

ALEXANDRE MAGNO PEDROSO DE MIRANDA

CONCENTRAÇÃO DE NITROGÊNIO E DE SACAROSE SOBRE A PROPAGAÇÃO
“IN VITRO” DA SAMAMBAIA ESPADA (*Nephrolepis exaltata* L. Schott)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do grau de “Mestre”.

Orientador

Prof. MOACIR PASQUAL

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1997

ALEXANDRE MAGNO PEDROSO DE MIRANDA

**CONCENTRAÇÃO DE NITROGÊNIO E DE SACAROSE SOBRE A PROPAGAÇÃO
“IN VITRO” DA SAMAMBAIA ESPADA (*Nephrolepis exaltata* L. Schott)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do grau de “Mestre”.

Orientador

Prof. MOACIR PASQUAL

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1997**

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação
da Biblioteca Central da UFLA

Miranda, Alexandre Magno Pedroso de

Concentração de nitrogênio e de sacarose sobre a propagação "in vitro" da samambaia espada (*Nephrolepis exaltata* L. Schott) / Alexandre Magno Pedroso de Miranda -- Lavras : UFLA, 1997.

42 p. : il.

Orientador: Moacir Pasqual.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Samambaia - *Nephrolepis exaltata*. 2. Propagação. 3. Samambaia espada. 4. Meio de cultura - Nitrogênio - Sacarose. 5. Polypodiaceae. 6. Floricultura. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 635.93731

ALEXANDRE MAGNO PEDROSO DE MIRANDA

**CONCENTRAÇÃO DE NITROGÊNIO E DE SACAROSE SOBRE A PROPAGAÇÃO
“IN VITRO” DA SAMAMBAIA ESPADA (*Nephrolepis exaltata* L. Schott)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do grau de “Mestre”.

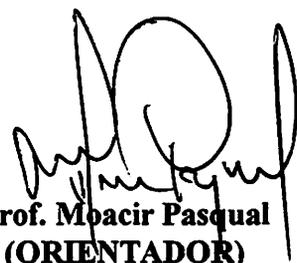
APROVADA em 3 de outubro de 1997



Prof. MS Silvério José Coelho



Eng.º Agro.º MS Gladyston Rodrigues Carvalho



Prof. Moacir Pasqual
(ORIENTADOR)

Aos meus pais

Adílio e Marilu,

aos meus irmãos

Vinicius, Adriana e Flaviani,

a Maria Lúcia Reis

OFEREÇO

BIOGRAFIA DO AUTOR

ALEXANDRE MAGNO PEDROSO DE MIRANDA, filho de Adílio Reis Corrêa de Miranda e Marilu Pedroso de Miranda, é natural de Itajubá, Minas Gerais, nascido a 24 de julho de 1969.

Concluiu o curso de Engenharia Agrônômica, pela Universidade Federal de Lavras/UFLA, em dezembro de 1994.

Em fevereiro de 1995, iniciou o curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, ao nível de Mestrado, na Universidade Federal de Lavras/UFLA.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Moacir Pasqual, pela amizade e orientação.

Ao Prof. (MS) de Floricultura e Paisagismo da Universidade Federal de Lavras/UFLA, Silvério José Coelho, pela coorientação, amizade e convívio.

Ao Prof. Thadeu de Pádua, pelo incentivo ao ingressar neste curso.

Ao Eng.º Agro.º (MS) Gladyston Rodrigues Carvalho, pela amizade, atenção e apoio.

A estudante Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães pela gentileza e contribuição na realização deste trabalho.

Aos funcionários e amigos do viveiro de espécies ornamentais da UFLA, Afonso do Carmo Guimarães e Gersé Francisco de Paula.

Ao Eng.º Agro.º (MS) Enilson de Barros Silva.

Aos companheiros de república e em especial à Maria Aparecida Rossi.

À Universidade Federal de Lavras e à CAPES - Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior, pela oportunidade de realização deste curso.

A todos os colegas e amigos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADO

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Importância das folhagens.....	2
2.2 Características das samambaias.....	3
2.2.1 O Gênero <i>Nephrolepis</i>	4
2.2.2 <i>Nephrolepis exaltata</i>	5
2.3 Propagação de folhagens.....	5
2.3.1 Propagação de <i>Nephrolepis</i>	6
2.3.1.1 Propagação da samambaia de Boston.....	7
2.4 Micropropagação na floricultura.....	7
2.4.1 Micropropagação de samambaias.....	9
2.4.1.1 Meios de cultura.....	10
2.4.1.1.1 Nitrogênio.....	13
2.4.1.1.2 Sacarose.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Local.....	16
3.2 Instalação e condução do experimento.....	16

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5 CONCLUSÕES.....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
APÊNDICE.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Composição do meio MS de Murashige e Skoog (1962), UFLA, Lavras - MG, 1997.....	17
2	Concentração (mM) de nitrogênio total utilizado, em função dos tratamentos, UFLA, Lavras - MG, 1997.....	19
3	Resumo das análises de variância para número e comprimento médio de brotos, peso médio da matéria seca e fresca de brotos, peso médio da matéria seca e fresca de raízes e número médio de raízes em função da concentração de nitrogênio e de sacarose, UFLA, Lavras - MG, 1997.....	20

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Fluxograma representativo da estrutura do delineamento estatístico, UFLA, Lavras - MG, 1997.....	18
2	Número médio de brotos obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura, UFLA, Lavras - MG, 1997.....	22
3	Comprimento médio de brotos obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura, UFLA, Lavras - MG, 1997.....	23
4	Peso médio da matéria seca de brotos obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura, UFLA, Lavras - MG, 1997.....	25
5	Peso médio da matéria seca de raízes obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura, UFLA, Lavras - MG, 1997.....	26
6	Peso médio da matéria fresca de brotos obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura, UFLA, Lavras - MG, 1997....	28

Figura		Página
7	Peso médio da matéria fresca de raízes obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura, UFLA, Lavras - MG, 1997....	29
8	Número médio de raízes obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura, UFLA, Lavras - MG, 1997.....	30

RESUMO

MIRANDA, Alexandre Magno Pedroso de. **Concentração de nitrogênio e de sacarose sobre a propagação “in vitro” da samambaia espada (*Nephrolepis exaltata* L. Schott).** Lavras: UFLA, 1997. 42p. (Dissertação Mestrado em Agronomia / Fitotecnia).*

Este ensaio teve como objetivo estudar a influência de diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose sobre a propagação “in vitro” da samambaia espada (*Nephrolepis exaltata*). Cinco diferentes porcentagens de nitrogênio (0, 25, 50, 100 e 200%) combinados com 6 diferentes concentrações de sacarose (0; 7,5; 15; 30; 60 e 120 g/l) foram avaliadas, em delineamento estatístico inteiramente casualizado com 4 repetições, em esquema fatorial 5 x 6. Constatou-se que a concentração de 7,5 g/l de sacarose e as menores porcentagens de nitrogênio em relação ao meio padrão de MS, de Murashige e Skoog (1962) proporcionaram os melhores resultados no crescimento das características estudadas, a saber, número médio de brotos, peso médio da matéria fresca de brotos, peso médio da matéria fresca de raízes e número médio de raízes. Os resultados mostraram que a otimização do meio de cultura tem efeito marcante na melhor expressão de cada característica estudada “in vitro” e que meios contendo elevados níveis de nitrogênio e sacarose de forma geral, apresentaram os piores rendimentos em relação às características avaliadas.

* Orientador: Moacir Pasqual. Membros da banca: Silvério José Coelho e Gladyston Rodrigues Carvalho.

ABSTRACT

NITROGEN AND SUCROSE CONCENTRATION ON “IN VITRO” PROPAGATION OF SWORD FERN (*Nephrolepis exaltata* L. SCHOTT).

This work was carried out aiming to study the influence of different nitrogen and sucrose concentrations on the “in vitro” propagation of sword fern (*Nephrolepis exaltata*). Five different percentages of nitrogen (0, 25, 50, 100 and 200%) combined with 6 different concentrations of sucrose (0; 7,5; 15; 30; 60 and 120 g/l) were evaluated in an entirely random statistical design with 4 repetitions, in a 5 x 6 factorial scheme. It was verified that the 7,5 g/l sucrose concentration and the lowest percentages of nitrogen in relation to the MS (Murashige and Skoog, 1962) standard medium provided the best results in the growth of the traits studied: average number of sprouts, average weight of the sprout’s fresh matter, average weight of the root’s fresh matter and average number of roots. The results showed that the optimization of the culture medium has significant effect on the better expression of each trait studied “in vitro”, and that mediums containing, in general, high levels of nitrogen and sucrose presented the worst yields in relation to the evaluated traits.

1 INTRODUÇÃO

A floricultura brasileira começou a ter destaque como atividade agrícola de grande importância econômica na década de setenta. O mercado brasileiro de flores e de plantas ornamentais cresce cerca de 25% ao ano desde 1992 (Aki, 1994), movimentando aproximadamente R\$ 1,1 bilhão (Bongers, 1997), com um consumo anual per capita de US\$ 7.

As samambaias estão entre as plantas ornamentais mais cultivadas no Brasil, especialmente nas regiões Sul e Sudeste, sendo muito apreciadas nas grandes cidades.

Pertencem a família botânica Polypodiaceae em que os principais representantes são ornamentais e vivem preferencialmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Entre seus gêneros, o *Nephrolepis* é um dos mais conhecidos, já que as espécies que o compõem são amplamente cultivadas como plantas ornamentais. A *Nephrolepis exaltata* e a *Nephrolepis cordifolia*, que se destacam entre 30 ou 35 outras espécies, são ambas originalmente epífitas.

A samambaia espada (*Nephrolepis exaltata*) é a mais popular e uma das plantas preferidas na decoração de interiores. Ao contrário de outras espécies, não produz esporos viáveis e sua reprodução é essencialmente vegetativa. Assim, a cultura de tecidos é uma alternativa para a propagação comercial desta espécie, possibilitando rapidez, produção em grande escala e em reduzidos espaços e períodos de tempo.

O presente trabalho teve como objetivo determinar o efeito de diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio MS, sobre a propagação “in vitro” da samambaia espada (*Nephrolepis exaltata*).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância das folhagens

Atualmente as folhagens desempenham um papel importante na ornamentação interior de casas e escritórios, mas o primeiro registro de povos interessados nestas plantas foi o dos Sumérios e Egípcios, há aproximadamente 3.500 anos (Chase, 1987).

As folhagens são plantas cultivadas por suas folhas atrativas e pela capacidade de se manterem por longos períodos de tempo em interiores, sendo a maioria delas nativas de áreas tropicais e subtropicais do mundo.

A origem do cultivo comercial de folhagens é desconhecida. Inicialmente a maioria das plantas usadas em interiores provinha do extrativismo, não existindo nenhuma atividade de cultivo comercial organizada.

Durante o final da era vitoriana (1837-1901), encontraram-se registros de que as folhagens entre elas as samambaias, eram cultivadas em estufas na Europa e E.U.A e vendidas para o uso em interiores, em áreas locais (Conover, 1992).

Vestígios da atual indústria de folhagens foram encontrados na Flórida, no princípio de 1906, quando um produtor de samambaia de Boston reconheceu o potencial para o cultivo de folhagens no estado. Contudo, produtores dos estados do norte dos E.U.A. já vinham cultivando, em estufas, samambaias e outras folhagens, em quantidade modesta, por mais de 25 anos.

Foi, no entanto, no início deste século, que a indústria de folhagens se desenvolveu consideravelmente na Europa e E.U.A., com o advento dos sistemas de aquecimento central nas casas de vegetação, seguido do uso de estufas de fibra de vidro. A partir do final dos anos 60 passou a ter maior significância econômica em relação a outros produtos de floricultura, em curto espaço de tempo.

Mais recentemente (desde 1968), várias empresas têm produzido plantas matrizes de folhagens em regiões mais quentes, como o Caribe, onde os custos são reduzidos, para o abastecimento dos estoques nos E.U.A. e Europa.

No norte da Europa, o maior incremento na produção de folhagens ocorreu em estufas de vidro nos últimos 10 anos, principalmente na Dinamarca e Países Baixos, em áreas de inverno com temperaturas moderadas. A maioria das unidades propagativas usadas na produção veio de cultura de tecidos ou de fazendas do sul da Europa ou América Central. As maiores áreas de produção de plantas matrizes estão localizadas na América Central, África, Israel e Ásia. O número de folhagens usadas na Europa também tem crescido substancialmente nos últimos 20 anos, o que pode ser constatado com o crescimento de até 1.000 vezes para a comercialização de alguns gêneros de plantas no leilão de Aalsmeer (Conover, 1992).

Nos E.U.A. a concentração da indústria de folhagens na Flórida, Califórnia, Texas e Hawái ocorre primeiramente devido aos reduzidos custos de produção, associado ao inverno de temperaturas moderadas e a alta intensidade de luz durante o ano.

Neste aspecto, o Brasil, por sua extensão geográfica e grande amplitude de climas e solos (Saturnino, 1979), tem potencial adequado para a produção e exportação de espécies de folhagens tipicamente tropicais, como já vem ocorrendo com as orquídeas, cactos, dracenas, além de outras espécies (Almeida e Aki, 1995).

O crescimento de plantas matrizes de folhagens em estufas é inviável economicamente, pois este espaço deve ser melhor aproveitado na produção de plantas envasadas. Antes do estabelecimento de uma área de produção de plantas matrizes, é sensato comparar seu custo com os da compra de estacas, unidades de cultura de tecidos ou outras unidades propagativas (Conover, 1992).

2.2 Características das samambaias

As samambaias estão entre os habitantes mais antigos do planeta, tendo surgido por volta de 350 milhões de anos atrás, no período devoniano (Pereira, 1981). Por este motivo, além do valor econômico, têm importância científica para estudos de evolução e devem ser preservadas da extinção. Pertencem ao grupo das Pteridófitas e à enorme família Polypodiaceae,

com cerca de 200 gêneros e 5.000 espécies, que engloba a maioria das filicíneas, (Kawakami, 1992), citado por Salvador, 1995.

Quanto à distribuição geográfica, cerca de 10% dos gêneros de samambaias são cosmopolitas e os restantes são endêmicos em áreas geográficas restritas. Na região Indo-Malaia estão 50% dos gêneros e 39% estão na América do Sul, Central e Caraíbas. Os principais fatores que explicam a restrição das samambaias a estas áreas são a grande necessidade de umidade, insolação e temperaturas relativas elevadas na reprodução natural desta planta (Pereira, 1981).

2.2.1 O Gênero *Nephrolepis*

O gênero *Nephrolepis* ganhou popularidade durante a era Vitoriana (séc. XIX) e atualmente é o mais conhecido em cultivo. Todas as suas espécies são usadas satisfatoriamente em jardins internos e em interiores, além de se prestarem para a cobertura do solo, para vasos suspensos (de onde as frondes se desenvolvem por igual), em maciços e algumas vezes como espécime de mesa, como plantas de pedestal, em cestas penduradas e até para o crescimento entre pedras (Amaki e Higuchi, 1992).

Nephrolepis é o gênero mais importante, após o gênero *Adiantum*, pela variedade e beleza de suas diversas formas, pela larga difusão por todo o mundo e resistência ao microclima das residências e varandas, sendo considerado um dos gêneros de plantas mais apreciados para o cultivo em ambientes fechados.

Ao contrário do que ocorre nas plantas selvagens deste gênero, nas espécies cultivadas de *Nephrolepis*, os ramos das plantas freqüentemente possuem várias pontas e os esporos são estéreis ou suas folhas dificilmente formam bolsas de esporos (Amaki e Higuchi, 1992).

O arranjo das bolsas de esporos difere de espécie para espécie. Elas estão localizadas no lado inferior das folhas superiores e têm mais ou menos o formato de um rim, daí o nome do gênero *Nephrolepis*, que, em grego, significa forma de rim (Taylor, 1961).

Algumas plantas do gênero *Nephrolepis* produzem muitos rizomas na base das folhas (Decker, [19--?]), utilizados para a reprodução vegetativa da planta (Bianchini e Pantano, 1974).

2.2.2 *Nephrolepis exaltata*

A samambaia espada pertence a Divisão Pteridophyta, classe Filicinae, Ordem Filicales, Subordem Eufilicínea, Família Polypodiaceae, Gênero *Nephrolepis*, Espécie *Nephrolepis exaltata*. Ela apresenta frondes muito numerosas de 90 a 150 cm de comprimento, podendo chegar até 250 cm, com aproximadamente 15 cm de largura, estreitando suavemente para a base; possui ramos rígidos e eretos de cor castanho pálido. As folhas de 5 a 8 cm de comprimento são numerosas e muito próximas, com poucos ou sem “dentes” (Pereira, 1981; Taylor, 1961). É uma espécie tolerante à baixa temperatura (4 a 10°C), requerendo intensidade média de luz (800 a 1.600 lux) para sua manutenção (Amaki e Higuchi, 1992).

A classificação e o levantamento científico das espécies de samambaia são ainda imprecisos e apresentam dificuldades pelo fato de serem elas nativas de regiões do mundo que detêm poucos recursos para sua pesquisa e preservação (Pereira, 1981).

A correta identificação da espécie *Nephrolepis exaltata* torna-se difícil devido à existência de grande número de variações a partir da planta-tipo. Assim, Corrêa (1984) aponta entre outras as seguintes espécies variantes: **superpa** (pena de avestruz); **Smithi** (feto crespo); **elegantissima** e **Whitmanil**, sendo esta última também chamada “samambaia de Boston” (*Nephrolepis exaltata* Schott var. *bostoniensis* Hort.). Estas variações serviram para adaptá-las à sobrevivência nos jardins e nos vasos suspensos (Pereira, 1981).

A samambaia de Boston (*Nephrolepis exaltata* cv. *bostoniensis*), espécie de samambaia mais popular e cultivada nos E.U.A., tendo-se daí espalhado pelo mundo, originou-se de um lote de *Nephrolepis exaltata* enviadas da Filadélfia para Boston por volta de 1894. É também considerada a melhor de todas as samambaias caseiras (Taylor, 1961).

2.3 Propagação de folhagens

A maioria das folhagens é relativamente fácil de se propagar, mesmo estando os produtores mais interessados em práticas que aumentem a qualidade, a percentagem e a velocidade de enraizamento das plantas.

Os métodos de propagação usados incluem estacas, sementes, esporos, divisão de plantas e cultura de tecidos. A seleção de um ou outro método específico depende do hábito de

crescimento da planta (ereta, rasteira) e da disponibilidade de material propagativo (Conover, 1992). A propagação em campo está decrescendo em importância devido aos altos custos e a necessidade de amplas áreas para as plantas matrizes. A divisão é um método que apresenta problemas de transporte, doenças, insetos e infestação de nematóides em novas plantações.

A cultura de tecidos está se tornando um importante método de propagação de folhagens. A multiplicação rápida de novos cultivares é uma vantagem importante da cultura de tecidos, embora alguns cultivares mais antigos como a samambaia de Boston sejam comumente propagados por este sistema. Atualmente, alguns gêneros de plantas incluindo *Dieffenbachia*, *Nephrolepis*, *Spathiphyllum* e *Syngonium* são mais comumente propagados por cultura de tecidos que por qualquer outro método (Conover, 1992).

2.3.1 Propagação de *Nephrolepis*

Muitos cultivares de *Nephrolepis* são comumente propagados por métodos assexuais, divisão de coroas ou de touceiras fortes, brotos de raízes, mudas que se formam no ápice de estolhos e por cultura “in vitro”, já que a maioria deles não produz esporos. É necessário ser cuidadoso na seleção dos propágulos, pois alguns cultivares freqüentemente produzem variantes que não têm o padrão original da espécie. As pontas de estolhos geralmente são usadas para regenerar mudas, que são subculturadas para multiplicar os brotinhos.

Cultivares de *Nephrolepis* têm sido propagados comercialmente por cultura “in vitro”, nos Países Baixos, onde 11.194.900 plantas foram clonadas em 1986, segundo Amaki e Higuchi (1992).

Alguns autores afirmam que plantas do gênero *Nephrolepis* (samambaias comuns), podem se reproduzir por esporos, embora as variedades cultivadas nem sequer produzam esporos. Por outro lado, este tipo de reprodução geralmente é demorado podendo levar de 1 a 2 anos até que as plantas estejam comercialmente disponíveis (Conover, 1992).

2.3.1.1 Propagação da samambaia de Boston

A samambaia de Boston foi a primeira folhagem a ser comercialmente propagada “in vitro”, tendo sido economicamente importante desde a década de 20 (McConnell, 1991; Amaki e Higuchi, 1992).

A maioria dos produtores tem usado linhagens de cultura de tecidos como fonte de propagação destas plantas, desde o final dos anos 70, em função de apresentarem poucos problemas de doenças e uma taxa de crescimento mais uniforme, quando comparados a propagação por rizomas removidos de canteiro (McConnell, 1991).

Embora a cultura de tecidos seja comum na propagação comercial das samambaias de Boston, os detalhes dos procedimentos usados nesta técnica têm sido pouco divulgados (Amaki e Higuchi, 1992).

2.4 Micropropagação na floricultura

A propagação vegetativa de plantas “in vitro”, também denominada micropropagação, tem atraído a atenção dos pesquisadores desde o início do século e tem sido considerada uma grande promessa para a agricultura. É indiscutivelmente a aplicação mais concreta e de maior impacto da cultura de tecidos em função do tamanho dos propágulos utilizados (Grattapaglia e Machado, 1990).

A primeira aplicação comercial da micropropagação foi realizada por Morel em 1960, que recuperou cultivares de orquídeas livres de vírus, mediante a cultura de “meristemas”, demonstrando a potencialidade das aplicações comerciais da micropropagação (Torres e Caldas, 1990).

Atualmente, a atividade de micropropagação concentra-se principalmente na limpeza clonal e na multiplicação de espécies ornamentais herbáceas e arbustivas. Além das razões econômicas, esta tendência reflete as grandes vantagens que têm sido encontradas na micropropagação de espécies herbáceas (Grattapaglia e Machado, 1990).

Esta técnica tem sido utilizada como um meio rápido de propagação vegetativa na indústria da horticultura ornamental junto com outras técnicas biotecnológicas, uma vez que

permite a obtenção de um grande número de plantas com autenticidade varietal e em qualquer época do ano (Nagao, Pasqual e Ramos, 1994).

Das novas técnicas biotecnológicas surgidas nas últimas décadas, a micropropagação vem apresentando resultados econômicos promissores, como por exemplo, na produção comercial de orquídeas (em grande escala). O uso desta técnica, associada à atividade de viveiristas, tem proporcionado sucesso comercial. Nesse aspecto, a propagação de plantas ornamentais engloba mais de 36 famílias e 75 gêneros, incluindo herbáceas anuais, bianuais e perenes, além de plantas lenhosas (Grattapaglia e Machado, 1990).

Com o aumento da produção e comércio de plantas ornamentais no Brasil, a partir dos anos 80, os produtores nacionais passaram a utilizar tecnologia e estruturas especiais de cultivo, como estufas climatizadas e a produção intensiva de mudas homogêneas e saudáveis pela propagação por meristemas (Lorenzi e Souza, 1995).

A micropropagação ao nível comercial é realidade em diversos países do mundo, com destaque para Europa e E.U.A.. No Brasil esta atividade é relativamente recente, com inúmeros laboratórios utilizando diferentes metodologias de manipulação de plantas “in vitro” (Torres e Caldas, 1990), ocupando posição de destaque entre os países em desenvolvimento nas pesquisas com cultura de tecidos de plantas (Giacometti, 1990).

Diversas tecnologias desenvolvidas para a preservação do patrimônio genético, como conservação “in vitro”, criopreservação, armazenamento de sementes, são pouco utilizadas para as plantas ornamentais e praticamente não existem instituições oficiais no Brasil voltadas para esse setor. Assim, a conservação dos recursos genéticos é geralmente feita “ex situ” e em condições precárias (Carvalho, 1993).

A conservação de coleções ativas de germoplasma “in vitro” constitui alternativa de reconhecidos méritos e vantagens sobre as coleções conservadas “in vivo”, naquelas a redução dos custos e o estado fitossanitário são vantagens consagradas. Este sistema, entretanto, requer o monitoramento da integridade genética do material e o crescimento mínimo, a fim de se reduzirem as repicagens (Giacometti, 1990). Desta forma a preservação do germoplasma “in vitro” poderá evitar a perda de genótipos e prevenir os danos causados pela exploração intensiva e indiscriminada de plantas, como ocorre com as pteridófitas (Borelli et al., 1990).

Outra preocupação dos países em desenvolvimento é com a privatização das pesquisas em biotecnologia, o que vem ocorrendo nos países do primeiro mundo, devido às

restrições aos resultados de pesquisa, o que tende a perpetuar e agravar a dependência tecnológica. Mas esta possibilidade é minimizada graças à dedicação dos pesquisadores nas universidades e centros de pesquisa e, mais recentemente, em função dos investimentos da iniciativa privada no desenvolvimento de técnicas com aplicação comercial.

Dadas as restrições impostas pelo patenteamento e com a estimativa de que até o final da presente década mais de 3.000 genótipos serão micropropagados, sendo a maioria de espécies ornamentais (Giacometti, 1990), fica claro a importância de se desenvolver pesquisas com estas plantas.

2.4.1 Micropropagação de samambaias

Um dos estudos pioneiros sobre a propagação de pteridófitas “in vitro” foi efetuado por Hires (1940), citado por Borelli et al. (1990), mediante inoculação de esporos de *Polypodium aureum* J. Sm. em meio nutritivo sólido. Em 1949, Wetmore e Morel conseguiram regenerar e propagar samambaias a partir de meristemas apicais de rizoma (Grattapaglia e Machado, 1990). Pontas de rizomas foram primeiramente usadas como explante para a propagação em massa de samambaias.

As pontas de estolhos ou rizomas regeneram mudas no chamado sistema multi-brotos, em que a taxa de multiplicação é próxima de 6 vezes por cultura (Amaki e Higuchi, 1992).

Dois tipos de propágulos são usados na fase de multiplicação do explante: brotos-multiplos e GGB ou Corpos Globulares Verdes que se distinguem de tecidos calosos por sua estrutura externa e interna (Amaki e Higuchi, 1992). Este último método é muito eficiente e superior ao sistema de multi-brotos no aumento da taxa de multiplicação.

Para Amaki e Higuchi (1992) estes sistemas de propagação podem contribuir para a preservação das pteridófitas, além de permitir a propagação de importantes cultivares, como de *Nephrolepis*, que são propagados vegetativamente e também por cultura de pontas de estolhos.

A espécie *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott foi comercialmente propagada pela primeira vez em 1976, utilizando-se o meio de Murashige e Skoog (MS), segundo Borelli et al. (1990).

Uma outra samambaia ornamental, a folha de couro (*Rumohra adiantiformis*), foi produzida em alta escala a partir da cultura de tecidos e o processo foi descrito por Chen e Read

em 1983. Neste sistema de micropropagação, a produção da samambaia a partir de pontas de rizoma tem potencial de propagação de até 16 milhões de mudas por ano, para suprimento de um novo estoque de plantas matrizes.

2.4.1.1 Meios de cultura

Os meios nutritivos utilizados para a cultura de células, tecidos e órgãos de plantas fornecem as substâncias essenciais para o crescimento e controlam em grande parte o padrão de desenvolvimento “in vitro” (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990).

Complementando as substâncias biossintetizadas pelas células, vários compostos orgânicos são adicionados ao meio para suprir as necessidades metabólicas, energéticas e estruturais das células.

A lista dos minerais incluídos na maioria dos meios utilizados atualmente foi definida por White (1943), citado por Caldas, Haridasan e Ferreira (1990) e também continha vitaminas e sacarose. Durante anos, o meio de White foi utilizado como básico para a cultura de uma grande variedade de tecidos de diferentes espécies.

O meio MS de Murashige e Skoog (1962) foi desenvolvido a partir de testes de suplementação do meio de White com extrato de folhas de fumo. Estas modificações posteriores envolveram principalmente o aumento das concentrações dos sais em geral, uma diminuição na concentração de sódio e o acréscimo de nitrogênio na forma de amônio para complementar o nitrato. Foi demonstrado que a fração do extrato que mais estimulou o crescimento foi aquela dos componentes inorgânicos (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990).

Atualmente, o meio MS juntamente com o B₅ são usados no cultivo da grande maioria das espécies.

Percebe-se então que o sucesso da micropropagação depende não só dos fatores inerentes ao tecido vegetal (genéticos e fisiológicos), como também das condições térmicas e luminosas em que a cultura é mantida e do meio de cultura apropriado que permite a indução, a multiplicação e o crescimento das brotações adventícias.

As exigências nutricionais requeridas para o crescimento de um tecido em condições “in vitro” variam de espécie para espécie, de variedade para variedade e até mesmo

dentro da própria planta, o que torna necessária a otimização dos meios de cultura (Nagao, Pasqual e Ramos, 1994).

Na literatura encontram-se várias formulações de meios de cultura para as mais diversas espécies cultivadas “in vitro”, geralmente compostos de uma fonte de carboidrato, macro e micronutrientes e outras substâncias orgânicas (Nagao, Pasqual e Ramos, 1994).

Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas no início do cultivo, sendo geralmente o mesmo meio empregado na fase de multiplicação. Não há uma formulação padrão, mas o meio MS de Murashige e Skoog (1962), com suas modificações e diluições, tem apresentado resultados satisfatórios para diversas espécies. As variações mais freqüentes do meio básico referem-se a composição de macronutrientes, a fonte de nitrogênio utilizada e ao balanço entre os íons nitrato e amônio (Grattapaglia e Machado, 1990).

É possível que as concentrações ótimas de sais num meio sólido sejam mais elevadas do que as concentrações ótimas para o crescimento em um meio líquido, devido às restrições na velocidade de difusão de nutrientes que o meio sólido impõe. O meio nutritivo de White foi utilizado como meio líquido, enquanto Murashige e Skoog (1962) trabalharam com meios sólidos. Possivelmente esta diferença contribui para explicar os bons resultados obtidos com um meio de baixa concentração de sais, na forma líquida, enquanto o meio sólido exige uma maior concentração de minerais (Caldas, Harisadan e Ferreira, 1990).

Anderson (1984), citado por Grattapaglia e Machado (1990), desenvolveu um sistema de bioensaios para avaliar os efeitos de modificações na formulação do meio MS. Diversas modificações foram feitas, seja nos macro como nos micronutrientes, reduzindo a salinidade final do meio. A formulação revisada melhorou substancialmente o desenvolvimento das culturas de diversas variedades de *Rhododendron* e passou a ser utilizada na micropropagação comercial de diversas outras espécies, principalmente lenhosas.

As diluições das formulações básicas, utilizadas para a multiplicação, têm na grande maioria das vezes possibilitado melhor enraizamento. Mesmo na presença de auxinas, altas concentrações de sais tendem a inibir todas as fases do enraizamento, mas particularmente a de crescimento das raízes (Grattapaglia e Machado, 1990).

Hu e Wang (1983), também citados por Grattapaglia e Machado (1990), relacionam diversos meios de enraizamento onde se verifica a alta freqüência de diluições de formulações básicas. Estes últimos autores afirmam que os macronutrientes são os componentes

que inibem o enraizamento quando em excesso, embora diluições excessivas possam levar a deficiências minerais na parte aérea enraizada.

Pierik (1987), citado por Oliveira (1994), afirma que a concentração de nutrientes no meio MS é muito alta, podendo ser diminuída. A concentração de sais do meio MS é um dos fatores de maior influência sobre o estabelecimento e desenvolvimento de explantes de samambaia em meio de cultura, partindo-se da inoculação de esporos, estolões e brotações da espécie *Nephrolepis exaltata* (Loescher e Albrecht, 1979; Paek et al., 1984, citados por Pasqual, Hoshika e Ishida, 1994).

Pontas de estolhos de *Nephrolepis cordifolia* produziram GGB em meio MS com 1/4 da concentração, suplementado com BA depois de 4 semanas de cultura.

Os GGB's, ricos em meristemas, são rapidamente multiplicados em 1/4 de MS, quando suplementados com BA e facilmente regeneram mudas nesta mesma concentração de meio sem reguladores de crescimento de plantas. Em função disto, os GGB's são citados como propágulos intermediários na multiplicação em massa de samambaias (Amaki e Higuchi, 1992).

Loescher e Albrecht (1979), citados por Amaki e Higuchi (1992), relatam que a formação de brotos e raízes de pontas de estolhos de *Nephrolepis exaltata* "in vitro" foram inibidos com níveis padrões de sal inorgânico de MS e a inibição poderia ser evitada com o uso de metade da concentração do meio MS.

Leffring e Soede (1982), citados por Amaki e Higuchi (1992), também relataram que no cultivo de 5 cultivares de *Nephrolepis exaltata*, a partir de pontas de estolhos, em meio MS com sal inorgânico diluído a 1/8, 1/4, 1/2, 3/4 e 1/1 da concentração, o melhor resultado foi obtido com 1/2 de MS. Higuchi et al. (1987), citados por Amaki e Higuchi (1992), observaram crescimento mais rápido de mudas e GGB's de *Nephrolepis cordifolia* em meio com 1/4 MS do que em meios com 1/2 e 1/1 de MS. Desta forma, estes últimos autores concluíram que 1/2 MS ou 1/4 MS são recomendados para a cultura inicial de pontas de estolhos de *Nephrolepis*.

Estes estudos contribuem para que a micropropagação seja considerado um processo barato, acessível e economicamente viável. Nele, a embriogênese somática, a cultura em meios líquidos, o uso de bioreatores, o uso de meios mínimos, a eliminação de vidros como recipientes para o cultivo e a robotização da operação de subcultura estão entre as possibilidades que se apresentam para que, num futuro próximo, esta técnica seja um processo de multiplicação vegetativa por excelência (Grattapaglia e Machado, 1990).

2.4.1.1.1 Nitrogênio

Os elementos minerais exigidos em maiores quantidades para o crescimento de plantas inteiras são incluídos nos meios nutritivos na forma de sais inorgânicos, podendo o nitrogênio ser adicionado como componente de suplementos orgânicos (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990).

O nitrogênio, juntamente com a sacarose, é o principal componente em quantidade no meio de cultura, contribuindo de forma efetiva tanto no metabolismo celular como na regulação do seu potencial osmótico (Nagao, Pasqual e Ramos, 1994).

Segundo Caldas, Haridasan e Ferreira (1990), a pressão osmótica tem sido estudada, uma vez que elevados níveis reduzem o crescimento e afetam o metabolismo celular das plantas.

Por apresentar-se na forma de cátion (amônio) e ânion (nitrito e nitrato), o nitrogênio difere dos demais macronutrientes. O efeito destas diferentes formas inorgânicas, separadamente, pode promover ou não o crescimento e desenvolvimento de determinadas espécies de plantas. Já a combinação das duas, estimula o crescimento de muitas espécies “in vitro”, de modo que a toxidez do amônio não é absoluta (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990).

Esses íons são de grande importância no controle do pH do meio de cultura. Atuam como agente tamponante e favorecem a absorção de outros íons presentes no meio (Nagao, Pasqual e Ramos, 1994), os quais geralmente possuem baixa capacidade tamponante (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990).

Para Nagao, Pasqual e Ramos (1994), o crescimento e a morfogênese de células e tecidos de plantas cultivadas “in vitro” são marcadamente influenciados pela disponibilidade e pela forma sob a qual o nitrogênio é suplementado no meio de cultivo.

Grewal et al. (1980), citados por Grattapaglia e Machado (1990), verificaram em culturas de *Eucalyptus citriodora* que, ao se reduzir pela metade as concentrações de nitrato de amônio e de potássio do meio MS, a taxa de multiplicação dobrava.

2.4.1.1.2 Sacarose

As células, tecidos e plântulas cultivadas “in vitro” não encontram condições adequadas de iluminação e concentração de CO₂ e, às vezes, não apresentam teores de clorofila suficientes para realizar a fotossíntese ou a realizam em níveis muito baixos. Com isso, o crescimento da maioria das culturas é sustentado pela fonte de carboidrato adicionada ao meio, segundo Caldas, Haridasan e Ferreira (1990).

Para estes mesmos autores os carboidratos fornecem energia metabólica e esqueletos carbônicos para a biossíntese de polissacarídeos estruturais como celulose, aminoácidos e proteínas, ou seja, todos os compostos orgânicos necessários para o crescimento das células.

A energia gerada pelo metabolismo da sacarose também é utilizada nos processos de absorção de compostos orgânicos estruturais ou metabólicos e de outros íons presentes no meio (Nagao, Pasqual e Ramos, 1994).

Caldas, Haridasan e Ferreira (1990) citam que a sacarose é o carboidrato mais utilizado nos meios nutritivos, sendo que o açúcar proporciona as mais altas taxas de crescimento na maioria das espécies. Nagao, Pasqual e Ramos (1994) comentam que a sacarose tem sido o carboidrato preferido no meio de cultivo, em vista de características tais como a alta solubilidade e sua rápida metabolização pela maioria das células vegetais. Por outro lado, não só a fonte de açúcar tem grande influência nos processos de cultivo “in vitro” como sua concentração efetiva.

Para muitas espécies, a sacarose é empregada nos meios de cultura em uma concentração entre 2 e 4% (Nagao, Pasqual e Ramos, 1994). Abaixo desta faixa, pode ocorrer clorose generalizada na cultura e, acima dela, podem ocorrer problemas de excessivo potencial osmótico do meio, o que leva a uma deterioração das culturas (Grattapaglia e Machado, 1990).

Para Caldas, Haridasan e Ferreira (1990) a multiplicação e o crescimento de plantas “in vitro” também depende do explante e a concentração de sacarose pode ser limitante para a atividade da redutase de nitrato, que possui atividade “in vitro” e é responsável pela utilização do nitrato pelas células.

Loescher e Albrecht (1979), citados por Amaki e Higuchi (1992), observaram o crescimento de ramos e de raízes de *Nephrolepis exaltata* “in vitro” em uma concentração ótima de sacarose de 20 g/l. A sacarose e a concentração de sais, segundo Pasqual, Hoshika e Ishida

(1994), influenciam diretamente no processo de multiplicação “in vitro” da samambaia espada (*Nephrolepis exaltata*). Estes autores constataram que a concentração de 30 g/l de sacarose proporciona o maior número de brotações por explante, enquanto que o melhor resultado com relação ao comprimento de folhas foi obtido entre 15 e 30 g/l de sacarose.

Oliveira (1994) observou que menores concentrações de nitrogênio combinadas com baixas concentrações de sacarose apresentaram tendência favorável ao crescimento de brotos em crisântemo.

Do e Cormier (1991), citados por Oliveira (1994), relatam que altas concentrações de sacarose combinadas com baixos níveis de nitrato apresentam efeito positivo na acumulação intracelular de antocianinas, além de causar inibição no crescimento celular em videira.

Em geral, a concentração de sacarose no meio de enraizamento é mantida nos mesmos níveis em que se usa no meio de multiplicação, entre 2 e 3%, ao passo que Grattapaglia e Machado (1990) consideram que uma boa disponibilidade de energia é indispensável para a rizogênese. Snir e Erez (1980), também citados por Grattapaglia e Machado (1990), verificaram uma absoluta dependência de sacarose para o enraizamento de macieira “in vitro”.

Ao contrário destas afirmações, George e Sherrington (1984), citados por Oliveira (1994), dizem que concentrações elevadas de açúcar podem inibir a formação de raízes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, Estado de Minas Gerais, Brasil, à uma altitude de 900 metros, 21° 14' 06" de Latitude Sul e 45° de Longitude Oeste.

3.2 Instalação e condução do experimento

A partir de brotações de *Nephrolepis exaltata* vigorosa, var. Iris, já estabelecida "in vitro", obtiveram-se os brotos, que se constituíram de mudas selecionadas visualmente em função de seu bom desenvolvimento. Logo após, foram inoculadas individualmente em meio MS (Murashige e Skoog, 1962 - Tabela 1), modificado em relação às concentrações de nitrogênio em 0, 25, 50, 100 e 200% (Tabela 2) e suplementado com sacarose em 0; 7,5; 15; 30; 60 e 120 g/l, em todas as combinações possíveis, perfazendo um total de 30 tratamentos. O meio MS de Murashige e Skoog (1962) foi usado como básico, sendo que as concentrações de 30 g/l de sacarose e 100% de nitrogênio (constituído de 20,60 mM de NH_4NO_3 e 18,80 mM de KNO_3), foram consideradas padrões.

O ensaio foi instalado em delineamento estatístico inteiramente casualizado com 4 repetições, em esquema fatorial (concentração de nitrogênio x concentração de sacarose). As parcelas foram constituídas de 4 tubos de ensaio de 2,5 x 15 cm, contendo aproximadamente 15 ml de meio, os quais foram previamente esterilizados em autoclave a 121°C, pressão de 1 atm, durante 15 minutos. A estrutura fatorial do experimento foi composta de 6 níveis de concentração de sacarose e 5 níveis de porcentagem de nitrogênio (Figura 1).

TABELA 1. Composição do meio MS de Murashige e Skoog (1962), UFLA, Lavras - MG, 1997.

Componentes	Concentrações (mM)
NH ₄ NO ₃	20,60
KNO ₃	18,80
CaCl ₂ ,2H ₂ O	2,99
MgSO ₄ ,7H ₂ O	1,50
KH ₂ PO ₄	1,25
MnSO ₄ , 4H ₂ O	0,1000
ZnSO ₄ ,7H ₂ O	0,0299
H ₃ BO ₃	0,1000
KI	0,0050
Na ₂ MoO ₄ ,2H ₂ O	0,0010
CuSO ₄ ,5H ₂ O	0,0001
CoCl ₂ ,6H ₂ O	0,0001
Na ₂ ,EDTA,2H ₂ O	0,1000
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0,1000
Glicina	0,0266
Ácido Nicotínico	0,0040
Piridoxina HCl	0,0024
Tiamina HCl	0,0003
Mio-inositol	0,55
Sacarose	87,60

O pH do meio foi aferido para 5,9 utilizando-se NaOH ou HCl e solidificado com 7,0 g/l de ágar, antes do processo de autoclavagem.

Como fonte de nitrogênio utilizou-se o nitrato de amônio (NH₄NO₃) e o nitrato de potássio (KNO₃); e o açúcar comum como fonte de sacarose; procedimento este rotineiro em laboratório.

Após a inoculação dos brotos nos tubos de ensaio, em câmara de fluxo laminar em sala asséptica, os tratamentos foram levados para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz, com intensidade luminosa de 2.500 lux e temperatura de aproximadamente 25°C, onde permaneceram por 30 dias até a avaliação final do experimento.

A Tabela 2 ilustra as modificações nas concentrações de nitrogênio utilizadas em cada tratamento.

As características avaliadas foram:

Número e comprimento médio de brotos, peso médio da matéria seca e fresca de brotos, peso médio da matéria seca e fresca de raízes e número médio de raízes.

Concentração de sacarose (g/l):

$$S_1 = 0$$

$$S_2 = 7,5$$

$$S_3 = 15$$

$$S_4 = 30$$

$$S_5 = 60$$

$$S_6 = 120$$

Porcentagem de nitrogênio (%):

$$N_1 = 0$$

$$N_2 = 25$$

$$N_3 = 50$$

$$N_4 = 100$$

$$N_5 = 200$$

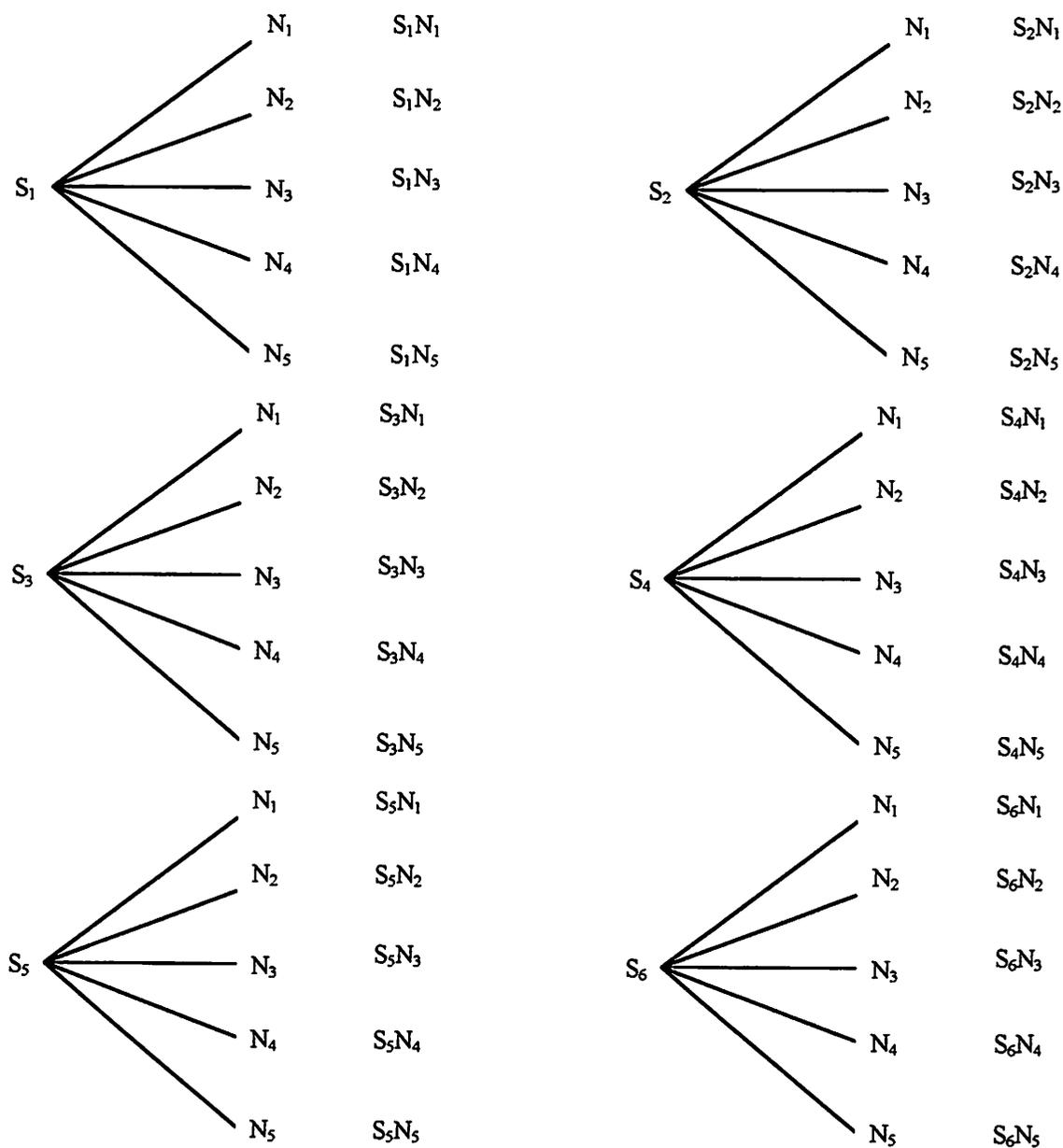


FIGURA 1. Fluxograma representativo da estrutura do delineamento estatístico, UFLA, Lavras - MG, 1997.

TABELA 2. Concentração (mM) de nitrogênio total utilizado, em função dos tratamentos, UFLA, Lavras - MG, 1997.

Nitrogênio (%)	Tratamentos				
	0	25	50	100	200
NH ₄ NO ₃ (mM)	0	5,15	10,30	20,60	41,20
KNO ₃ (mM)	0	4,70	9,40	18,80	37,60

O número médio de brotos e de raízes foi obtido através de contagem direta; o comprimento médio de brotos foi medido através de régua milimetrada. As características de peso médio da matéria fresca de brotos e de raízes foram obtidas pela pesagem direta em balança analítica e pela pesagem seguida da secagem em estufa por 72 horas, a 65°C quando o objetivo era determinar o peso médio da matéria seca de brotos e raízes.

Na análise dos dados não transformados, utilizou-se o software SANEST (1986) e algumas equações foram processadas pelo programa SAS (1985). No desdobramento das interações significativas fixou-se a sacarose e variou-se o nitrogênio, em função deste último fator ser pouco referenciado no estudo do meio de cultura desta espécie. O teste de F foi selecionado com nível de 1 e 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 é apresentado o resumo das análises de variância, mostrando que as variáveis número e comprimento médio de brotos, peso médio da matéria seca e fresca de brotos, peso médio da matéria seca e fresca de raízes e número médio de raízes foram afetadas significativamente ao nível de 1% de probabilidade pela interação entre nitrogênio e sacarose (NxS). Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Pasqual, Hoshika e Ishida (1994), onde a sacarose e a concentração de sais influenciaram diretamente no processo de multiplicação da samambaia espada (*Nephrolepis exaltata*) “in vitro”.

Para todas as características estudadas houve interação significativa entre diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose.

TABELA 3. Resumo das análises de variância para número e comprimento médio de brotos, peso médio da matéria seca e fresca de brotos, peso médio da matéria seca e fresca de raízes e número médio de raízes em função da concentração de nitrogênio e de sacarose. UFLA, Lavras/ MG, 1997.

C.V.	GL	Quadrados Médios ^{1/}						
		N.Brotos	C.Brotos	P.S.Brotos	P.S.Raízes	P.F.Brotos	P.F. Raízes	N.Raízes
Nitrogênio	4	1103,46**	29,31**	24890,52**	227,78**	96539,97**	2472,11**	428,73**
Sacarose	5	981,965**	23,17**	48065,02**	730,22**	140983,97**	3649,60**	897,52**
N x S	20	213,53**	8,29**	6223,14**	245,01**	16060,19**	2031,36**	142,36**
Resíduo	180	1,92	0,29	215,31	1,02	537,86	23,43	5,18
CV (%)		12,95	15,91	22,04	19,68	29,09	25,33	23,84

1/ Dados não transformados

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Através da Figura 2, observa-se que a formação média de brotos foi maior na concentração de 7,5 g/l de sacarose e 25% de nitrogênio. Nos meios com valores de sacarose de 15 e 30 g/l, aliados a níveis diferentes de nitrogênio de 100 e 25% respectivamente, ainda se observa uma formação razoável de brotos. Com elevado valor de sacarose, 120 g/l e 50% de nitrogênio obteve-se a menor produção.

Os valores encontrados ajustam-se aos de Loescher e Albrecht (1979), citados por Amaki e Higuchi (1992), em que a melhor produção de brotos de pontas de estolhos da espécie *Nephrolepis exaltata* foi alcançada com níveis mais diluídos do meio MS, em relação ao padrão.

Estes dados também apontam para respostas semelhantes às de Pasqual, Hoshika e Ishida (1994), que constataram ser a concentração de 30g/l de sacarose a melhor na produção de brotações de *Nephrolepis exaltata*, o que, neste experimento aparece como o segundo melhor valor na produção de brotos; maior que 25 brotos, quando acompanhado de 25% de nitrogênio.

Na Figura 3, o melhor comprimento médio de brotos foi observado com 0 g/l de sacarose e 25% de nitrogênio e o menor desenvolvimento ocorreu com 7,5 g/l de sacarose e 50% de nitrogênio. Da mesma forma, como foi observado em crisântemo por Oliveira em 1995, o crescimento dos brotos de samambaia apresentaram melhor resultado quando pequenas concentrações de sacarose combinaram com baixa porcentagem de nitrogênio no meio de cultura. O melhor resultado encontrado para esta característica também segue a tendência de se utilizar níveis entre 2 a 4% de sacarose (correspondente a 0,6 e 1,2g/l de sacarose respectivamente), como se faz na micropropagação da maioria das espécies (Nagao, Pasqual e Ramos, 1994).

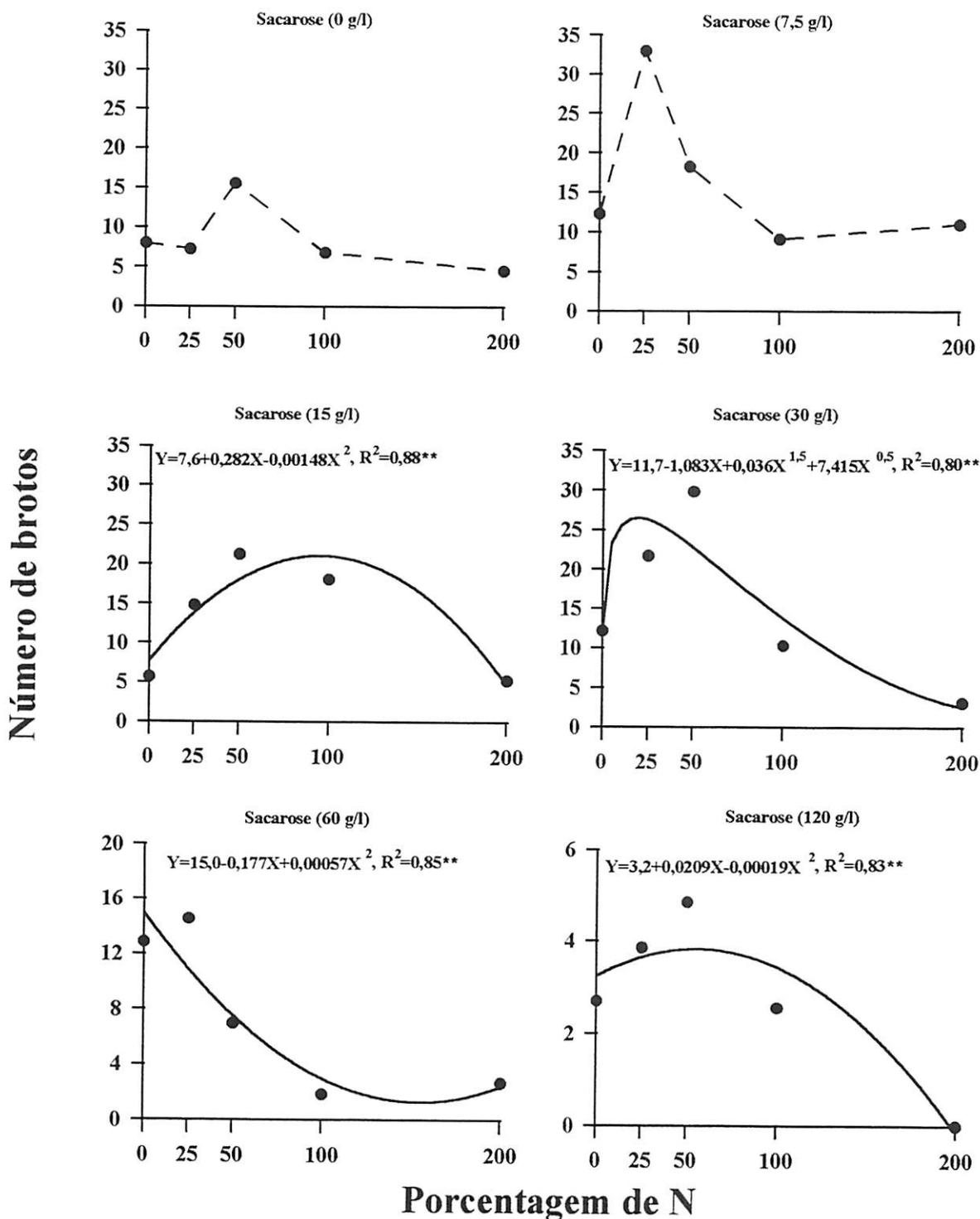


FIGURA 2. Número médio de brotos obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura. UFLA, Lavras - MG, 1997.

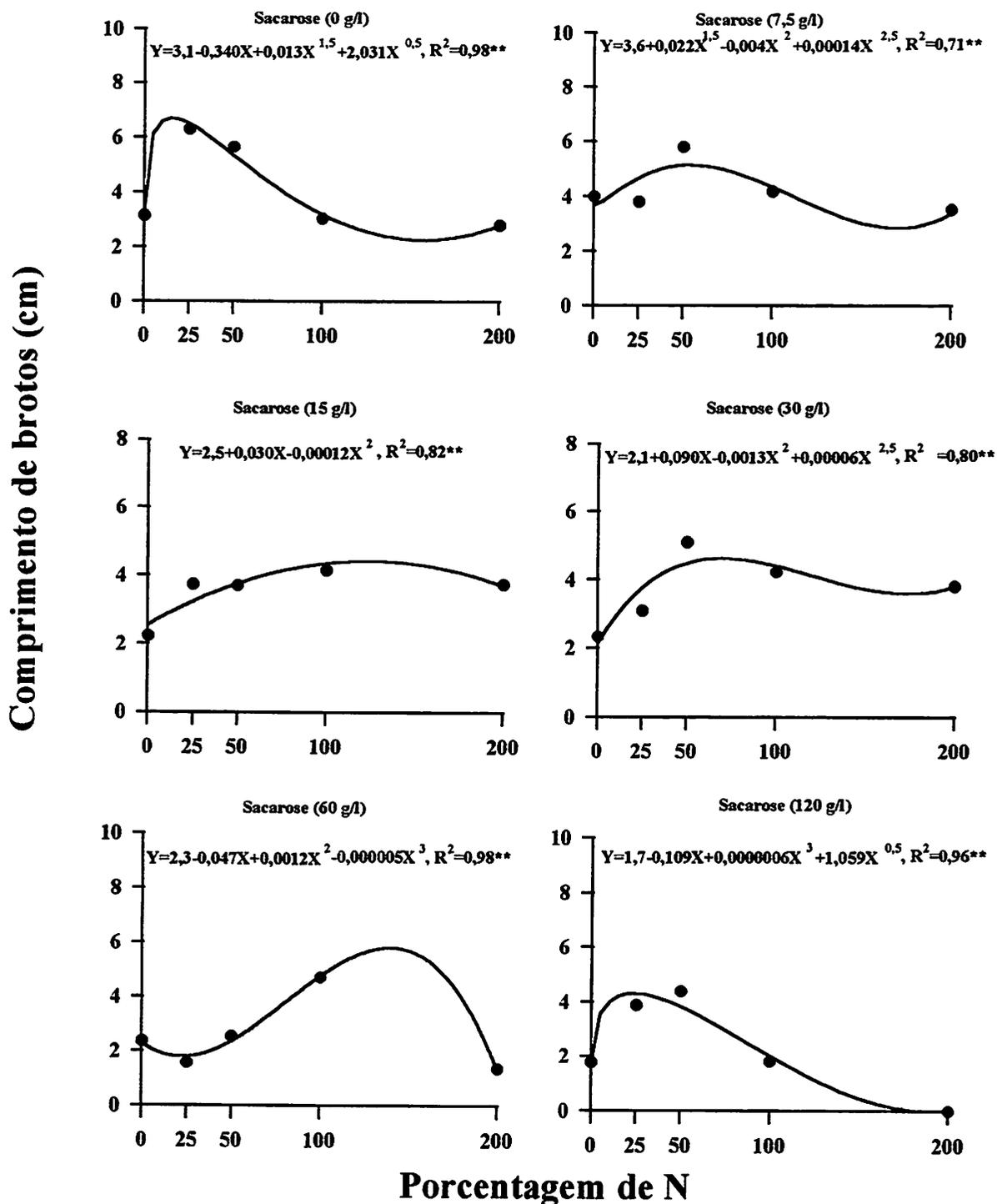


FIGURA 3. Comprimento médio de brotos obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura. UFLA, Lavras - MG, 1997.

O maior peso médio da matéria seca de brotos foi encontrado com 30g/l de sacarose e 50% de nitrogênio, seguido ainda de razoável produção de peso com 15g/l e 100%; 7,5g/l e 25% de sacarose e nitrogênio, respectivamente, mostrando que a faixa entre 7,5 e 30 g/l de sacarose é favorável ao peso da matéria seca de brotos. Embora as porcentagens de nitrogênio tenham variado bastante entre os três melhores valores obtidos, nota-se que todos ocorreram com níveis abaixo do padrão de nitrogênio do meio MS e neste valor padrão (Figura 4). Observa-se também que o melhor valor de peso médio da matéria seca de brotos ocorreu na concentração padrão de sacarose e em 50% de nitrogênio.

A pior relação entre a concentração de nitrogênio e de sacarose para esta característica foi obtida com 120g/l de sacarose e 50% de nitrogênio. Estes dados mostram que o elevado potencial osmótico do meio, provavelmente, teve maior influência neste resultado, uma vez que o nitrogênio e a sacarose são os principais componentes em quantidade no meio de cultura (Nagao, Pasqual e Ramos, 1994) e que a elevada pressão osmótica reduz o crescimento e afeta o metabolismo celular (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990).

Pela Figura 5, nota-se que o maior valor de peso médio da matéria seca de raízes ocorreu na concentração de 7,5 g/l de sacarose e em valores maiores que 100% de nitrogênio, declinando ao se aproximar de 200% de nitrogênio. O menor valor foi registrado com 60g/l de sacarose e valores maiores que 100% de nitrogênio, declinando próximo de 200%.

A resposta desta característica às variações da concentração de sacarose são semelhantes as de todas as outras, ao passo que em relação a variação de nitrogênio difere das demais. Aqui a melhor e pior expressão da característica estudada ocorre com níveis superiores ao padrão de nitrogênio do meio MS, de 100%.

Os dados mostram que as diluições das formulações básicas, utilizadas para a multiplicação, têm, na grande maioria das vezes, possibilitado melhor enraizamento (Grattapaglia e Machado, 1990).

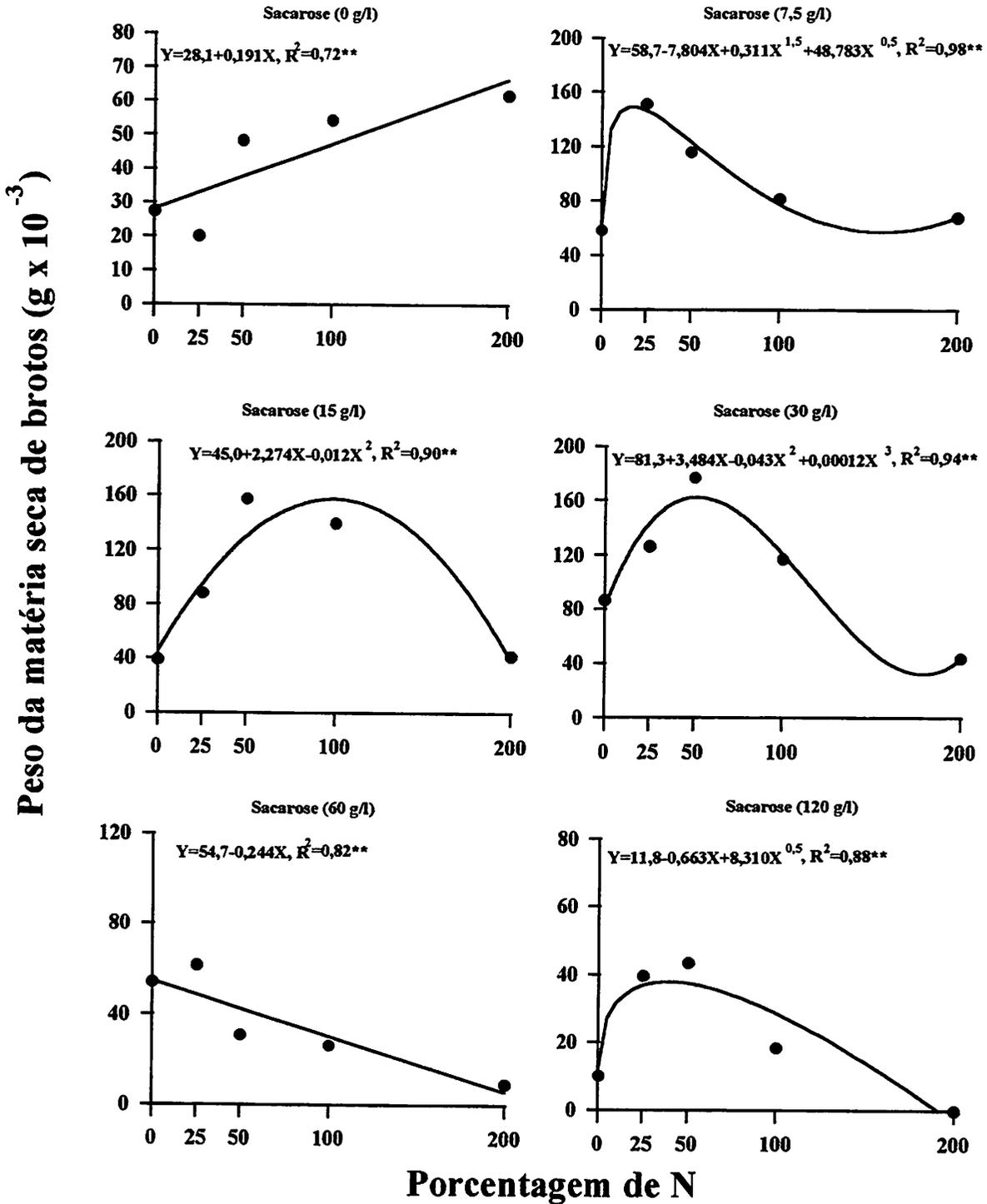


FIGURA 4. Peso médio da matéria seca de brotos obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura. UFLA, Lavras - MG, 1997.

Peso da matéria seca de raízes ($\text{g} \times 10^{-3}$)

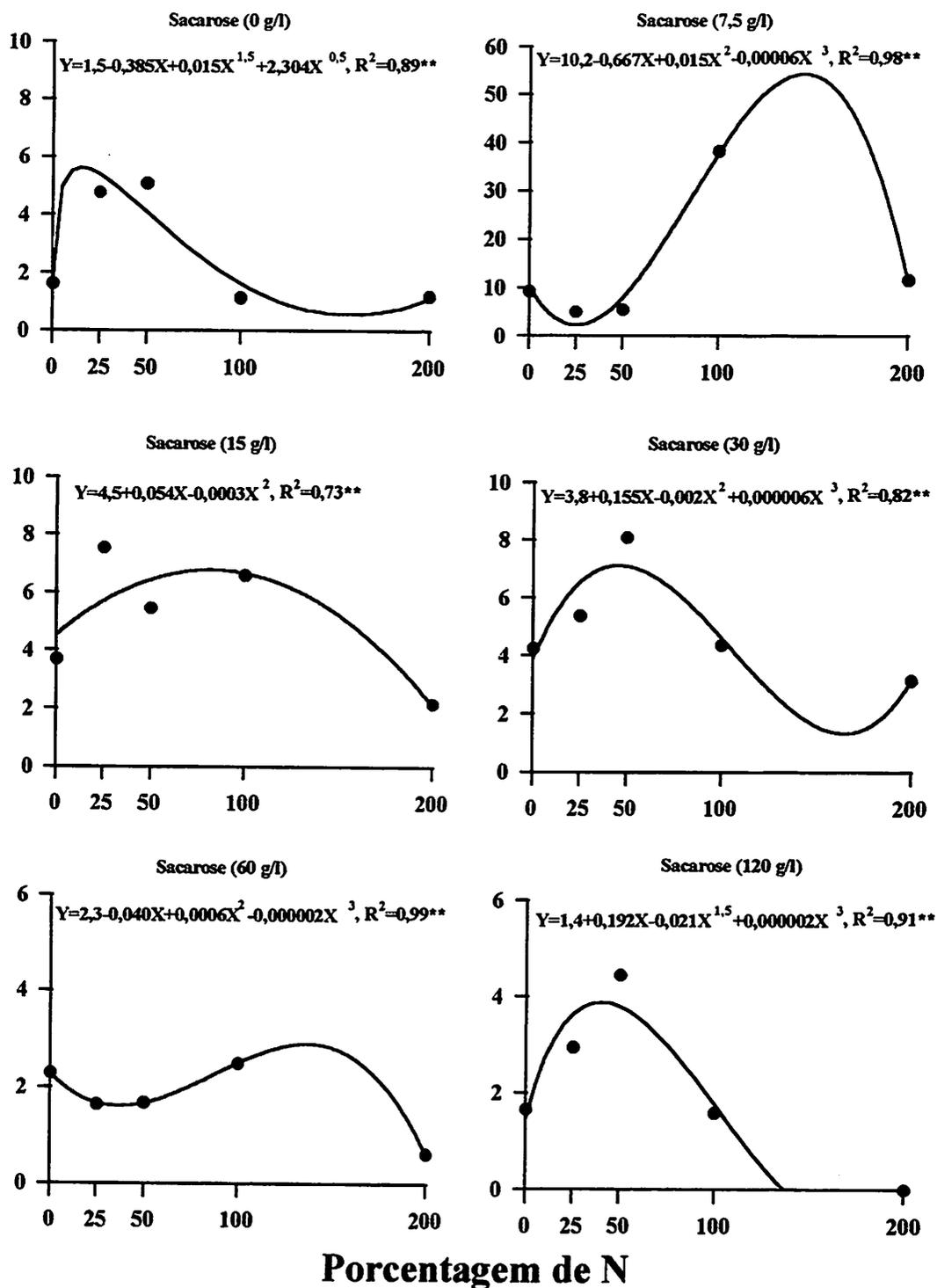


FIGURA 5. Peso médio da matéria seca de raízes obtidas em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura. UFLA, Lavras - MG, 1997.

Estes dados também mostram haver influência da disponibilidade de nitrogênio e da concentração de sacarose no cultivo “in vitro” (Nagao, Pasqual e Ramos, 1994).

O maior peso médio da matéria fresca de brotos foi obtido com 7,5 g/l de sacarose e 25% de nitrogênio, sendo este valor bastante superior aos demais, o que representa o melhor crescimento vegetativo. O pior resultado foi encontrado na concentração de 120 g/l de sacarose e 50% de nitrogênio (Figura 6).

Estes dados confirmam os relatos de Grattapaglia e Machado (1990), em que a diluição do meio padrão de MS tem apresentado resultados satisfatórios para diversas espécies.

Na Figura 7, os maiores e menores valores de peso médio da matéria fresca de raízes são observados com 7,5 g/l de sacarose e 0% de nitrogênio e 60 g/l de sacarose e 0% de nitrogênio. Estes resultados demonstram que com baixa concentração de sacarose a menor concentração de nitrogênio é favorável a produção de peso da matéria fresca de raízes e com alta concentração de sacarose a baixa concentração de nitrogênio é desfavorável.

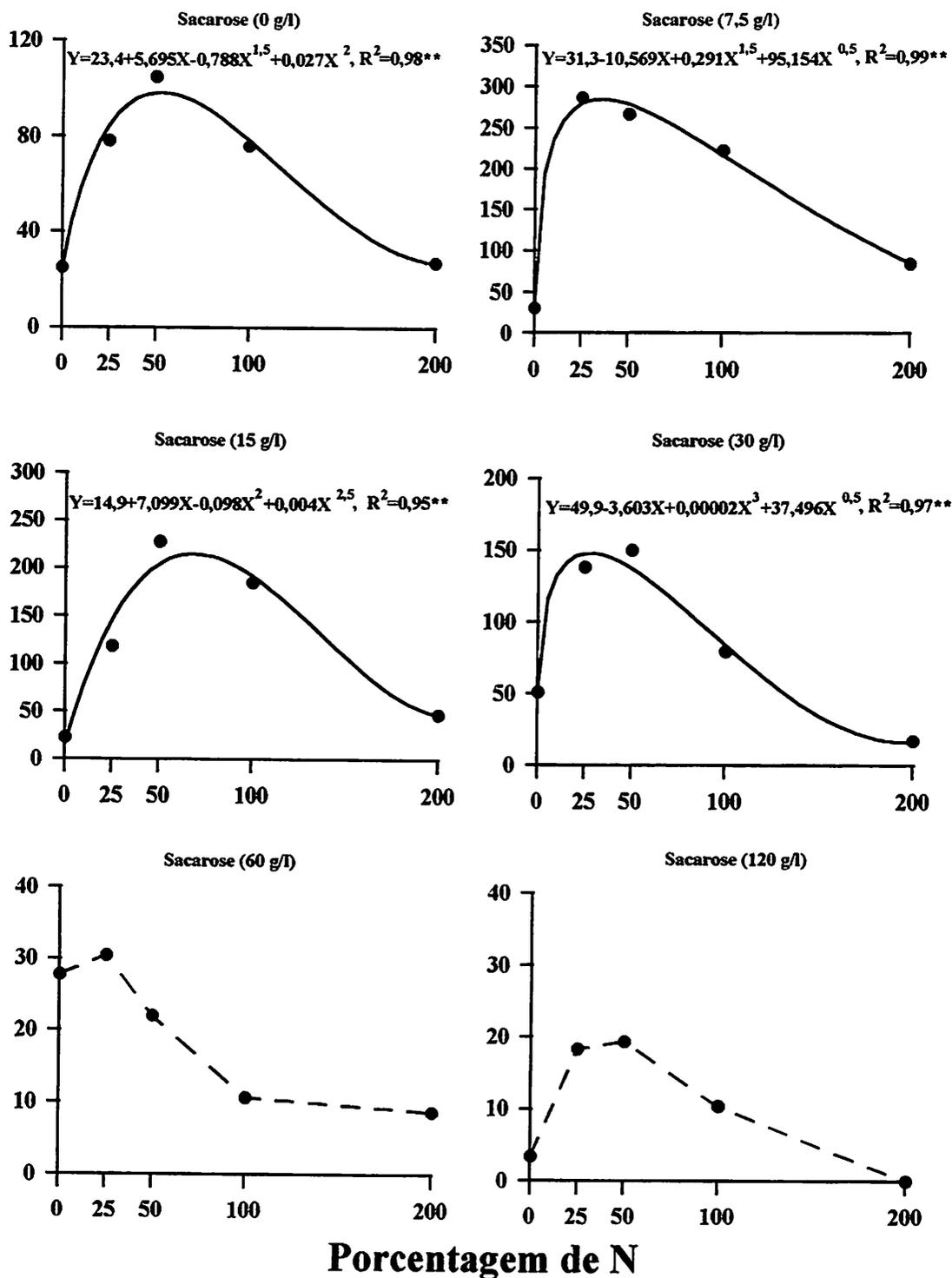
Estes dados concordam com aqueles de Loescher e Albrecht (1979), apresentados por Amaki e Higuchi (1992), na medida em que a formação de brotos e raízes de *Nephrolepis exaltata* foram inibidos com níveis padrões de sal inorgânico de MS e discordam quanto à concentração ótima de sacarose para o desenvolvimento de ramos e raízes da samambaia espada, de 20 g/l.

O maior número médio de raízes foi obtido com 7,5 g/l de sacarose e 0% de nitrogênio e o menor número delas foi encontrado com 60 g/l de sacarose e 0% de nitrogênio (Figura 8). Observa-se que o melhor resultado foi obtido com a segunda menor concentração de sacarose estudada, demonstrando assim estar coerente com a literatura, na medida em que se aproxima da concentração indicada para o meio de enraizamento, entre 2 e 3% (Grattapaglia e Machado, 1990).

Os dados deste estudo também ajustam-se às afirmações de George e Sherrington (1984), citados por Oliveira (1994), segundo os quais concentrações elevadas de açúcar podem inibir a formação de raízes “in vitro”.

Os resultados das Figuras 7 e 8 estão de acordo com os relatos de Do e Cormier (1991), citados por Oliveira (1994), de que altas concentrações de sacarose combinadas com baixos níveis de nitrato causam inibição no crescimento celular, como ocorre em videira.

Peso da matéria fresca de brotos ($g \times 10^{-2}$)



----- Não houve ajuste da equação de regressão.

FIGURA 6. Peso médio da matéria fresca de brotos obtidos em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura. UFLA, Lavras - MG, 1997.

Peso da matéria fresca de raízes ($\text{g} \times 10^{-3}$)

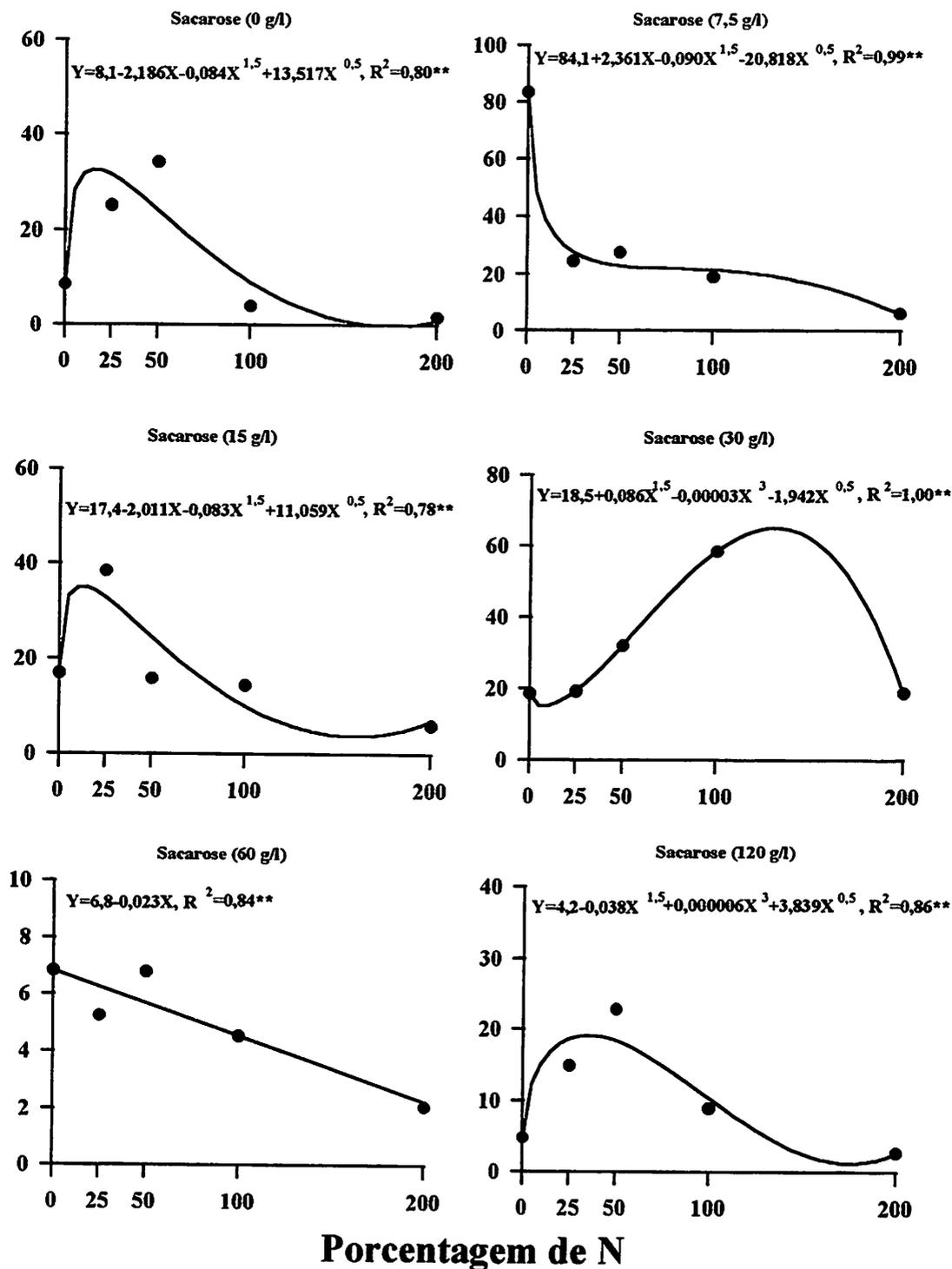


FIGURA 7. Peso médio da matéria fresca de raízes obtidas em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura. UFLA, Lavras - MG, 1997.

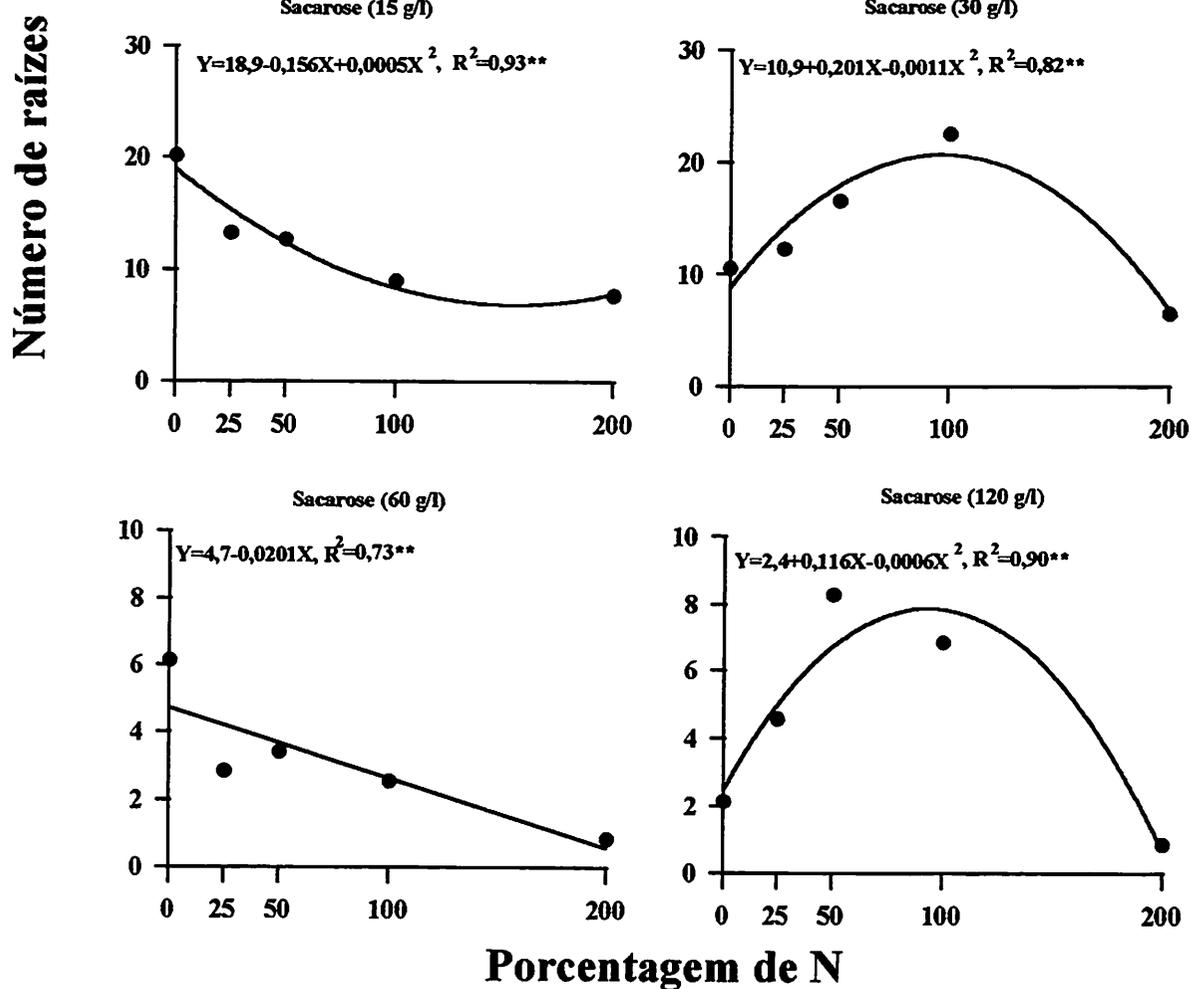


FIGURA 8. Número médio de raízes obtidas em diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose no meio de cultura. UFLA, Lavras - MG, 1997.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que as modificações nas concentrações de nitrogênio e de sacarose influenciaram no crescimento da samambaia espada “in vitro”.

Percentuais medianos de nitrogênio combinados com as menores concentrações de sacarose, em relação ao padrão do meio MS, proporcionaram os melhores resultados nas características avaliadas, a saber, número e comprimento médio de brotos, peso médio da matéria seca e fresca de brotos, peso médio da matéria seca e fresca de raízes e número de raízes. Assim, constata-se que a concentração de 7,5 g/l de sacarose e dosagens de nitrogênio próximas de 50% devem ser adotadas como as melhores no cultivo desta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKI, A.Y. **Quase tudo que você gostaria de saber sobre floriculturas**. São Paulo: Primon, 1994. 44p.
- ALMEIDA, F.R.de F.; AKI, A.Y. Grande crescimento no mercado das flores. **Agroanalysis**, Rio de Janeiro, v.15, n.9, p.8-11, 15 set. 1995.
- AMAKI, W.; HIGUCHI, H. Micropropagation of Boston Ferns. In: BAJAN, Y.P.S. **Biotechnology in Agriculture and Forestry**, Gainesville, v.20, n.104, p.485-494, Oct. 1992.
- BIANCHINI, F.; PANTANO, A.C. **Tudo verde: guia das plantas e flores**. São Paulo: Melhoramentos, 1974. 21p.
- BONGERS, F. Brasil aumenta a sua produção de flores e melhora a qualidade. **Folha de São Paulo**, São Paulo, 29 jul. 1997. Opinião, p.4, c.5.
- BORELLI, F.P.; CASTRO, C.E.F.de; MATTHES, L.A.F.; TOMBOLATO, A.F.C.; NAGAI, V. Propagação de pteridófitas in vitro e in vivo através de esporos. **Bragantia**, Campinas, v.49, n.2, p.205-219, 1990.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA - CNPH, 1990. p.37-63.
- CARVALHO, D.G. **Utilização da cultura de tecidos vegetais na micropropagação e manutenção de *Heliconia* spp.** Lavras: ESAL, 1993. 40p. (Tese-Mestrado em Fitotecnia).
- CHASE, A.R. **Compendium of ornamental foliage plant diseases**. St. Paul: Am. Phytopath. Soc., 1987. 92p.
- CHEN, S.Y.; READ, P.E. Micropropagation of Leatherleaf fern (*Rumohra adiantiformis*). **The Florida State Horticultural Society**, St. Paul, v.96, n.1/3, p.266-269, Nov. 1983.
- CONOVER, C.A. Foliage plants. In: LARSON, R.A. (ed.). **Introduction to floriculture**. New York: Academic, 1992. p.569-598.
- CORRÊA, P.M. **Dicionário das plantas úteis e exóticas do Brasil**. Rio de Janeiro: IBDF, 1984. v.3, p.170-171.

- DECKER, J.S. **Floricultura**. São Paulo: Melhoramentos, [19--?]. p.259-264. (Biblioteca Criação e Lavoura, 8).
- GIACOMETTI, D.C. Impacto atual da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA - CNPH, 1990. p.19-36.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA - CNPH, 1990. p.99-160.
- LORENZI, H.; SOUZA, H.M.de. **Plantas ornamentais no Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1995. p.19-24.
- MCCONNELL, D.B. Production environment affects growth rate of Boston Fern. **The Florida State Horticultural Society**, Gainesville, v.104, n.29-31, p.317-319, Oct. 1991.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised *medium* for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NAGAO, E.O.; PASQUAL, M.; RAMOS, J.D. Efeitos da sacarose e do nitrogênio inorgânico sobre a multiplicação "in vitro" de brotações de porta-enxerto de citros. **Bragantia**, Campinas, v.53, n.1, p.25-31, 1994.
- OLIVEIRA, P.D.de. **Propagação "in vitro" de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.) cv. Orange Reagen**. Lavras: ESAL, 1994. 116p. (Tese - Mestrado em Fitotecnia).
- PASQUAL, M.; HOSHIKA, E.; ISHIDA, J.S. Influência de diferentes concentrações de sacarose e sais minerais sobre a multiplicação in vitro de *Nephrolepis exaltata* (uma samambaia ornamental). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.11, p.1681-1684, nov. 1994.
- PEREIRA, A. **Samambaias**. São Paulo: Nobel, 1981. 143p.
- SALVADOR, E.D. **Efeito de diferentes substratos no crescimento e desenvolvimento de samambaia Matogrossense (*Polypodium aureum*)**. Lavras: UFLA, 1995. 64p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- SANEST, MANUAL DO. ed. **Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores**. Piracicaba: CIAGRI / USP, 1986.
- SAS - user's guide : **Statistics**, Cary : SAS INSTITUTE, 1985. 956p.
- SATURNINO, H.M. A floricultura no Brasil. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 1, Viçosa, 1979. **Anais...** Viçosa: UFV, 1979. p.11-18.

- TAYLOR, N. **Encyclopedia of gardening**. 4.ed. London: Houghton Mifflin, 1961. p.793-794.
- TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. Histórico da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA - CNPH, 1990. p.17.

APÊNDICE

TABELA 1A. Quadrados médios da análise de variância e respectivos níveis de significância da variável número de brotos de samambaia, UFLA, Lavras - MG, 1997.

Causas de variação	GL	Quadrado Médio	R ²
Sacarose (S)	5	981,96571**	
Nitrogênio (N)	4	1103,4643**	
S x N	20	213,5300**	
Desdobramento de N dentro de 0 g/l de sacarose			
X	1	104,4321**	0,2135
X ²	1	71,8064**	0,3604
X ³	1	105,8463**	0,5768
Desvio	1	206,8863**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 7,5 g/l de sacarose			
X	1	568,5750**	0,2153
X ²	1	0,4342NS	0,2154
X ³	1	1274,2921**	0,6979
Desvio	1	797,6701**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 15 g/l de sacarose			
X	1	97,2321**	0,0657
X ²	1	1212,4849**	0,8862
X ³	1	156,9257**	0,9924
Desvio	1	11,2428**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 30 g/l de sacarose			
X	1	1226,4243**	0,4020
X ^{1,5}	1	612,3139**	0,6026
X ^{0,5}	1	630,0831**	0,8091
Desvio	1	582,3297**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 60 g/l de sacarose			
X	1	615,0892**	0,6594
X ²	1	180,6257**	0,8531
X ³	1	60,2217**	0,9176
Desvio	1	76,8061**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 120 g/l de sacarose			
X	1	57,6035**	0,6211
X ²	1	19,8316**	0,8349
X ³	1	13,4138**	0,9795
Desvio	1	1,8937NS	1,0000
Resíduo	180	1,9254	
Média Geral		10,71	
C.V.		12,95	

NS, * e ** não significativo e significativo a 5 e 1% de probabilidade.

TABELA 2A. Quadrados médios da análise de variância e respectivos níveis de significância da variável comprimento de brotos de samambaia, UFLA, Lavras - MG, 1997.

Causas de variação	GL	Quadrado Médio	R ²
Sacarose (S)	5	23,1756**	
Nitrogênio (N)	4	29,3136**	
S x N	20	8,2988**	
Desdobramento de N dentro de 0 g/l de sacarose			
X	1	19,5571**	0,2561
X ^{1,5}	1	8,4212**	0,3664
X ^{0,5}	1	47,2776**	0,9854
Desvio	1	1,1113NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 7,5 g/l de sacarose			
X ^{1,5}	1	3,6248**	0,1630
X ²	1	3,7463**	0,3315
X ^{2,5}	1	5,6248**	0,7100
Desvio	1	9,2365**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 15 g/l de sacarose			
X	1	4,3500**	0,2810
X ²	1	8,2732**	0,8156
X ³	1	1,4853*	0,9116
Desvio	1	1,3667*	1,0000
Desdobramento de N dentro de 30 g/l de sacarose			
X	1	4,3251**	0,1371
X ^{1,5}	1	16,6613**	0,6652
X ^{0,5}	1	4,2096**	0,8000
Desvio	1	6,3540**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 60 g/l de sacarose			
X	1	0,2828NS	0,0057
X ²	1	28,6074**	0,5870
X ³	1	19,6798**	0,9869
Desvio	2	0,6429NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 120 g/l de sacarose			
X	1	43,1357**	0,4880
X ³	1	11,1887**	0,6146
X ^{0,5}	1	30,3622**	0,9581
Desvio	1	88,3925**	1,0000
Resíduo	180	0,2979	
Média Geral		3,43	
C.V.		15,91	

NS, * e ** não significativo e significativo a 5 e 1% de probabilidade.

TABELA 3A. Quadrados médios da análise de variância e respectivos níveis de significância da variável peso de matéria seca de brotos de samambaia, UFLA, Lavras - MG, 1997.

Causas de variação	GL	Quadrado Médio	R ²
Sacarose (S)	5	48065,0273**	
Nitrogênio (N)	4	24890,5215**	
S x N	20	6223,1450**	
Desdobramento de N dentro de 0 g/l de sacarose			
X	1	6374,6285**	0,7222
X ²	1	827,8598NS	0,8160
X ³	1	116,1560NS	0,8291
Desvio	1	1507,8715**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 7,5 g/l de sacarose			
X	1	5352,3773**	0,1295
X ^{1,5}	1	8046,1279**	0,3241
X ^{0,5}	1	27271,000**	0,9836
Desvio	1	676,91375NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 15 g/l de sacarose			
X	1	1829,3803**	0,0220
X ²	1	73186,2148**	0,9028
X ³	1	4213,3855**	0,9535
Desvio	1	3860,2993**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 30 g/l de sacarose			
X	1	21845,4222**	0,3205
X ²	1	30423,0205**	0,7668
X ³	1	12092,7985**	0,9443
Desvio	1	3794,7198**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 60 g/l de sacarose			
X	1	10493,3528**	0,8209
X ²	1	444,7384NS	0,8557
X ³	1	37,7595NS	0,8586
Desvio	1	1806,4364**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 120 g/l de sacarose			
X	1	3159,7446**	0,3216
X ^{0,5}	1	5546,1186**	0,8861
Desvio	2	1119,1155NS	1,0000
Resíduo	180	215,3120	
Média Geral		66,56 (0,06)	
C.V.		22,04	

NS, * e ** não significativo e significativo a 5 e 1% de probabilidade.

TABELA 4A. Quadrados médios da análise de variância e respectivos níveis de significância da variável peso de matéria seca de raízes de samambaia, UFLA, Lavras - MG, 1997.

Causas de variação	GL	Quadrado Médio	R ²
Sacarose (S)	5	730,2267**	
Nitrogênio (N)	4	227,7863**	
S x N	20	245,0063**	
Desdobramento de N dentro de 0 g/l de sacarose			
X	1	26,4142**	0,2405
X ^{1,5}	1	11,2466**	0,3428
X ^{0,5}	1	60,8374**	0,8967
Desvio	1	11,3502**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 7,5 g/l de sacarose			
X	1	485,2355**	0,0902
X ²	1	1978,0709**	0,4582
X ³	1	2808,9440**	0,9807
Desvio	1	103,5739**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 15 g/l de sacarose			
X	1	35,7857**	0,2684
X ²	1	61,8130**	0,7320
X ³	1	3,6806NS	0,7596
Desvio	1	32,0417**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 30 g/l de sacarose			
X	1	23,3743**	0,2361
X ²	1	21,9797**	0,4581
X ³	1	36,1388**	0,8232
Desvio	1	17,4973**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 60 g/l de sacarose			
X	1	6,9457**	0,4571
X ²	1	2,7849NS	0,6404
X ³	1	5,4535*	0,9994
Desvio	1	0,0089NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 120 g/l de sacarose			
X	1	33,1203**	0,4241
X ^{1,5}	1	20,1210**	0,6817
X ³	1	18,1574**	0,9143
Desvio	1	11,3503**	1,0000
Resíduo	180	1,0194	
Média Geral		5,13 (0,005)	
C.V.		19,68	

NS, * e ** não significativo e significativo a 5 e 1% de probabilidade.

TABELA 5A. Quadrados médios da análise de variância e respectivos níveis de significância da variável peso de matéria fresca de brotos de samambaia, UFLA, Lavras - MG, 1997.

Causas de variação	GL	Quadrado Médio	R ²
Sacarose (S)	5	140983,9750**	
Nitrogênio (N)	4	96539,9744**	
S x N	20	16060,1922**	
Desdobramento de N dentro de 0 g/l de sacarose			
X	1	2708,0636*	0,0794
X ^{1,5}	1	25627,0000**	0,8310
X ³	1	5111,8516**	0,9809
Desvio	1	650,8133NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 7,5 g/l de sacarose			
X	1	14248,0000**	0,3910
X ^{1,5}	1	245093,0000**	0,7109
X ^{0,5}	1	103751,0000**	0,9953
Desvio	1	1701,4167NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 15 g/l de sacarose			
X	1	2214,5624*	0,0104
X ²	1	181160,0000**	0,8578
X ^{2,5}	1	20824,0000**	0,9508
Desvio	1	9580,9567**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 30 g/l de sacarose			
X	1	30233,0000**	0,3363
X ³	1	196622,0000**	0,5551
X ^{0,5}	1	38041,0000**	0,9783
Desvio	1	1951,0681NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 60 g/l de sacarose			
X	1	1899,7744NS	0,6983
X ²	1	395,0972NS	0,8435
X ³	1	371,3629NS	0,9801
Desvio	1	54,1335NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 120 g/l de sacarose			
X	1	543,3535NS	0,2606
X ²	1	800,2647NS	0,6444
X ³	1	718,6098NS	0,9891
Desvio	1	22,5675NS	1,0000
Resíduo	180	537,8622	
Média Geral		79,70	
C.V.		29,09	

NS, * e ** não significativo e significativo a 5 e 1% de probabilidade.

TABELA 6A. Quadrados médios da análise de variância e respectivos níveis de significância da variável peso de matéria fresca de raízes de samambaia, UFPA, Lavras - MG, 1997.

Causas de variação	GL	Quadrado Médio	R ²
Sacarose (S)	5	3649,6092**	
Nitrogênio (N)	4	2472,1102**	
S x N	20	2031,3659**	
Desdobramento de N dentro de 0 g/l de sacarose			
X	1	1680,2099**	0,2964
X ^{1,5}	1	709,2099**	0,4215
X ^{0,5}	1	2093,0528**	0,8000
Desvio	1	1186,8151**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 7,5 g/l de sacarose			
X	1	13688,0000**	0,5366
X ^{1,5}	1	6586,3527**	0,7948
X ^{0,5}	1	4966,2701**	0,9895
Desvio	1	266,8764**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 15 g/l de sacarose			
X	1	1693,4641**	0,4192
X ^{1,5}	1	56,9640NS	0,4333
X ^{0,5}	1	1401,5578**	0,7802
Desvio	1	887,9435**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 30 g/l de sacarose			
X	1	1,6933NS	0,0002
X ³	1	8096,6858**	0,9708
X ^{0,5}	1	243,2884**	0,9999
Desvio	1	0,0055NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 60 g/l de sacarose			
X	1	91,7717*	0,8489
X ²	1	1,5280NS	0,8630
X ³	1	0,1024NS	0,8640
Desvio	1	14,6966NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 120 g/l de sacarose			
X	1	521,7273**	0,2806
X ²	1	140,3004*	0,3561
X ³	1	950,5533**	0,8673
Desvio	1	246,6840**	1,0000
Resíduo	180	23,43367	
Média Geral		19,10	
C.V.		25,33	

NS, * e ** não significativo e significativo a 5 e 1% de probabilidade.

TABELA 7A. Quadrados médios da análise de variância e respectivos níveis de significância da variável número de raízes de samambaia, UFLA, Lavras - MG, 1997.

Causas de variação	GL	Quadrado Médio	R ²
Sacarose (S)	5	897,5276**	
Nitrogênio (N)	4	428,7309**	
S x N	20	142,3681**	
Desdobramento de N dentro de 0 g/l de sacarose			
X	1	403,2000**	0,5874
X ²	1	6,2644NS	0,5965
X ^{0,5}	1	261,6880**	0,9778
Desvio	1	15,2473NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 7,5 g/l de sacarose			
X	1	1168,5142**	0,6224
X ²	1	606,6111**	0,9455
X ³	1	31,9709*	0,9626
Desvio	1	70,1607**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 15 g/l de sacarose			
X	1	475,8035**	0,7215
X ²	1	139,9206**	0,9337
X ³	1	19,0678NS	0,9626
Desvio	1	24,6365**	1,0000
Desdobramento de N dentro de 30 g/l de sacarose			
X	1	122,2321**	0,1266
X ²	1	665,3502**	0,8159
X ³	1	165,4394**	0,9873
Desvio	1	12,2352NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 60 g/l de sacarose			
X	1	75,0892**	0,7292
X ²	1	6,7051NS	0,7943
X ³	1	11,7408NS	0,9083
Desvio	1	9,4362NS	1,0000
Desdobramento de N dentro de 120 g/l de sacarose			
X	1	28,2892*	0,1043
X ²	1	216,6129**	0,9037
X ³	1	12,9851NS	0,9517
Desvio	1	13,0840NS	1,0000
Resíduo	180	5,1888	
Média Geral		9,55	
C.V.		23,84	

NS, * e ** não significativo e significativo a 5 e 1% de probabilidade.

