona (fig. 4), sendo a incisão deste modo eficaz para prolongar a sobrevivência, quando comparados com o tratamento com hormona, apesar de não terem sido formadas estruturas mais ou menos arredondadas na parte da incisão como no caso da *Vangueria infausta*. As diferenças registadas na sobrevivência entre as estacas do solo com inóculo submetidas ao tratamento com incisão com as estacas sujeitas ao tratamento com hormona não foram significativas. No final da experiência registou-se uma probabilidade de sobrevivência igual a 47 e 27%, no solo com e sem inóculo, respectivamente (fig. 4). Essas diferenças não podem ser atribuídas a presença dos fungos micorrízicos vesículo-arbusculares, devido a não formação de raízes em ambas partes.

A diminuição no número de folhas da 6<sup>a</sup> para 7<sup>a</sup> (fig. 7) semana nas estacas do solo com inóculo do tratamento com incisão, deveu-se à queda das mesmas devido à ventania que se fez sentir na mesma semana. Essa diminuição não foi notória nas estacas do solo sem inóculo do tratamento com incisão por haver estacas que estavam ainda a brotar. Já na 7<sup>a</sup> para 8<sup>a</sup> semana, a diminuição no número de folhas nos dois tratamentos com incisão (fig. 7), pode dever-se à perda da turgescência das mesmas, indicando que as reservas inicialmente presentes no caule estavam já a esgotar (Browse, 1979).

Por outro lado, o tratamento com hormona inibiu por completo a formação das folhas pelas estacas (fig. 7), assim como a sobrevivência das mesmas (fig. 4). Vários autores têm indicado que os benefícios do tratamento com auxinas dependem da espécie em

causa e da época do ano (Griffith, 1998 & Hartmann *et al.*, 2002), o que pode provavelmente indicar que esta espécie não seja compatível com a hormona.

Por outro lado, Davies (1984) afirma que algumas espécies apenas tornam-se sensíveis às auxinas durante períodos específicos do ano.

## 7. Conclusões

Os resultados do primeiro ensaio permitem concluir que:

- As estacas da *Warburgia salutaris* do solo com inóculo tiveram maior tempo de sobrevivência em relação às da *Warburgia salutaris* do solo sem inóculo, assim como da *Vangueria infausta* e *Securidaca longipedunculata* do solo com e sem inóculo.
- As estacas da *Securidaca longipedunculata* do solo com inóculo sobreviveram por pouco tempo em relação às estacas da mesma espécie do solo sem inóculo.

Do segundo ensaio pode-se concluir que:

- O tratamento com incisão e hormonas nas estacas da *Warburgia salutaris* do solo sem inóculo proporcionou uma probabilidade de sobrevivência maior, em relação às estacas do solo com inóculo.
- A probabilidade de sobrevivência das estacas submetidas ao tratamento com incisão (do solo com e sem inóculo) na *Vangueria infausta* foi maior em relação às estacas do tratamento com hormona.
- A probabilidade de sobrevivência das estacas da *Securidaca longipedunculata* do solo com inóculo sujeitas ao tratamento com incisão foi maior em relação às estacas do solo sem inóculo do mesmo tratamento, assim como das estacas do tratamento com hormona do solo sem e com inoculo, que tiveram uma probabilidade nula a partir da 2ª e 3ª semana, respectivamente.
- Para as 3 espécies vegetais em estudo, o número máximo de folhas produzidas registou-se nos tratamentos com incisão do solo sem inóculo (*Warburgia salutaris*) e solo com inóculo (*Vangueria infausta* e *Securidaca longipedunculata*).
- A *Securidaca longipedunculata* forma maior número de folhas nestas condições de propagação, em relação a *Warburgia salutaris* e *Vangueria infausta*.

## 8. Recomendações

- Recomenda-se que a propagação seja feita na época quente (verão), devido à influência da temperatura na propagação vegetativa das espécies.
- Recomenda-se a técnica da incisão na propagação vegetativa da *Vangueria infausta* e *Securidaca longipedunculata*.
- Recomenda-se à tentativa do uso das outras hormonas, devido ao efeito nulo (na *Securidaca longipedunculata*) e quase nulo (na *Vangueria infausta*) da hormona usada (ácido 3-indolbutírico).  
*Que hormonas auxinas promovem de raízes. (AIA, ANA) formadas?*
- Recomenda-se o uso de estacas provenientes de plantas mães juvenis nos próximos estudos, de modo a verificar até que ponto a idade da planta mãe poderá influenciar a propagação destas espécies.

## 9. Limitações

Não foi possível medir a humidade relativa, como estava previsto no protocolo devido à avaria do aparelho. Também não foi possível medir a temperatura para o segundo ensaio, devido à avaria do aparelho.

No primeiro ensaio não foi possível analisar semanalmente a sobrevivência das estacas, assim como o número de folhas formadas ao longo da experiência, porque não se previa a morte elevada das estacas.

## 10. Referências bibliográficas

- Abbott, L.K. & A.D. Robson (1985). Formation of external hyphae in the soil by four species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol, 99: 245-255.
- Ahuja, M.R.. (1991). Biotechnology in forest trees. Plant Res. Dev., 33: 106–120
- Berhe, D. & L. Negash (1998). Asexual propagation of *Juniperus procera* from Ethiopia: a contribution to the conservation of African pencil cedar. Forest Ecology and Management, 4454: 179–190.
- Bohrer, G., V.K. Zur, N.R. Bejerano, D. Ward, G. Beck & E. Bonifacio (2003). Effects of Different Kalahari-desert VA Mycorrhizal Communities on Mineral Acquisition and Depletion from the Soil by Host Plants. Ben Gurion University, 55 (2): 193-208.
- Browse, P.M. (1979). A propagação das Plantas. 2ª edição, 229pp. Portugal, Publicações Europa-América.
- Cameron, R.J.& G.V. Thomson (1969). The vegetative propagation of *Pinus radiata*: root initiation in cuttings. Botanical Gazette, 130: 242–251
- Cayrol, J.C. (1991). Propriétés nématocides des endomycorhizes à vésicules et arbuscules. PHM Rev Hortic, 321: 33-42.
- Cool, J.B., G.N. Rodrigo, B.S. Garcia & R.S. Tamés (1988). Fisiologia Vegetal. 5ª edición, 823 pp. Madrid, Ediciones Pirámide, S.A.
- Davies, F.T. (1984). Shoot RNA, cambial activity and indolebutyric acid effectivity in seasonal rooting of juvenile and mature *Ficus pumila* cuttings. Physiol. Plant., 62: 571–575.
- Dehne, H.W. (1982). Interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. Phytopathology, 72: 115-119.
- Dixon, R. & C.T. Wheeler (1986). Nitrogen Fixation in Plants. 157 pp. New York, Chapman and Hall.

- Dodd, J.C., I. Arias, I. Koomen & D.S. Hayman (1990). The management of populations of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi in acid-infertile soils of savanna ecosystem. Plant and Soil 122: 229–240.
- Donnelly, J.R. (1977). Morphological and physiological factors affecting formation of adventitious roots on sugar maple stem cuttings. USDA Forest Research.
- Dore, J. (1965). Physiology of regeneration in cormophytes. In: Ruhland, W. (Editor). Encyclopedia of Plant Physiology. Pp. 1–91. New York, Springer-Verlag.
- Esau, K. (1976). Anatomy of Seed Plants. New York, Wiley.
- Fato, P. (1995). Plantas Medicinais na Cidade de Maputo: sua Aplicação, Proveniência e Comercialização. Tese de Licenciatura. 66 pp. Maputo, Universidade Eduardo Mondalne.
- Fischer, P. & J. Hansen (1977). Rooting of chrysanthemum cuttings: influence of irradiance during stock plant growth and of decapitation and disbudding of cuttings. Sci. Hort., 7: 171–178
- Fowler, J. & L. Cohen (1996). Practical Statistics for Field Biology. 227 pp. New York, John Wiley & Sons.
- Garrido, G., E. A. Cano, M. Acosta & J. Sánchez-Bravo (1998). Formation and growth of roots in carnation cuttings: influence of cold storage period and auxin treatment. Scientia Horticulturae. 74 (3): 219-231.
- Gaspar, Th., C. Moncousin & H. Greppin (1990). The place and role of exogenous and endogenous auxin in adventitious root formation. In: Millet, B. & H. Greppin (Editors.). Intra- and Intercellular Communications in Plants. Reception, Transmission, Storage and Expression of Messages. Pp. 125-139. Paris, INRA.

- Girouard, R.M. (1967). Initiation and development of adventitious roots in stem cuttings of *Hedera helix*. Anatomical studies of the juvenile growth phase. Can. J. Bot., 45: 1877–1882.
- Golding, J. (2002). Southern African Plant Red Data Lists. 238 pp. Pretoria, Southern African Botanical Diversity Network Report No. 14.
- Griffith Jr., L.P. (1998). Tropical Foliage Plants: A Grower's Guide. Batavia, IL, Ball Publishing.
- Hale, W.G. & J.P. Margham (1988). Dictionary of Biology. 565 pp. London, Harpercollins Publishers.
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies (1990). Plant Propagation: Principles and Practices. 5<sup>th</sup> edition, 647 pp. Englewood Cliffs, NJ, Prentice-Hall.
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies JR. & R.L. Geneve (1997). Plant Propagation: Principles and Practices. 6<sup>th</sup> edition, 770 pp. New Jersey, Prentice Hall.
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies Jr. & R.L. Geneve (2002). Hartmann and Kester's Plant Propagation: Principles and Practices. 7<sup>th</sup> edition. Upper Saddle River, NJ, Prentice-Hall.
- Haung, L.C., S. Lius, B.L. Haung, T. Murashige, E.F.M. Mahdi & R.V. Gundy (1992). Rejuvenation of *Sequoia sempervirens* by repeated grafting of shoot tips onto juvenile rootstocks in vitro: model for phase reversal of trees. Plant Physiol. 98: 166–173.
- Howeler, R.H., E. Sieverding & S. Saif (1987). Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. In: Diest, A.V. (editor). Plant and Soil Interfaces and Interactions. Pp 249-283. Netherlands, Martinus Nizhoff-Dordrecht Publishers.



- Howard, B.H. & M.S. Ridout (1991). Rooting potential in plum hardwood cuttings. II. Relationships between shoot variable and rooting in cuttings from different sources. J. Hort. Sci., 66: 681–687.
- Howard, B.H. (1994). Manipulating rooting potential in stockplants before collecting cuttings. In: Davis, T.D. & B.E. Haissig (Editors.). Biology of Adventitious Root Formation. Pp. 123-142. New York, Plenum Press.
- Jakobsen, I. & L. Rosendahl (1990). Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. New Phytol, 115: 77-83.
- Kawase, M. (1972). Centrifugation and rooting of cuttings. Riv. Ortoflorofrutt Italia, 60: 96–112.
- Kibbler, H., M.E. Johnston & R.R. Williams (2004). Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriadora* F. Muell. 1. Plant genotype, juvenility and characteristics of cuttings. Scientia Horticulturae, 102 (1): 133-143.
- Koske, R.E. & J.N. Gemma (1995). Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Inoculation of Hawaiian Plants: A Conservation Technique for Endangered Tropical Species. University of Hawai'i Press, 49 (2): 181-191.
- Kucey, R.M.N., H.H. Janzen & M.E. Legget (1989). Microbially mediated increases in plant available phosphorus. Adv. Agron. 42: 199-228.
- Leakey, R.R.B. & M.P. Coutts (1989). The dynamics of rooting in *Triplochiton scleroxylon* cuttings: their relation to leaf area, node position, dry weight accumulation, leaf water potential and carbohydrate composition. Tree Physiol., 5: 135–146.
- Leakey, R.R.B. (1990). *Nauclea diderrichii*: rooting of stem cuttings, clonal variation in shoot dominance, and branch plagiotropism. Trees., 4: 164–169.
- Leakey, R.R.B., J. McP Dick & A.C. Newton (1992). Stock plant-derived variation in rooting ability: the source of physiological youth. Paper presented at

the Symposium on Mass Production Technology for Genetically Improved Fast Growing Forest Tree Species. Bordeaux, France, pp. 171–178.

- Leopold, A.C. & Kriedemann (1975). Plant Growth and Development. 2<sup>nd</sup> Edition, 545 pp. New York , McGraw-Hill.
- Machava, W.J. (2000). O Processo da Infecção das Raízes do Feijão Jugo (*Vigna subterranea* L.) por Fungos Micorrízicos no Solo Arenoso do Campus, e Viveiros da Estufa. Tese de Licenciatura. 54 pp. Maputo, Universidade Eduardo Mondlane.
- Merryweather, J. & A. Fitter (1995a). Phosphorus and carbon budgets: mycorrhizal contribution in the obligately mycorrhizal *Hyacinthoides nonscripta* (L.) Chovard ex Rothm. New Phytol, 129: 619-627.
- Merryweather, J. & A. Fitter (1995b). Arbuscular mycorrhiza and phosphorus as controlling factors in the life history of obligately mycorrhizal *Hyacinthoides nonscripta* (L.) Chovard ex Rothm. New Phytol, 129: 629-636.
- Merryweather, J. & A. Fitter (1996). Phosphorus nutrition of an obligately mycorrhizal plant treated with the fungicide bynomyl in the field. New Phytol, 132: 307-311.
- Newton, A.C., P.N. Muthoka & J.McP. Dick (1992). The influence of leaf area on the rooting ability of leafy stem cuttings of *Terminalia spinosa* Engl. Trees, 6: 210–215.
- Nuvunga, R.S. (1998). Estudo da Planta *Securidaca longipedunculata* Fresen nos Arredores da Floresta Licuáti: Estado de Conservação e uso pelas Comunidades Locais. Tese de Licenciatura. 63pp. Maputo, Universidade Eduardo Mondlane.
- Nye, P.H. & P.B. Tinker (1977). Solute Movement in the Soil-Root Systems. 342 pp. Oxford, Blackwell Scientific Publications.

- Ofori, D.A., A.C. Newton, R.R.B. Leakey & J. Grace, (1996). Vegetative propagation of *Milicia excelsa* by leafy stem cuttings: effects of auxin concentration, leaf area and rooting medium. For. Ecol. Manage., 84, pp. 39–48.
- O'keefe, D.M. & D.M. Sylvia (1992). Chronology and mechanisms of P uptake by mycorrhizal sweet potato plants. New Phytol., 122: 651-659.
- Pagano, M. & K. Gauvreau (2004). Princípios de Bioestatística. 506pp. São Paulo, Pioneira Thomson Learning.
- Palgrave, K.C. (1993). Trees of Southern Africa. 2<sup>nd</sup> edition, 959 pp. Cape Town, Struik Publishers.
- Palgrave, K.C. (2002). Trees of Southern Africa. 1212 pp. South Africa, Struik Publishers.
- Perrin, R. (1990). Interactions between mycorrhizae and disease caused by soil-borne fungi. Soil Use Management 6: 189-195.
- Pfeiffer, C.M. & H.E. Bloss (1988). Growth and nutrition of guayule (*Parthenium argentatum*) in a saline soil as influenced by vesicular–arbuscular mycorrhiza and P fertilization. New Phytologist 108: 315–321.
- Prasad, R. & J.F. Power (1997). Soil fertility Management for Sustainable Agriculture. 356 pp. New York, CRC Press.
- Quilambo, O.A. (2000). Functioning of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) under Nutrient Deficiency and Drought Stress in Relation to Symbiotic Associations. 168 pp. Van Denderen B.V., Groningen.
- Rabe, T. & J. V. Staden (2000). Isolation of antibacterial sesquiterpenoide from *Warburgia salutaris*. Journal of Ethnopharmacology. 73 (1-2): 171-174.
- Reuveni, O. & M. Ravivi (1981). Importance of leaf retention to rooting avocado cuttings. J. Am. Soc. Hort. Sci., 106: 127–130.

- Robson, A.D., L.K. Abbott & N. Maiajczvk (1994). Management of Mycorrhiza in Agriculture, Horticulture and Forestry. 238 pp. Australia-Netherlands, Klumer Academic Publishers.
- Russel, R.S. (1982). Plant Root-Systems: Their Function and Interaction with the Soil. 298 pp. Great Britain, McGraw-Hill Book Company Limited.
- Sanders, F.E. & P.B. Tinker (1971). Mechanisms of absorption of phosphate from soil by endogone mycorrhiza. Nature, 233: 278-279.
- Scott-Shaw, R. (1999). Rare and Threatened Plants of KwaZulu-Natal and neighbouring regions. 182 pp. Pietermaritzburg, KwaZulu-Natal Nature Conservation Service.
- Shiembo, P.N., A.C. Newton & R.R.B. Leakey (1996). Vegetative propagation of *Irvingia gabonensis*, a West African fruit tree. For. Ecol. Manage., 87: 185-192.
- Smith, D.R. & T.A. Thorpe (1975). Root initiation in cuttings of *Pinus radiata* seedlings: I. Developmental sequences. J. Exp. Bot., 26: 184-192
- Talbert, C.B., G.A. Ritchie & P. Gupta (1993). Conifer vegetative propagation: an overview from commercialization perspective. In: Ahuja, M.R. & W.J. Libby (Editors). Clonal Forestry. I. Genetics and Biochemistry. Pp. 145-181.
- Tchoundjeu, Z. & R.R.B. Leakey (1996). Vegetative propagation of African mahogany: effects of auxin, node position, leaf area and cutting length. New Forests., 11: 125-136.
- Tinker, P.B. (1978). Effects of vesicular-arbuscular on plant growth. Physiol.veg. 16: 793-851.
- Van Wyk. B.E., B. Van Outshoorn & N. Gericke (2000). Medicinal Plants of South Africa. 304 pp. Pretoria, Briza Publications.

- Varma, A. & B. Hock (1999). Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. 2<sup>nd</sup> edition, 704 pp. Germany, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Welander, M. & J.O. Snygg (1987). Effects of applied and endogenous auxin on callus and root formation of in vitro shoots of the apple rootstocks M26 and A2. An. Bot., 59: 439–443.
- White, J. & P.H. Lovell (1984a). Factors influencing adventitious root production in cuttings of *Griselinia littoralis* and *Griselinia lucida*. An. Bot., 53: 443–446.
- White, J. & P.H. Lovell (1984b). The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia littoralis* and *Griselinia lucida*. An. Bot., 54: 7–20.
- Wilson, P.J. (1993). Propagation characteristics of *Eucalyptus globulus* Labill. ssp. *globulus* stem cuttings in relation to their original position in the parent shoot. J. Hort. Sci., 68: 715–724.
- Wilson, P.J. (1994). Contributions of the leaves and axillary shoots to rooting in *Eucalyptus grandis* Hill ex Maid. stem cuttings. J. Hort. Sci., 69: 999–1007.
- Zajczkowski, S. (1973). Auxin stimulation of cambial activity in *Pinus silvestris*. I. The differential cambial response. Physiol. Plant., 29: 281–287.

# Anexos

**Anexo 1.** Descrição da *Vangueria infausta* Burch.

Família: Rubiaceae

Nome vernacular: Mpsilo.

**Morfologia**

É uma pequena árvore, com 3 a 7m de altura. As folhas são elípticas, com cerca de 15 a 24 \* 3.8 a 15cm, coberta densamente por pequenos pêlos, especialmente quando jovem; pecíolo com 3 a 10mm de comprimento. As flores são brancas esverdeadas à amareladas, com cerca de 4mm de comprimento e 6mm de diâmetro (Setembro a Outubro). O fruto é quase esférico, com 2.5 a 3.5cm de diâmetro, amarelado a castanho quando maduro (Janeiro à Abril) (Palgrave, 1993).

**Anexo 2.** Descrição da *Securidaca longipedunculata* Fresen.

Família: Polygalaceae

Nome vernacular: Mulha-lhovo

**Morfologia**

Pequena árvore com cerca de 6m de altura. As folhas são alternas, simples, com tamanho variável, oblonga à elíptica; 1 a 5 \* 0.5 a 2cm; ápice redondo, margem inteira, pecíolo com aproximadamente 5mm de comprimento. As flores são pequenas, com cerca de 10mm de comprimento, rosa à lilás ou púrpura; 5 sépalas desiguais, 3 pétalas livres e 8 estames (Agosto a Setembro e às vezes até Novembro). O fruto é uma noz mais ou menos arredondada com asas membranosas de 4cm de comprimento, verde púrpura quando imaturos e castanho quando maduros (Abril a agosto) (Palgrave, 1993).

**Anexo 3.** Descrição da *Warburgia salutaris* (Bertol. F.) Chiov.

Família: Canellaceae

Nome vernacular: Xibaha

**Morfologia**

Árvore com 5 a 10m de altura, podendo alcançar 20m. As folhas são alternas, simples, aromáticas, elípticas a lanceoladas, com 4.5 a 11 \* 1 a 3cm; ápice e base aguçada; margem inteira; pecíolo com 1 a 3mm de comprimento. As flores são brancas ou esverdeadas, com cerca de 7mm de diâmetro; solitárias, axilares, com 3 sépalas, 10 pétalas em 2 verticilios e 10 estames, unidos formando um tubo (Abril). O fruto é uma baga esférica, com cerca de 4cm de diâmetro, glandular, preto quando maduro (outubro a Janeiro) (Palgrave, 1993).



**Anexo 4.** Intensidade de colonização por fungos micorrízicos nas raízes de *Zea mays*

	Fragmentos da raiz										%	Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0		
Lamina 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0		
Amostra 1	0	5	3	0	1	5	4	1	4	3	39,2	
Amostra 2	4	2	3	5	2	2	3	3	0	3	30,0	
												<b>34,6</b>
Lamina 2												
Amostra 1	5	3	0	1	1	0	0	0	2	1	13,3	
Amostra 2	1	0	0	0	2	1	0	5	3	1	13,3	
												<b>13,3</b>
Lamina 3												
Amostra 1	2	4	2	1	1	0	2	1	1	1	9,0	
Amostra 2	5	0	3	5	5	5	55	2	3	0	54,0	
												<b>31,5</b>
Lamina 4												
Amostra 1	2	3	2	4	2	5	1	4	3	2	31,6	
Amostra 2	2	2	3	3	4	3	0	2	2	4	34,5	
												<b>33,05</b>
Lamina 5												
Amostra 1	2	3	4	5	1	3	4	3	3	2	36,6	
Amostra 2	2	3	1	3	1	1	3	3	4	3	22,8	
												<b>29,7</b>
Lamina 6												
Amostra 1	2	5	2	5	4	1	3	3	4	5	49,6	
Amostra 2	5	5	4	3	3	2	2	5	3	3	48,5	
												<b>49,05</b>
Lamina 7												
Amostra 1	2	2	1	1	1	1	5	2	1	1	11,6	
Amostra 2	5	5	4	2	0	2	4	4	2	5	51,0	
												<b>31,3</b>
Lamina 8												
Amostra 1	2	1	1	4	0	0	0	1	2	3	11,3	
Amostra 2	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0,4	
												<b>5,85</b>
Lamina 9												
Amostra 1	3	0	1	0	1	2	4	0	1	1	10,9	
Amostra 2	3	0	0	0	5	0	3	5	1	0	25,1	
												<b>18,0</b>
Lamina 10												
Amostra 1	4	4	4	2	2	2	1	3	4	5	42,1	
Amostra 2	3	5	2	5	2	4	5	4	3	2	50,5	
												<b>46,3</b>
Lamina 11												
Amostra 1	3	5	2	5	4	5	3	5	5	5	71,0	
Amostra 2	3	2	2	4	4	1	4	4	3	2	35,6	

Trabalho de Licenciatura

												53,3
Lamina 12												
Amostra 1	1	1	0	0	0	3	1	2	0	1		3,9
Amostra 2	5	0	2	1	0	0	0	0	0	2		10,6
												7,25
Lamina 13												
Amostra 1	5	5	3	1	3	1	3	2	1	4		35,8
Amostra 2	2	2	5	3	2	5	0	2	4	2		31,5
												33,65
Lamina 14												
Amostra 1	3	3	1	0	3	1	5	3	1	1		21,9
Amostra 2	0	0	0	2	4	2	1	3	3	0		14,1
												18,0
Lamina 15												
Amostra 1	4	4	1	4	5	3	3	2	5	3		49,6
Amostra 2	0	4	2	3	3	4	3	3	3	2		30,0
												39,8
Lamina 16												
Amostra 1	5	5	0	4	3	2	3	3	4	3		46,0
Amostra 2	4	4	3	3	3	2	5	2	2	5		43,5
												44,75
Lamina 17												
Amostra 1	4	5	5	3	4	3	5	3	3	4		61,5
Amostra 2	2	23	4	5	3	4	4	3	4	3		47,5
												54,5
Lamina 18												
Amostra 1	1	2	1	2	2	1	4	0	4	3		18,8
Amostra 2	2	1	3	3	1	4	3	3	3	4		29,7
												24,25
Lamina 19												
Amostra 1	0	2	3	1	2	0	5	4	0	0		20,5
Amostra 2	3	3	2	4	0	1	0	3	4	4		30,6
												25,55
Lamina 20												
Amostra 1	1	5	1	3	3	1	4	5	0	5		41,8
Amostra 2	1	5	3	0	3	0	4	1	4	3		32,7
												37,25
Lamina 21												
Amostra 1	2	0	1	5	4	2	0	2	3	5		30,6
Amostra 2	3	4	1	1	2	0	1	5	1	5		29,9
												30,25
Lamina 22												
Amostra 1	5	3	5	4	2	5	3	3	5	3		57,2
Amostra 2	4	2	4	3	5	4	4	3	1	2		43,6
												50,4

Trabalho de Licenciatura

Lamina 23	4	2	2	2	3	3	3	3	4	5	37,0
Amostra 1	4	5	3	3	3	3	2	4	4	3	45,7
Amostra 2											41,35
Lamina 24											
Amostra 1	1	4	3	3	3	4	3	3	4	3	39,1
Amostra 2	2	4	2	5	0	2	5	2	1	5	30,6
											34,85
Lamina 25											
Amostra 1	3	1	1	2	4	0	0	0	2	2	11,7
Amostra 2	4	3	3	3	2	2	2	2	3	2	21,5
											16,6
Lamina 26											
Amostra 1	4	4	3	3	2	2	2	3	2	3	28,0
Amostra 2	3	3	3	2	3	2	4	2	3	2	24,0
											26,0
Lamina 27											
Amostra 1	2	3	0	3	3	1	2	3	3	2	16,6
Amostra 2	2	2	2	2	2	3	2	1	3	3	12,1
											14,35
Lamina 28											
Amostra 1	4	2	1	3	0	2	2	1	2	0	12,2
Amostra 2	0	3	3	2	1	2	3	3	2	3	16,6
											14,4
Lamina 29											
Amostra 1	2	3	1	3	4	2	2	4	3	3	27,6
Amostra 2	3	2	1	3	2	4	3	3	3	2	23,6
											25,6
Lamina 30											
Amostra 1	2	3	3	3	2	2	3	2	2	2	15,0
Amostra 2	2	3	0	3	4	5	0	2	1	1	23,7
											19,35
											30

**Anexo 5.** Método de Kapler – Meier para estimar  $S(t)$  das estacas da *Warburgia salutaris* (primeiro ensaio).  $X$  é o número de plantas mortas;  $qx$ , proporção de plantas mortas no tempo  $t$  e  $S(t)$  probabilidade de sobrevivência.

Meses	Wsi				Wi			
	(x)	qx	1-qx	S (t) Wsi	(x)	qx	1-qx	S (t) Wi
0	0	0	1	1	0	0.00	1.00	1
1	50	1	0	0	47	0.94	0.06	0.06
2	0	0	1	0	1	0.33	0.67	0.04
3	0	0	1	0	1	0.50	0.50	0.02

**Anexo 6.** Método de Kapler – Meier para estimar  $S(t)$  das estacas da *Vangueria infausta* (primeiro ensaio).  $X$  é o número de plantas mortas;  $qx$ , proporção de plantas mortas no tempo  $t$  e  $S(t)$  probabilidade de sobrevivência.

Meses	Vsi				Vi			
	(x)	qx	1-qx	S (t) Vsi	(x)	qx	1-qx	S (t) Vi
0	0	0	1	1	0	0	1	1
1	33	0.66	0.34	0.34	34	0.68	0.32	0.32
2	17	1	0	0	16	1	0	0
3	0	0	1	0	0	0	1	0

**Anexo 7.** Método de Kapler – Meier para estimar  $S(t)$  das estacas da *Securidaca longipedunculata* (primeiro ensaio).  $X$  é o número de plantas mortas;  $qx$ , proporção de plantas mortas no tempo  $t$  e  $S(t)$  probabilidade de sobrevivência.

Meses	Ssi				Si			
	(x)	qx	1-qx	S (t) Ssi	(x)	qx	1-qx	S (t) Si
0	0	0	1	1	0	0	1	1
1	46	0.92	0.08	0.08	50	1	0	0
2	4	1	0	0	0	0	1	0
3	0	0	1	0	0	0	1	0

**Anexo 8.** Método de Kaplan – Meier para estimar  $S(t)$  das estacas da *Warburgia salutaris* do tratamento com hormonas (segundo ensaio).  $X$  é o número de plantas mortas;  $q_x$ , proporção de plantas mortas no tempo  $t$  e  $S(t)$  probabilidade de sobrevivência.

Semanas	Wsih				Wih			
	(x)	$q_x$	$1-q_x$	$S(t) Wsih$	(x)	$q_x$	$1-q_x$	$S(t) Wih$
1	0	0.00	1.00	1.00	0	0.00	1.00	1.00
2	3	0.20	0.80	0.80	2	0.13	0.87	0.87
3	4	0.33	0.67	0.53	7	0.54	0.46	0.40
4	0	0.00	1.00	0.53	0	0.00	1.00	0.40
5	5	0.63	0.38	0.20	4	0.67	0.33	0.13
6	0	0.00	1.00	0.20	1	0.08	0.92	0.12
7	1	0.33	0.67	0.13	0	0.00	1.00	0.12
8	0	0.00	1.00	0.13	0	0.00	1.00	0.12

**Anexo 9.** Método de Kaplan – Meier para estimar  $S(t)$  das estacas da *Warburgia salutaris* do tratamento com incisão (segundo ensaio).  $X$  é o número de plantas mortas;  $q_x$ , proporção de plantas mortas no tempo  $t$  e  $S(t)$  probabilidade de sobrevivência.

Semanas	Wsii				Wii			
	(x)	$q_x$	$1-q_x$	$S(t) Wsii$	(x)	$q_x$	$1-q_x$	$S(t) Wii$
1	0	0.00	1.00	1.00	0	0.00	1.00	1.00
2	4	0.27	0.73	0.73	0	0.00	1.00	1.00
3	1	0.09	0.91	0.67	4	0.27	0.73	0.73
4	1	0.10	0.90	0.60	5	0.45	0.55	0.40
5	4	0.44	0.56	0.33	2	0.33	0.67	0.27
6	1	0.20	0.80	0.27	2	0.50	0.50	0.13
7	1	0.25	0.75	0.20	0	0.00	1.00	0.13
8	1	0.33	0.67	0.13	1	0.50	0.50	0.07

**Anexo 10.** Método de Kaplan – Meier para estimar  $S(t)$  das estacas da *Vangueria infausta* do tratamento com hormonas (segundo ensaio).  $X$  é o número de plantas mortas;  $q_x$ , proporção de plantas mortas no tempo  $t$  e  $S(t)$  probabilidade de sobrevivência.

Semanas	Vsih				Vih			
	(x)	$q_x$	$1-q_x$	$S(t) Vsih$	(x)	$q_x$	$1-q_x$	$S(t) Vih$
1	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00	1.00
2	14.00	0.93	0.07	0.07	13.00	0.87	0.13	0.13
3	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.13
4	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.13
5	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.13
6	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.13
7	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.13
8	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.13

**Anexo 11.** Método de Kaplan – Meier para estimar  $S(t)$  das estacas da *Vangueria infausta* do tratamento com incisão (segundo ensaio).  $X$  é o número de plantas mortas;  $q_x$ , proporção de plantas mortas no tempo  $t$  e  $S(t)$  probabilidade de sobrevivência.

Semanas	Vsii				Vii			
	(x)	$q_x$	$1-q_x$	$S(t) Vci$	(x)	$q_x$	$1-q_x$	$S(t) Vei$
1	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00	1.00
2	3.00	0.20	0.80	0.80	3.00	0.20	0.80	0.80
3	2.00	0.17	0.83	0.67	3.00	0.25	0.75	0.60
4	2.00	0.20	0.80	0.53	3.00	0.33	0.67	0.40
5	1.00	0.13	0.88	0.47	0.00	0.00	1.00	0.40
6	0.00	0.00	1.00	0.47	0.00	0.00	1.00	0.40
7	0.00	0.00	1.00	0.47	1.00	0.17	0.83	0.33
8	0.00	0.00	1.00	0.47	0.00	0.00	1.00	0.33

**Anexo 12.** Método de Kapler – Meier para estimar  $S(t)$  das estacas da *Securidaca longipedunculata* do tratamento com hormonas (segundo ensaio).  $X$  é o número de plantas mortas;  $qx$ , proporção de plantas mortas no tempo  $t$  e  $S(t)$  probabilidade de sobrevivência.

Semanas	Ssih				Sih			
	(x)	qx	1-qx	S (t) Ssih	(x)	qx	1-qx	S (t) Sih
1	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00	1.00
2	15.00	1.00	0.00	0.00	14.00	0.93	0.07	0.07
3	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00
4	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
5	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
6	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
7	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
8	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00

**Anexo 13.** Método de Kapler – Meier para estimar  $S(t)$  das estacas da *Securidaca longipedunculata* do tratamento com incisão (segundo ensaio).  $X$  é o número de plantas mortas;  $qx$ , proporção de plantas mortas no tempo  $t$  e  $S(t)$  probabilidade de sobrevivência.

Semanas	Ssii				Sii			
	(x)	qx	1-qx	S (t) Ssii	(x)	qx	1-qx	S (t) Sii
1	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00	1.00
2	4.00	0.27	0.73	0.73	6.00	0.40	0.60	0.60
3	6.00	0.55	0.45	0.33	2.00	0.22	0.78	0.47
4	1.00	0.20	0.80	0.27	0.00	0.00	1.00	0.47
5	0.00	0.00	1.00	0.27	0.00	0.00	1.00	0.47
6	0.00	0.00	1.00	0.27	0.00	0.00	1.00	0.47
7	0.00	0.00	1.00	0.27	0.00	0.00	1.00	0.47
8	0.00	0.00	1.00	0.27	0.00	0.00	1.00	0.47

**Anexo 14.** Teste estatístico do número de folhas formadas pelas estacas da *Vangueria infausta*, antes da transformação dos dados.

STATISTIX FOR WINDOWS  
ONE-WAY AOV FOR: VIH VII VSIH VSII

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
BETWEEN	3	1260.92	420.306	88.49	0.0000
WITHIN	8	38.0000	4.75000		
TOTAL	11	1298.92			

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

COMPONENT OF VARIANCE FOR BETWEEN GROUPS 138.519  
EFFECTIVE CELL SIZE 3.0

VARIABLE	MEAN	SAMPLE SIZE	GROUP STD DEV
VIH	7.3333	3	1.1547
VII	23.667	3	3.0551
VSIH	0.0000	3	0.0000
VSII	23.333	3	2.8868
TOTAL	13.583	12	2.1794

CASES INCLUDED 12 MISSING CASES 0

**Anexo 15.** Teste estatístico do número de folhas formadas pelas estacas da *Vangueria infausta*, depois da transformação dos dados.

STATISTIX FOR WINDOWS  
ONE-WAY AOV FOR: VIH VII VSIH VSII

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
BETWEEN	3	29.0829	9.69431	14.32	0.0014
WITHIN	8	5.41640	0.67705		
TOTAL	11	34.4993			

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



COMPONENT OF VARIANCE FOR BETWEEN GROUPS 3.00575  
EFFECTIVE CELL SIZE 3.0

VARIABLE	MEAN	SAMPLE SIZE	GROUP STD DEV
VIH	2.7933	3	0.2107
VII	4.9097	3	0.3082
VSIH	0.7070	3	0.0000
VSII	3.8760	3	1.6028
TOTAL	3.0715	12	0.8228

CASES INCLUDED 12 MISSING CASES 0

**Anexo 16.** Teste estatístico do número de folhas formadas pelas estacas da *Securidaca longipedunculata*, antes da transformação dos dados.

STATISTIX FOR WINDOWS  
ONE-WAY AOV FOR: SIH SII SSIH SSII

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
BETWEEN	3	5417.00	1805.67	47.73	0.0000
WITHIN	8	302.667	37.8333		
TOTAL	11	5719.67			

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

COMPONENT OF VARIANCE FOR BETWEEN GROUPS 589.278  
EFFECTIVE CELL SIZE 3.0

VARIABLE	MEAN	SAMPLE SIZE	GROUP STD DEV
SIH	0.0000	3	0.0000
SII	52.000	3	11.358
SSIH	0.0000	3	0.0000
SSII	15.333	3	4.7258
TOTAL	16.833	12	6.1509

CASES INCLUDED 12 MISSING CASES 0

**Anexo 17.** Teste estatístico do número de folhas formadas pelas estacas da *Securidaca longipedunculata*, depois da transformação dos dados.

STATISTIX FOR WINDOWS  
ONE-WAY AOV FOR: SIH SII SSIH SSII

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
BETWEEN	3	87.3737	29.1246	119.69	0.0000
WITHIN	8	1.94661	0.24333		
TOTAL	11	89.3204			

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

COMPONENT OF VARIANCE FOR BETWEEN GROUPS 9.62709  
EFFECTIVE CELL SIZE 3.0

VARIABLE	MEAN	SAMPLE SIZE	GROUP STD DEV
SIH	0.7070	3	0.0000
SII	7.2187	3	0.7652
SSIH	0.7070	3	0.0000
SSII	3.9463	3	0.6227
TOTAL	3.1448	12	0.4933

CASES INCLUDED 12 MISSING CASES 0

**Anexo 18.** Teste estatístico do número de folhas formadas pelas estacas da *Warburgia salutaris*.

STATISTIX FOR WINDOWS  
ONE-WAY AOV FOR: WIH WII WSIH WSII

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
BETWEEN	3	9.00000	3.00000	0.44	0.7313
WITHIN	8	54.6667	6.83333		
TOTAL	11	63.6667			

BARTLETT'S TEST OF EQUAL VARIANCES	CHI-SQ	DF	P
	2.24	3	0.5240

COCHRAN'S Q	
LARGEST VAR / SMALLEST VAR	0.5976 7.0000

COMPONENT OF VARIANCE FOR BETWEEN GROUPS -1.27778  
 EFFECTIVE CELL SIZE 3.0

VARIABLE	MEAN	SAMPLE SIZE	GROUP STD DEV
WIH	2.3333	3	2.5166
WII	3.6667	3	1.5275
WSIH	2.3333	3	1.5275
WSII	4.3333	3	4.0415
TOTAL	3.1667	12	2.6141

CASES INCLUDED 12 MISSING CASES 0

STATISTIX FOR WINDOWS  
 LSD (T) COMPARISON OF MEANS

VARIABLE	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
WSII	4.3333	I
WII	3.6667	I
WIH	2.3333	I
WSIH	2.3333	I

THERE ARE NO SIGNIFICANT PAIRWISE DIFFERENCES AMONG THE MEANS.

CRITICAL T VALUE 2.306 REJECTION LEVEL 0.050  
 CRITICAL VALUE FOR COMPARISON 4.9219  
 STANDARD ERROR FOR COMPARISON 2.1344

**Anexo 19.** Teste estatístico do número de folhas formadas pelas estacas da *Securidaca longipedunculata*.

STATISTIX FOR WINDOWS  
 KRUSKAL-WALLIS ONE-WAY NONPARAMETRIC AOV

VARIABLE	MEAN RANK	SAMPLE SIZE
SIH	3.5	3
SII	11.0	3
SSIH	3.5	3
SSII	8.0	3
TOTAL	6.5	12

KRUSKAL-WALLIS STATISTIC 10.6494  
 P-VALUE, USING CHI-SQUARED APPROXIMATION 0.0138

PARAMETRIC AOV APPLIED to RANKS

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
BETWEEN	3	121.500	40.5000	81.00	0.0000
WITHIN	8	4.00000	0.50000		
TOTAL	11	125.500			

TOTAL NUMBER OF VALUES THAT WERE TIED 6  
 MAX. DIFF. ALLOWED BETWEEN TIES 0.00001

CASES INCLUDED 12 MISSING CASES 0

STATISTIX FOR WINDOWS  
 COMPARISONS OF MEAN RANKS

VARIABLE	MEAN RANK	HOMOGENEOUS GROUPS
SII	11.000	I
SSII	8.0000	I
SIH	3.5000	I
SSIH	3.5000	I

THERE ARE NO SIGNIFICANT PAIRWISE DIFFERENCES AMONG THE MEANS.

REJECTION LEVEL 0.050  
 CRITICAL Z VALUE 2.64  
 CRITICAL VALUE FOR COMPARISON 7.7668