



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CONSERVAÇÃO *IN VITRO* POR CRESCIMENTO LENTO DE MANGABEIRA DO
CERRADO (*Hancornia speciosa* Gomes)

DANYELA CRISTINA MARQUES PIRES

2017

DANYELA CRISTINA MARQUES PIRES

CONSERVAÇÃO *IN VITRO* POR CRESCIMENTO LENTO DE MANGABEIRA DO
CERRADO (*Hancornia speciosa* Gomes)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,
como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em
Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia,
para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz

Co-orientadora

Dra. Simone Abreu Asmar

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

P667c
2017 Pires, Danyela Cristina Marques, 1989
 Conservação in vitro por crescimento lento de mangabeira do
 Cerrado (*Hancornia speciosa* Gomes) / Danyela Cristina Marques Pires. -
 2017.
 56 p. : il.

 Orientador: José Magno Queiroz Luz.
 Coorientadora: Simone Abreu Asmar.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
 Programa de Pós-Graduação em Agronomia.
 Inclui bibliografia.

 1. Agronomia - Teses. 2. Mangabeira - Teses. 3. Tecidos vegetais -
 Cultura e meios de cultura - Teses. 4. Plantas - Propagação in vitro -
 Teses. I. Luz, José Magno Queiroz, 1967. II. Asmar, Simone Abreu. III.
 Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
 Agronomia. IV. Título.

CDU: 631

DANYELA CRISTINA MARQUES PIRES

CONSERVAÇÃO *IN VITRO* POR CRESCIMENTO LENTO DE MANGABEIRA DO
CERRADO (*Hancornia speciosa* Gomes)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,
como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em
Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia,
para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 26 de abril de 2017.

Dra. Simone Abreu Asmar
(co-orientadora)

UFU

Dra. Elequisandra da Costa Araruna

UFU

Dra. Muza do Carmo Vieira

UFG

Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz
ICIAG-UFU
(Orientador)

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por me dar saúde e determinação na busca de meus objetivos e jamais desistir.

Ao meu pai Sebastião, ao qual agradeço imensamente, pois sempre ressaltou a importância do estudo, auxiliando-me no que pude para que eu continuasse estudando.

Ao meu irmão, Flávio, e ao meu marido, William, que sacrificaram alguns finais de semana para me auxiliar.

À minha avó Maria, à Geiza e ao Murilo que me ajudaram a localizar as mangabeiras nativas que ainda existem na cidade de Uberlândia e em suas proximidades.

À Universidade Federal de Uberlândia, por ceder o espaço e os equipamentos necessários para a realização deste estudo.

Aos meus colegas do Laboratório de Biotecnologia – Sabrina, Mariana, Herick, Rayssa e Hernane – que me ajudaram na montagem e avaliação dos experimentos. Em especial, agradeço à Sabrina, que participou de quase todas as etapas do projeto e tornou os momentos de trabalho mais alegres.

Aos professores e técnicos da Universidade Federal de Uberlândia, assim como aos meus colegas da pós-graduação, pela troca de conhecimentos e momentos de descontração.

À Muza, que estava sempre disposta a ajudar e forneceu informações importantes sobre a mangabeira.

À Simone e ao professor José Magno, pela oportunidade de trabalho e pela orientação.

À CAPES, em parceria com a Embrapa Semiárido, e também à FAPEMIG, pelo suporte financeiro na condução do trabalho.

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para mais essa conquista.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 O Bioma Cerrado.....	3
2.2 A mangabeira.....	5
2.2.1 Ocorrência e aspectos botânicos.....	5
2.2.2 Importância.....	6
2.2.3 Variabilidade e erosão genética.....	7
2.2.4 Iniciativas para a conservação da mangabeira.....	9
2.3 Conservação <i>in vitro</i> por crescimento lento	10
2.4 Efeitos benéficos do carvão ativado no cultivo <i>in vitro</i> de plantas	12
2.5 Importância da relação auxina/citonina na indução do crescimento de plantas	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Estabelecimento <i>in vitro</i> de explantes de mangabeira	14
3.2 Conservação <i>in vitro</i> de segmentos nodais de mangabeira	16
3.2.1 Agentes osmóticos na conservação <i>in vitro</i> de segmentos nodais de mangabeira	16
3.2.2 Sacarose e ácido abscísico (ABA) na conservação <i>in vitro</i> de segmentos nodais de mangabeira.....	17
3.2.3 Meios de cultivo e temperaturas na conservação <i>in vitro</i> de segmentos nodais de mangabeira.....	17
3.3 Recuperação do crescimento de segmentos nodais de mangabeira conservados <i>in vitro</i>	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1 Conservação <i>in vitro</i> de segmentos nodais de mangabeira	19
4.1.1 Agentes osmóticos na conservação <i>in vitro</i> de segmentos nodais de mangabeira	19
4.1.2 Sacarose e ácido abscísico (ABA) na conservação <i>in vitro</i> de segmentos nodais de mangabeira.....	25

4.1.3 Meios de cultivo e temperaturas na conservação <i>in vitro</i> de segmentos nodais de mangabeira.....	31
4.2 Recuperação do crescimento de segmentos nodais de mangabeira conservados <i>in vitro</i>	35
4.2.1 Agentes osmóticos na recuperação do crescimento de segmentos nodais de mangabeira conservados <i>in vitro</i>	35
4.2.2 Sacarose e ácido abscísico (ABA) na recuperação do crescimento de segmentos nodais de mangabeira conservados <i>in vitro</i>	36
4.2.3 Meios de cultivo e temperaturas na recuperação do crescimento de segmentos nodais de mangabeira conservados <i>in vitro</i>	38
5 CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS	41
ANEXOS	55

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1. Médias da taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, na ausência de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	20
TABELA 2. Influência do agente osmótico na taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira, na ausência de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	20
TABELA 3. Médias da taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, na presença de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	22
TABELA 4. Influência do agente osmótico na taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira, na presença de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	22
TABELA 5. Influência do carvão ativado na taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	24
TABELA 6. Médias da taxa de sobrevivência (%) de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de sacarose, na presença e ausência de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	26
TABELA 7. Influência do carvão ativado na taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de sacarose e ABA, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	27
TABELA 8. Médias do número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de sacarose e ABA, na ausência de carvão ativado, aos 45 dias e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	29

TABELA 9. Médias do número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de sacarose e ABA, na presença de carvão ativado, aos 45 dias e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	30
TABELA 10. Médias da taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos à temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e diferentes meios de cultura, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	32
TABELA 11. Médias da taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos à temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e diferentes meios de cultura, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	32
TABELA 12. Influência da temperatura na taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a diferentes meios de cultura, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.	33
TABELA 13. Médias da taxa de sobrevivência (TS), número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados em meio suplementado com 2 g L^{-1} de carvão ativado e diferentes doses de manitol e sorbitol, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.	36
TABELA 14. Médias da taxa de sobrevivência (TS), número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados em meio suplementado com 2 g L^{-1} de carvão ativado e diferentes doses de sacarose e ABA, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.	37
TABELA 15. Médias da taxa de sobrevivência (TS), número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados com diferentes temperaturas e meios de cultura, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.	39

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> var. <i>gardneri</i>) nativa do Bioma Cerrado (Foto: Arquivo pessoal).....	14
FIGURA 2. Frutos de mangabeira (A). Lavagem (B) e secagem das sementes (C). Início do processo de germinação (D). Plantas de mangabeira obtidas com a germinação <i>in vitro</i> das sementes (E). Extração de segmentos nodais de mangabeira (F). (Foto: Arquivo pessoal).....	15
FIGURA 3. Taxa de sobrevivência de segmentos nodais de mangabeira em função da dose de sacarose, tempo de conservação <i>in vitro</i> e ausência de carvão ativado (A); e em função da concentração de sacarose e presença de carvão ativado (B). Uberlândia-MG, 2017.	26
FIGURA 4. Número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira em função da concentração de sacarose e do tempo de conservação <i>in vitro</i> , na ausência de carvão ativado. Uberlândia-MG, 2017.....	28
FIGURA 5. Número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira em função da dose de sacarose e ABA, aos 45 dias (A) e 90 dias (B) de conservação <i>in vitro</i> , na presença de carvão ativado. Uberlândia-MG, 2017.	30
FIGURA 6. Segmentos nodais de mangabeira conservados por 90 dias, à temperatura de 25°C (A) e 20°C (B), em meio MS 100%, MS 50%, WPM 100% e WPM 50%, respectivamente. Uberlândia-MG, 2017.....	34
FIGURA 7. Taxa de sobrevivência de segmentos nodais de mangabeira conservados <i>in vitro</i> em função da concentração de sacarose, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.....	38

RESUMO

PIRES, DANYELA CRISTINA MARQUES. **Conservação *in vitro* por crescimento lento de mangabeira do Cerrado (*Hancornia speciosa* Gomes).** 2017. 66p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. ¹

A mangabeira é uma fruteira importante para as regiões Nordeste e Centro-Oeste, pois garante o sustento e fornece alimento para milhares de famílias extrativistas. Entretanto, suas áreas naturais estão localizadas em algumas das regiões de maior antropização do país e, atualmente, a espécie está ameaçada de extinção, o que justifica a realização de estudos que possam resultar em estratégias para a sua conservação. O objetivo deste trabalho foi realizar a conservação *in vitro* de mangabeira pela técnica de crescimento lento. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia. Para o estabelecimento *in vitro*, sementes de mangabeira foram desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio 2,5% por 1 e 30 minutos, respectivamente, e enxaguadas com água destilada e autoclavada. Posteriormente, foram inoculadas em frascos de vidro, vedados por tampas plásticas, contendo 40 mL de meio MS suplementado com 2 g L⁻¹ de carvão ativado, 7 g L⁻¹ de ágar e pH a 5,7, sendo mantidos em temperatura de 25°C e fotoperíodo de 16 horas de luz, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20 W. Para a conservação *in vitro* foram realizados três experimentos nos quais os segmentos nodais foram extraídos das plantas germinadas *in vitro* e inoculados em meio MS, com 7 g L⁻¹ de ágar, diferindo da seguinte maneira: no primeiro testou-se o efeito de agentes osmóticos e doses (15, 20 e 25 g L⁻¹ de manitol e 10, 20 e 40 g L⁻¹ de sorbitol) mais uma testemunha (dose zero); no segundo, quatro concentrações de sacarose (0, 10, 20 e 30 g L⁻¹) e duas de ácido abscísico (0 e 0,5 mg L⁻¹); e no terceiro, quatro meios de cultura (MS 100%, MS 50%, WPM 100% e WPM 50%) e duas temperaturas (25 e 20°C). Além disto, os dois primeiros experimentos foram repetidos com adição de 2 g L⁻¹ de carvão ativado ao meio de conservação para comparar com os resultados obtidos em sua ausência. Aos 45 e 90 dias de conservação foram observadas a taxa de sobrevivência e o número de folhas verdes dos explantes. Para a recuperação do crescimento, os explantes foram transferidos para meio MS, contendo 7 g L⁻¹ de ágar, 1 mg L⁻¹ BAP, 1 mg L⁻¹ de ANA e 2 g L⁻¹ de carvão ativado. Aos 60 dias verificou-se a taxa de sobrevivência, número de folhas verdes, número de nós, comprimento da parte aérea e massa fresca dos segmentos nodais de mangabeira. Os resultados mostraram que o uso de 2 g L⁻¹ de carvão ativado melhora a sobrevivência e desenvolvimento dos explantes. Houve redução do crescimento, porém baixas taxas de sobrevivência, quando se utilizou: o manitol, na presença do carvão; 0,5 mg L⁻¹ de ABA, na ausência deste suplemento; e baixas concentrações de sacarose, independente do uso de carvão ativado. Explantes conservados em meio WPM com 50% da concentração de sais e temperatura de 20°C apresentam baixo metabolismo e respondem bem à etapa de recuperação do crescimento.

Palavras-chave: cultura de tecidos, agente osmótico, ácido abscísico, temperatura.

¹Comitê Orientador: José Magno Queiroz Luz – UFU (Orientador) e Simone Abreu Asmar – UFU.

ABSTRACT

PIRES, DANYELA CRISTINA MARQUES. ***In vitro* conservation by slow growth of Cerrado mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes).** 2017. 66p. Dissertation (Master Program Agronomy/Crop Science) – University of Uberlândia, Uberlândia.¹

The mangaba is an important fruit tree for the Northeast and Central West regions, because it ensures sustenance and provides food for thousands of extractive families. However its natural areas are located in some of the country's regions of the greatest anthropization and, currently, the species is threatened with extinction, what justifies the achievement of studies that can result in strategies for its conservation. The objective of this work was to accomplish the *in vitro* conservation of mangaba by the slow growth technique. The work was conducted at the Biotechnology Laboratory of the University of Uberlândia. For the *in vitro* establishment, mangaba seeds were disinfested with 70% alcohol and 2.5% sodium hypochlorite for 1 and 30 minutes, respectively, and rinsed with distilled and autoclaved water. Afterwards, they were inoculated in glass jars, sealed with plastic lids, containing 40 mL of MS medium supplemented with 2 g L⁻¹ of activated charcoal, 7 g L⁻¹ of agar and pH of 5.7, which were kept at a temperature of 25°C and photoperiod of 16 hours of light provided by 20 W white fluorescent light bulbs. For the *in vitro* conservation were made three experiments in which the nodal segments were extracted from plants germinated *in vitro* and inoculated in MS medium with 7 g L⁻¹ of agar, differing in the following way: the first one tested the effect of osmotic agents and doses (15, 20 and 25 g L⁻¹ of mannitol and 10, 20 and 40 g L⁻¹ of sorbitol) plus one control; the second one, four concentrations of sucrose (0, 10, 20 and 30 g L⁻¹) and two of abscisic acid (0 and 0.5 mg L⁻¹); and the third one, four culture media (100% MS, 50% MS, 100% WPM and 50% WPM) and two temperatures (25 and 20°C). Beyond that, the first two experiments were repeated with the addition of 2 g L⁻¹ of activated charcoal to the conservation medium to compare with the results obtained in its absence. At 45 and 90 days of conservation the survival rate and the number of green leaves of the explants were observed. For growth recovery, the explants were transferred to MS medium containing 7 g L⁻¹ of agar, 1 mg L⁻¹ of BAP, 1 mg L⁻¹ of NAA e 2 g L⁻¹ of activated charcoal. At 60 days were verified the survival rate, number of green leaves, number of nodes, shoot length and fresh mass of nodal segments of mangaba. The results showed that the use of 2 g L⁻¹ of activated charcoal improves the survival and development of the explants. There was a reduction in growth, but low survival rates, when was used: the mannitol in the presence of charcoal; 0.5 mg L⁻¹ of ABA, in the absence of this supplement; and low concentrations of sucrose, regardless of the use of activated charcoal. Explants conserved in 50% WPM medium and temperature of 20°C exhibit low metabolism and a good response to growth recovery stage.

Keywords: tissue culture, osmotic agent, abscisic acid, temperature.

¹Guidance Committee: José Magno Queiroz Luz – UFU (Major Professor) and Simone Abreu Asmar – UFU.

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil (BRASIL, 2015a) e é reconhecido como a savana mais rica do mundo (BRASIL, 2015b), porém a ocupação e a exploração desordenada de seus recursos vêm causando a extinção de espécies nativas, a perda da variabilidade genética e a degradação dos recursos naturais (SILVA JÚNIOR; LÉDO, 2006). Em virtude disso, há quase duas décadas, o Cerrado foi incluído na lista de *hotspots* da biodiversidade mundial (OLIVEIRA et al., 2008), por se tratar de uma área do planeta com elevado endemismo e sob forte ameaça de perdas ambientais irreparáveis (MYERS et al., 2000). Apesar dos esforços para reduzir o desmatamento, no ano de 2011 foi registrada uma perda de 997.063 km² de área do Cerrado, equivalente a 48,89% sobre a área total do bioma (BRASIL, 2015a).

Já foram identificadas cerca de 110 espécies de plantas com potencial econômico, que apresentam vários usos, como o alimentício, medicinal, madeireiro, ornamental e industrial (JUNQUEIRA et al., 2012), fazendo com que o Cerrado apresente grande importância social, ao permitir que muitas populações sobrevivam de seus recursos naturais (MMA, 2017). Porém, o destaque maior é para as espécies frutíferas, que dentre as quais as mais procuradas são: o pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), a mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), o araticum (*Annona crassiflora* Mart.) e a cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) (JUNQUEIRA et al., 2012). A procura por essas espécies ocorre em virtude do sabor característico dos frutos, que é atrativo às indústrias de sucos, polpas, sorvetes, picolés e geleias. Nessas indústrias, a demanda por novos sabores é crescente e há a possibilidade de conquistar o mercado externo por serem frutos exóticos com sabores e aromas desconhecidos em muitos países (SILVA et al., 2001).

No Brasil, a mangabeira ocorre em locais de vegetação aberta, principalmente nos biomas Cerrado, Caatinga e nas Restingas, mas também há registros de ocorrência na região Amazônica (LIMA; SCARIOT, 2010). É uma fruteira de grande importância para as regiões Nordeste e Centro-Oeste, pois garante o sustento e fornece alimento para milhares de famílias extrativistas. Entretanto, as áreas naturais da mangabeira estão localizadas em algumas das regiões de maior antropização do país, principalmente por causa da acentuada especulação imobiliária e da intensa exploração agropecuária, que têm transformado drasticamente a paisagem e extinguido os modos de vida tradicionais de populações (SILVA JÚNIOR et al., 2015).

Atualmente, a mangabeira se encontra na lista de espécies ameaçadas de extinção (SILVA et al., 2017) e em virtude de sua importância, o Ministério do Meio Ambiente, por meio do programa Plantas do Futuro, a incluiu entre as doze espécies frutíferas de altíssima prioridade para o Brasil (ALENCAR, 2007), incentivando a realização de estudos que podem resultar em estratégias de conservação desse recurso genético (SILVA et al., 2017).

A conservação de germoplasma de mangabeira em campo já é realizada por órgãos de pesquisas, mas a vulnerabilidade dos acessos nesse tipo de conservação é alta, principalmente devido à incidência de pragas, doenças e intempéries climáticas, o que ressalta a importância do desenvolvimento de técnicas complementares de conservação, a exemplo da conservação de germoplasma *in vitro* (LÉDO et al., 2011).

A técnica de conservação *in vitro* por crescimento lento permite a manutenção de material vegetal livre de patógenos, necessidade de menor espaço físico, disponibilidade de material para ser imediatamente propagado, redução dos custos financeiros, entre outros (DORION et al., 1991). Sua finalidade é reduzir o crescimento das plantas e aumentar os intervalos entre os subcultivos a partir de alterações físicas do ambiente (temperatura e luminosidade) e/ou química do meio de cultivo (retardadores de crescimento, componentes orgânicos e inorgânicos) (ENGELMANN, 2011). Diante disso, este estudo visa aperfeiçoar o protocolo de conservação de mangabeira *in vitro* pela técnica de crescimento lento e, assim, contribuir para a conservação da espécie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O Bioma Cerrado

O Cerrado ocupa cerca de 25% do território brasileiro e sua área incide sobre os estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Piauí, Rondônia, Paraná, São Paulo, Distrito Federal e pequenas porções do Amapá, Roraima e Amazonas (BRASIL, 2015a). Além de sua expressiva relevância territorial, esse bioma apresenta características socioeconômicas, biofísicas e ecossistêmicas únicas que lhe conferem importância estratégica para o País (BRASIL, 2015b).

O seu clima predominante é o tropical sazonal, de inverno seco, a temperatura média anual é de 22 a 23°C e a pluviosidade média anual fica entre 1200 e 1800 mm, sendo que os índices pluviométricos mensais reduzem-se bastante nos meses de maio a setembro e a umidade relativa do ar permanece entre 10 e 30%, podendo ocorrer secas prolongadas (BRASIL, 2009).

Abriga cerca de 250 espécies de mamíferos e mais de 800 espécies da avifauna, sendo considerados endêmicos 28% dos anfíbios, 17 % dos répteis, 3,4% das aves e 9,5% dos mamíferos. Ademais, apresenta uma flora com mais de 12.000 espécies, das quais 40% são endêmicas (BRASIL, 2015b). Entretanto, apesar da sua grande diversidade biológica, vegetal e mineral, o Cerrado vem sendo explorado de forma intensa e predatória (JESUS, 2016).

A maioria das suas espécies é comercializada com base no extrativismo, sendo raros os cultivos comerciais. O extrativismo é mais intenso em plantas frutíferas e muitas vezes praticado de forma não sustentável, pois o extrativista dá preferência por frutos de melhor qualidade, o que provoca forte erosão genética e contribui para a seleção de material inferior na natureza. Além disso, acredita-se que a presença do homem próximo às pequenas unidades de conservação, coletando frutos e sementes, acaba por afastar os animais que contribuem para a dispersão, polinização e germinação das sementes, interferindo na regeneração natural dessas espécies (JUNQUEIRA et al., 2012).

Nos últimos 40 anos, esse bioma foi submetido a um intenso processo de alteração de suas características físico-naturais, para dar lugar, principalmente, a atividades agropecuárias (MENDES et al., 2016). Esse processo foi amparado pelo Estado, pelos

veículos de comunicação e por cientistas que denegriam a imagem do Cerrado por meio da descaracterização da sua vegetação, referindo-se a ela como monótona, rasteira e ressequida, pouco arborizada e de galhos tortuosos (PELÁ; MENDONÇA, 2010).

Mendes et al. (2016) analisaram sete livros de geografia, do ano de 2012, para verificar como eles descreviam o Cerrado e chegaram à conclusão de que é preciso mudar o quanto antes as formas como os livros didáticos retratam esse bioma, pois ao invés de apresentá-lo apenas como ambiente de produção agropecuária, eles deveriam despertar nos estudantes o desejo de conhecer e conservar o pouco que resta do Cerrado ao abordar aspectos da cultura, como culinária, lendas e danças; de turismo, ressaltando as belezas das paisagens; da população, como os calungas e indígenas e os povos que migraram para essa região; como também contemplar os conflitos enfrentados pelos povos devido à desapropriação das pequenas propriedades e à incorporação delas às grandes áreas produtoras de *commodities*.

A visão negativa do Cerrado provoca sérias ameaças à sua manutenção, por isso as pessoas devem repensar suas atitudes, visando à preservação e conservação desse bioma (JESUS, 2016). Um dos desafios críticos para o desenvolvimento nacional é planejar o uso desse território ampliando a produção agropecuária, por meio do aumento de produtividade e da integração de sistemas sustentáveis, como a integração lavoura-pecuária-floresta, reduzindo a pressão pela conversão de novas áreas naturais e conservando a biodiversidade (BRASIL, 2015b).

Em virtude das grandes modificações ambientais já ocorridas e da ameaça às numerosas espécies, renovou-se o interesse dos governos, das ONGs, da academia e do setor privado na busca da conservação do Cerrado, particularmente pelo fortalecimento e ampliação do sistema de áreas protegidas e da criação de parcerias com o setor produtivo (KLINK; MACHADO, 2005). Entretanto, de todos os *hotspots* mundiais, o Cerrado é o que possui a menor porcentagem de áreas sobre proteção integral (MMA, 2017), apenas 8,6% de sua área é protegida por unidades de conservação federais, estaduais e municipais e, aproximadamente, 3,1% são protegidas na forma de unidades de conservação de proteção integral, a exemplo dos parques nacionais (BRASIL, 2015a).

2.2 A mangabeira

2.2.1 Ocorrência e aspectos botânicos

A mangabeira pertence ao Reino *Plantae*, Divisão *Magnoliophyta*, Classe *Magnoliopsida*, Ordem *Gentianales*, Família *Apocynaceae*, Gênero *Hancornia* e Espécie *Hancornia speciosa* Gomes (CRONQUIST, 1988). É conhecida popularmente de diversas formas, dentre elas mangaíba, mangareíba, mangava, mangaúva, fruta-de-doente, catu, tembiú (MONACHINO, 1945) e mangaba, palavra de origem tupi-guarani que significa “coisa boa de comer” (FERREIRA; MARINHO, 2007).

Essa espécie vegeta de forma espontânea nas regiões tropicais da América do Sul. No Brasil, ela ocorre no Centro-Oeste, Sudeste, Norte e, em maior quantidade, nos Tabuleiros Costeiros e Baixadas Litorâneas do Nordeste (FERREIRA, 1973). A mangabeira incide também em países vizinhos, como Paraguai, Bolívia, Peru e Venezuela (LEDERMAN et al., 2000).

É uma árvore de porte médio que pode atingir de 2 a 10 metros de altura (LIMA; SCARIOT, 2010). A copa da árvore pode chegar até 25 m, é ampla, espalhada e irregular. O tronco é tortuoso, bastante ramificado e áspero (SANO; FONSECA, 2003). Suas folhas são simples, alternas e opostas, pilosas ou glabras, curto-pecioladas, de forma e tamanho variados. As flores são hermafroditas, tubulares e de coloração branca. A inflorescência é do tipo dicásio ou cimeira terminal com uma a sete flores (ALMEIDA et al., 1998). Os frutos são do tipo baga com tamanho, formato e cores variadas (AGUIAR FILHO et al., 1998) e são aromáticos, delicados, de sabor agradável, apresentado polpa branca e fibrosa (LORENZI, 2002). As sementes são achatadas, discóides e com hilo central (FAO, 1986). Toda a planta exsuda látex, conhecido como “leite de mangaba”, que apresenta efeitos medicinais, assim como a casca, as folhas e as raízes (LIMA; SCARIOT, 2010).

Apesar das flores da mangabeira serem hermafroditas, há uma autoincompatibilidade entre as suas estruturas de reprodução, o que a torna obrigatoriamente dependente de polinizadores (DARRAULT; SCHLINDWEIN, 2003), sendo portanto uma planta alógama (DIAS; MARANHÃO, 1994).

Os frutos apresentam bom valor nutricional, pois em sua composição são encontradas as vitaminas A, B₁, B₂ e C, além de proteína, ferro, fósforo e cálcio (SOARES et al., 2006). Possuem mais vitamina C que a laranja e é uma das frutas mais ricas em ferro e proteína (LIMA; SCARIOT, 2010).

As sementes não são longevas e apresentam comportamento recalcitrante (OLIVEIRA; VALIO, 1992), por isso não podem ser secas e devem ser semeadas imediatamente (PEREIRA et al., 2006). Além disso, há ocorrência de sementes poliembriônicas que desenvolvem de duas a três plântulas por semente, as quais apresentam desenvolvimento uniforme (SALOMÃO; ALLEM, 2001).

A mangabeira é uma árvore decídua ou semidecídua, trocando de folhagem durante o período mais seco do ano. No ápice dos ramos surgem brotações contendo flores e folhas novas (AGUIAR FILHO et al., 1998). A floração e frutificação são irregulares, mas normalmente a coleta de frutos ocorre de outubro a janeiro, no norte de Minas Gerais; de dezembro a abril (safra de verão) e de maio a julho (safra de inverno), em Sergipe; e de novembro a abril, na Bahia. Cada fruto pesa cerca de 20 gramas, podendo ser produzidos mais de 800 frutos por mangabeira por ano (LIMA; SCARIOT, 2010).

As condições ideais para o desenvolvimento da espécie são temperatura média de 25°C, altitude de até 1.500 m e precipitação pluvial de 750 a 1.600 mm anuais, porém a mangabeira tolera bem os períodos de seca e é comum seu desenvolvimento espontâneo em solos com baixo teor de matéria orgânica, acidez elevada e baixa disponibilidade de nutrientes (FERREIRA; MARINHO, 2007).

2.2.3 Importância

Apesar da possibilidade de aproveitamento total da mangabeira, ela ainda é pouco utilizada. O seu leite pode servir como medicamento contra a tuberculose e no tratamento de úlceras. Do tronco e das folhas se retira o látex, muito explorado para a fabricação de borracha durante a Segunda Guerra Mundial. A madeira apesar de não ter grande valor econômico, pode ser usada como lenha e na fabricação de móveis (FERREIRA; MARINHO, 2007). Ademais, a espécie também pode ser utilizada para fins ornamentais (JUNQUEIRA et al., 2012).

Os frutos da mangabeira são muito apreciados no mercado, tanto para serem consumidos *in natura* quanto processados. O processamento da fruta resulta em vários produtos, como polpas, geleias, sorvetes, sucos, doces, bolos, biscoitos e licores. No Nordeste, a mangaba é uma das frutas mais requisitadas na indústria de frutas nativas da região e é utilizada, principalmente, na produção de sucos, polpas congeladas e sorvetes (LIMA; SCARIOT, 2010).

Em 2015, foram produzidas 663 t de mangaba no Brasil, sendo que cerca de 99% desse valor corresponde à produção do Nordeste, principal região produtora da fruta, com participação dos estados de Sergipe (219 t), Rio Grande do Norte (176 t), Paraíba (136 t), Bahia (83 t), Alagoas (34 t), Ceará (7 t) e Maranhão (2 t). O restante da produção corresponde às regiões Centro-Oeste e Sudeste, com participação dos estados de Goiás (5 t) e Minas Gerais (1 t) (IBGE, 2017).

O padrão natural de distribuição e a ocorrência agregada das mangabeiras facilitam o extrativismo, por isso muitas populações locais praticam a exploração comercial e sustentada de frutos. Entretanto, essa atividade está limitada pelas grandes distâncias entre os locais de coleta de frutos e os centros urbanos de comercialização e pela delicadeza do fruto que apresenta casca muito fina e pouco resistente ao manuseio e ao transporte e que amolece rapidamente após maturação (PEREIRA et al., 2006). Apesar disso, existem poucos plantios comerciais de mangabeira, o que indica que quase a totalidade da produção é proveniente de plantas remanescentes tipicamente exploradas por comunidades extrativistas (LEDERMAN; BEZERRA, 2006).

Em Sergipe, maior estado produtor de mangaba, estima-se que existam 1.776 famílias que coletam frutos da mangabeira, o que envolve cerca de 5.328 pessoas que conseguem nessa atividade sua maior fonte de renda (COELHO, 2016a). Então, devido à sua importância para milhares de mulheres em diversas comunidades e também como forma de proteção, a mangabeira foi decretada árvore símbolo do estado de Sergipe em 20 de Janeiro de 1992, por meio do decreto nº 12.723 (CONAB, 2015).

2.2.4 Variabilidade e erosão genética

O gênero *Hancornia* é considerado monotípico e por isso sua única espécie é *Hancornia speciosa*, porém são aceitas seis variedades botânicas: *H. speciosa* var. *speciosa* Gomes ou *H. speciosa* Gomes (variedade típica), *H. speciosa* var. *maximiliani* A. DC., *H. speciosa* var. *cuyabensis* Malme, *H. speciosa* var. *lundii* A. DC., *H. speciosa* var. *gardineri* (A.DC.) Muell. Arg. e *H. speciosa* var. *pubescens* (Nees. Et Martius) Muell. Arg (MONACHINO, 1945).

As variedades de mangabeira podem ser diferenciadas pelo tamanho do pecíolo e limbo foliar, como no caso da variedade *maximiliani*, que apresenta pecíolo com cerca de 8 mm e limbo com 5 a 6 cm de comprimento e 2 a 2,5 cm de largura, como também por meio de características específicas: a variedade *cuyabensis* apresenta cálice glabro

externamente e corola grande e glabra externamente; a variedade *lundii* possui pedicelos pubescentes e cálice cerdoso-pubescente na parte inferior da nervura central; a variedade *gardneri* possui frutos maiores, de coloração verde predominante, folhas glabras e está presente em todo o estado de Goiás; a variedade *pubescens* apresenta ramos densamente pubescentes, corola maior com lóbulos cerdosos pubescentes, tubo pubescente externamente e limbo pubescente na parte inferior; e a variedade *speciosa* ou variedade típica apresenta folhas glabras, é encontrada na divisa entre a Bahia, Piauí e Maranhão (MONACHINO, 1945) e, segundo Rizzo e Ferreira (1990), também ocorre na Costa Atlântica do Brasil e difere bastante das demais quanto ao porte e aspecto geral, apresentando ramos finos e pendentes, folhas miúdas e frutos menores com manchas avermelhadas, quando maduros.

Apesar de sua ampla distribuição por quase todo o Cerrado e Semiárido, a mangabeira vem sofrendo elevadas agressões antrópicas e enfrentando uma drástica redução em suas populações nativas (LEDERMAN, 2000; ALENCAR, 2007). Na região Nordeste, o avanço da cultura canavieira, a devastação de áreas para implantação de coqueirais e, principalmente, a instalação de loteamentos imobiliários em Sergipe ameaçam a conservação da mangabeira. Apesar de ser a árvore símbolo do estado, as áreas de ocorrência dessa espécie sofrem sérias ameaças à sua sobrevivência, em virtude do alto índice de desmatamento das áreas de restinga. Além disso, o fruto está cada vez mais escasso por causa da crescente dificuldade de acesso às mangabeiras, em decorrência da expansão imobiliária e de problemas fundiários (CONAB, 2015).

Estudos realizados pela Embrapa Tabuleiros Costeiros, para a criação do mapa de extrativismo da mangaba em Sergipe, mostram que, em 2010, o cenário já era preocupante devido a diversas áreas de conflito e restrição de acesso às mangabeiras pelos proprietários, além de uma forte especulação imobiliária. Porém, no período de 2010 a 2016, houve uma redução de áreas naturais de ocorrência de mangabeiras de 10.456 hectares, o que corresponde a 29,6% do total (COELHO, 2016a). Um dos exemplos mais graves é Pernambuco, pois o estado já perdeu 90% das áreas originais de mangaba, mas a situação também é crítica em Alagoas e Paraíba (ALENCAR, 2007).

Diante da crescente demanda por frutos de mangabeira e da gradual diminuição da oferta, fica evidente a necessidade de estabelecer políticas voltadas para o fortalecimento da cadeia produtiva da mangaba e, devido à diminuição das áreas disponíveis para a livre coleta, fazer a implementação de políticas específicas que busquem a inclusão daqueles que não possuem áreas próprias para a produção. Assim, a criação de unidades de

conservação com uso controlado dos recursos naturais pode viabilizar a manutenção dessa prática tradicional, além de permitir a conservação e o estudo do patrimônio genético (VIEIRA NETO et al., 2009).

2.2.5 Iniciativas para a conservação da mangabeira

A Embrapa Tabuleiros Costeiros realiza pesquisas que visam à caracterização, conservação e utilização de uma ampla variedade de recursos genéticos da mangabeira (SÁ, 2009). Em 2006, implementou o Banco Ativo de Germoplasma da Mangaba, o qual foi credenciado em 2015 pelo Ministério do Meio Ambiente como fiel depositário do patrimônio genético da espécie, adquirindo status de referência nacional para receber amostras de mangabeiras e garantir a conservação *ex situ* (fora do local de origem) do patrimônio genético da espécie. Como a mangabeira vem apresentando intensa erosão genética, a conservação no banco permite que genes de importância não sejam perdidos (COELHO, 2016b), além de manter o material genético disponível para uso imediato ou futuro (SANTOS; BETTENCOURT, 2002).

Além disso, a Embrapa Tabuleiros Costeiros é responsável pela conservação *in situ* (no local de origem e ocorrência da planta) de uma área natural de mangabeira de cerca de 4,5 hectares, localizada na Reserva do Caju (COELHO, 2016b). Ademais, a Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA mantém na Estação Experimental de Porto de Galinhas uma reserva de aproximadamente 1,3 hectares (SILVA JÚNIOR et al., 1999).

Existem outras coleções de mangabeiras na Embrapa Cerrados (Planaltina-DF), na Embrapa Amapá (Macapá-AP) e na Embrapa Meio-Norte (Teresina-PI) e outras em universidades e organizações estaduais de pesquisa agropecuária (COELHO, 2016b). Na Universidade Federal de Alagoas, as mangabeiras são conservadas *ex situ* (ESPÍNDOLA et al., 1992), assim como nos bancos de germoplasma da Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba – Emepa-PB (BARREIRO NETO, 2003) e da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (VIEIRA, 2014).

Apesar de haver coleções de mangabeira conservadas em campo, a vulnerabilidade dos acessos nesse tipo de coleção é grande, pois as plantas ficam expostas ao ataque de pragas e patógenos, a intempéries climáticas ou ao vandalismo, podendo ser perdidas também por causa de falhas de identificação ou erros humanos (WITHERS; WILLIAMS, 1998). Por isso, é necessário estabelecer métodos complementares de conservação para evitar a perda de germoplasma de interesse (SÁ, 2009).

O uso das técnicas de cultura de tecidos pode permitir a conservação de germoplasma de mangabeira *in vitro* (SÁ, 2009), sendo uma técnica atraente por motivos econômicos e práticos (WITHERS; WILLIAMS, 1998) e também de extrema importância para espécies ameaçadas de extinção, cuja conservação por sementes não é possível (HOYT, 1992), como no caso da mangabeira, que apresenta sementes recalcitrantes e por isso não suportam temperatura e umidade baixas (SÁ, 2009).

Existem pesquisas recentes que visam à conservação *in vitro* da mangabeira por meio das técnicas de criopreservação (NOGUEIRA, 2010; PRUDENTE, 2014; SANTOS, 2013; SARTOR, 2011) e crescimento lento (SÁ et al., 2011; SANTOS et al., 2011). Na primeira, a conservação é feita por longos períodos e em temperaturas ultrabaixas que proporcionam uma redução drástica do metabolismo celular, mantendo intacto o material biológico conservado (ENGELMANN, 2004). E na segunda, a conservação ocorre a curto e médio prazo, por meio da redução do crescimento e do aumento dos intervalos entre os subcultivos, sem afetar a viabilidade dos explantes (ENGELMANN, 2011).

2.2 Conservação *in vitro* por crescimento lento

As principais estratégias para limitar o crescimento das plantas *in vitro* são a redução da temperatura e da intensidade luminosa, redução nas concentrações de sais do meio de cultura e adição de retardantes de crescimento (MOOSIKAPALA; TE-CHATO, 2010). Atualmente, os testes mais comuns realizados em trabalhos sobre conservação de germoplasma *in vitro* por crescimento lento estão relacionados à redução da temperatura da sala de crescimento; adição de diferentes concentrações de ácido abscísico (ABA) ao meio de cultura; e/ou adição de agentes osmóticos, sendo os mais utilizados o manitol, o sorbitol e a sacarose.

A temperatura exerce grande influência em todas as atividades fisiológicas das plantas, por controlar as taxas das reações metabólicas nas células (BROWSE; XIN, 2001). Temperaturas baixas causam uma diminuição da velocidade de reações químicas vitais das plantas, além de tornar as biomembranas mais rígidas, sendo necessária maior quantidade de energia para ativar processos bioquímicos (LARCHER, 2006). Para espécies de clima tropical, é comum o uso de temperaturas entre 15 e 25°C, quando o objetivo é reduzir o crescimento das plantas cultivadas *in vitro* (WITHERS, 1991).

O ABA é utilizado como retardante de crescimento, pois controla o início e a manutenção da dormência em sementes e gemas. Além disso, em respostas ao estresse

hídrico, ele induz o fechamento estomático para reduzir a perda de água por transpiração, o que limita a assimilação de carbono e, conseqüentemente, a produção de biomassa (TAIZ; ZEIGER, 2004). Em virtude de sua associação com a dormência e com a abscisão é sempre identificado como inibidor, porém causa efeitos fisiológicos variados e tem ações tanto de inibição quanto promotoras do desenvolvimento vegetal (BARRUETO CID, 2000).

Os agentes osmóticos, tais como a sacarose, o manitol e o sorbitol, quando utilizados em altas concentrações, reduzem o potencial hídrico do meio de cultura e, conseqüentemente, inibem a absorção de água e nutrientes pelo explante (COSTA et al., 2012). Assim, eles agem externamente, removendo o excesso da água intracelular, por gradiente osmótico, fazendo com que o crescimento das plantas ocorra de forma mais lenta (DUMET et al., 1993). O manitol e o sorbitol são açúcares alcoólicos (KADOTA, 2001) de difícil metabolização, sendo considerados mais efetivos do que a sacarose em relação à redução de crescimento (ROCA et al., 1991; WITHERS; WILLIAMS, 1998).

O sucesso da tecnologia de crescimento lento requer o desenvolvimento de protocolos específicos para cada tipo de espécie, acessos e explantes (WATT et al., 2004). Vários trabalhos visam estabelecer protocolos de conservação *in vitro* por crescimento lento para diversas espécies de importância ornamental (COSTA et al., 2012; MENEZES, 2014; PEDROSO et al., 2010; SANTOS, 2014), medicinal (ALVES et al., 2010; CAMILLO et al., 2009) e alimentícia, a exemplo do abacaxi (CANTO et al., 2004), banana (OLIVEIRA et al., 2000), batata (FORTES; PEREIRA, 2001), cana-de-açúcar (LEMO et al., 2002; NOGUEIRA, 2013), citros (CARVALHO et al., 2016), coco (LÉDO et al., 2007a; MACHADO, 2012), jenipapo (LÉDO et al., 2013a, 2013b), mandioca (BARRUETO CID; CARVALHO, 2008; MACIA, 2011), maracujá (FARIA et al., 2006) e outras.

Pesquisas sobre a mangabeira mostram que o uso de 0,5 mg L⁻¹ de ABA possibilita a conservação *in vitro* de microestacas de mangabeira pelo período de 90 dias, em frascos vedados com papel alumínio (SÁ et al., 2011), e de segmentos nodais por 120 dias, em tubos de ensaio também vedados com papel alumínio (SANTOS, 2010). O uso de manitol nas concentrações de 10, 15 e 20 g L⁻¹ não é viável para a conservação *in vitro* de microestacas, pois apresenta efeito tóxico sobre estas (SÁ et al., 2011), porém para plântulas de mangabeira germinadas *in vitro*, as doses de 15 e 20 g L⁻¹ favorecem a conservação por 180 dias. A adição de 10 ou 20 g L⁻¹ de sorbitol ao meio de cultura na ausência de sacarose, permite a conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira

por 120 dias. Na fase de retomada de crescimento, apresentam maior viabilidade, segmentos nodais mantidos na presença de 0,5 mg L⁻¹ de ABA durante a conservação, ou mantidos na ausência de sacarose ou presença de 10 g L⁻¹ de sorbitol (SANTOS, 2010).

2.4 Efeitos benéficos do carvão ativado no cultivo *in vitro* de plantas

O carvão ativado é obtido por meio da carbonização controlada da madeira em vapor ou ar e é finamente moído para aumentar a área de adsorção das partículas (ARDITTI; ERNST, 1993; GEORGE, 1993). Assim, ele tem a capacidade de captar gases ou solutos presentes na sua superfície, removendo os hidrocarbonetos do sistema; absorver fenóis e fitorreguladores em excesso nos explantes conservados *in vitro*; adsorver substâncias inibitórias do meio e substâncias tóxicas liberadas pelos explantes, evitando a oxidação destes e promovendo o crescimento. Dessa maneira, o carvão ativado beneficia o desenvolvimento de plantas *in vitro* e pode ser utilizado com sucesso em diversas culturas (PASQUAL et al., 2001a).

Além dos benefícios citados acima, o carvão ativado presente no meio de cultura simula a condição de escuro, pois reduz a incidência de luz na zona de crescimento ativa do sistema radicular e assim permite que as raízes das plantas cultivadas *in vitro* se desenvolvam melhor (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Alguns trabalhos sugerem que o carvão ativado adsorve rapidamente algumas substâncias do meio de cultura e, em seguida, as libera gradualmente para o substrato, suprimindo de maneira uniforme a demanda das plantas, durante todo o período de cultivo (THOMAS, 2008).

A importância do uso desse suplemento no cultivo *in vitro* de plantas é verificada em trabalhos com diversas espécies, principalmente espécies lenhosas a exemplo de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides*) (MOURA et al., 2012), angico (*Anadenanthera colubrina*) (NEPOMUCENO et al., 2009), acácia-negra (*Acacia mearnsii*) (DISARZ et al., 2009), barueiro (*Dipteryx alata*) (SILVA et al., 2016) e mangabeira (LÉDO et al., 2007b).

2.5 Importância da relação auxina/citonina na indução do crescimento de plantas

O padrão de desenvolvimento das plantas *in vitro* é determinado pela composição e concentração hormonal do meio de cultivo (CALDAS et al., 1998). A razão auxina/citocinina no meio de cultura determina a diferenciação em raiz ou gema de tecidos

vegetais cultivados, sendo que altas taxas promovem a formação de raízes e baixas taxas, a formação de gemas. Esses reguladores de crescimento regulam o ciclo vegetal e são necessários para promover a divisão celular nas plantas. As citocininas iniciam a proliferação celular em muitas células quando cultivadas em meio de cultura que contenha uma auxina. (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Ao estudar o grupo de citocininas e auxinas isoladamente, verifica-se que o primeiro regula a divisão celular, a morfogênese da parte aérea e das raízes, a maturação de cloroplastos, o alongamento celular e a senescência (TAIZ; ZEIGER, 2004), sendo as fontes mais utilizadas a cinetina (CIN), 6-benzilaminopurina (BAP), zeatina (ZEA), isopenteniladenina (2ip) e thidiazuron (TDZ) (CALDAS et al., 1998). Enquanto que o grupo das auxinas regula o crescimento de caules jovens e coleóptilos e participa da regulação da dominância apical, iniciação de raízes laterais, abscisão foliar, diferenciação vascular, formação de gemas florais e desenvolvimento do fruto (TAIZ; ZEIGER, 2004), e como fontes mais utilizadas tem-se o ácido 3-indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB), ácido naftalenoacético (ANA) e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (CALDAS et al., 1998).

Várias pesquisas utilizam esses reguladores de crescimento no cultivo *in vitro* de mangabeira, como Soares et al. (2011), os quais verificaram que o meio WPM suplementado com 2 mg L⁻¹ de BAP induz maior número de brotações, gemas e folhas por explante quando comparados ao uso de 2 mg L⁻¹ de CIN ou TDZ. Ao testar o meio MS com concentrações entre 0 e 2,5 mg L⁻¹ de BAP combinadas com 0,5 mg L⁻¹ de AIA, Bastos et al. (2007) observaram que a dose de 2 mg L⁻¹ de BAP associada a essa auxina proporciona maior número de brotações adventícias em segmentos internodais de mangabeira. Para verificar o comportamento *in vitro* de diferentes variedades dessa espécie, Vieira (2014) testou o meio MS, com 50% da concentração de sais, suplementado com 1 g L⁻¹ de carvão ativado e diferentes concentrações de BAP associadas a 0,5 mg L⁻¹ de ANA, e constatou que os explantes caulinares das variedades *cuyabensis*, *pubescens* e *gardneri* apresentam maior comprimento da parte aérea com o uso de 1 ; 1,5 e 2,5 mg L⁻¹ de BAP, respectivamente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Estabelecimento *in vitro* de explantes de mangabeira

Durante o mês de outubro de 2015, os frutos foram coletados sob a copa de mangabeiras nativas localizadas nas margens da rodovia que liga Uberlândia a Campo Florido (MG) e que, posteriormente, foram identificadas como mangabeiras da variedade *gardneri* (Figura 1).



FIGURA 1. Mangabeira (*Hancornia speciosa* var. *gardneri*) nativa do Bioma Cerrado (Foto: Arquivo pessoal).

As sementes foram extraídas dos frutos e maceradas em peneira, sob fluxo de água corrente, para a retirada do excesso de polpa. No Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia, as sementes foram desinfestadas com álcool 70% por 1 minuto, seguido de hipoclorito de sódio a 2,5% por 30 minutos. Em câmara de fluxo

laminar, esses explantes foram enxaguados cinco vezes com água destilada e autoclavada, e inoculados em frascos de vidro transparente, vedados por tampas plásticas, contendo 40 mL de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com 2 g L⁻¹ de carvão ativado, 7 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,7, que foram previamente autoclavados a uma temperatura de 121°C por 20 minutos (Figura 2).

Os frascos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20 W. Após 120 dias, as plantas obtidas foram utilizadas para a extração de segmentos nodais de aproximadamente 1 cm de comprimento, que foram utilizados como explantes na etapa de conservação *in vitro* (Figura 2).

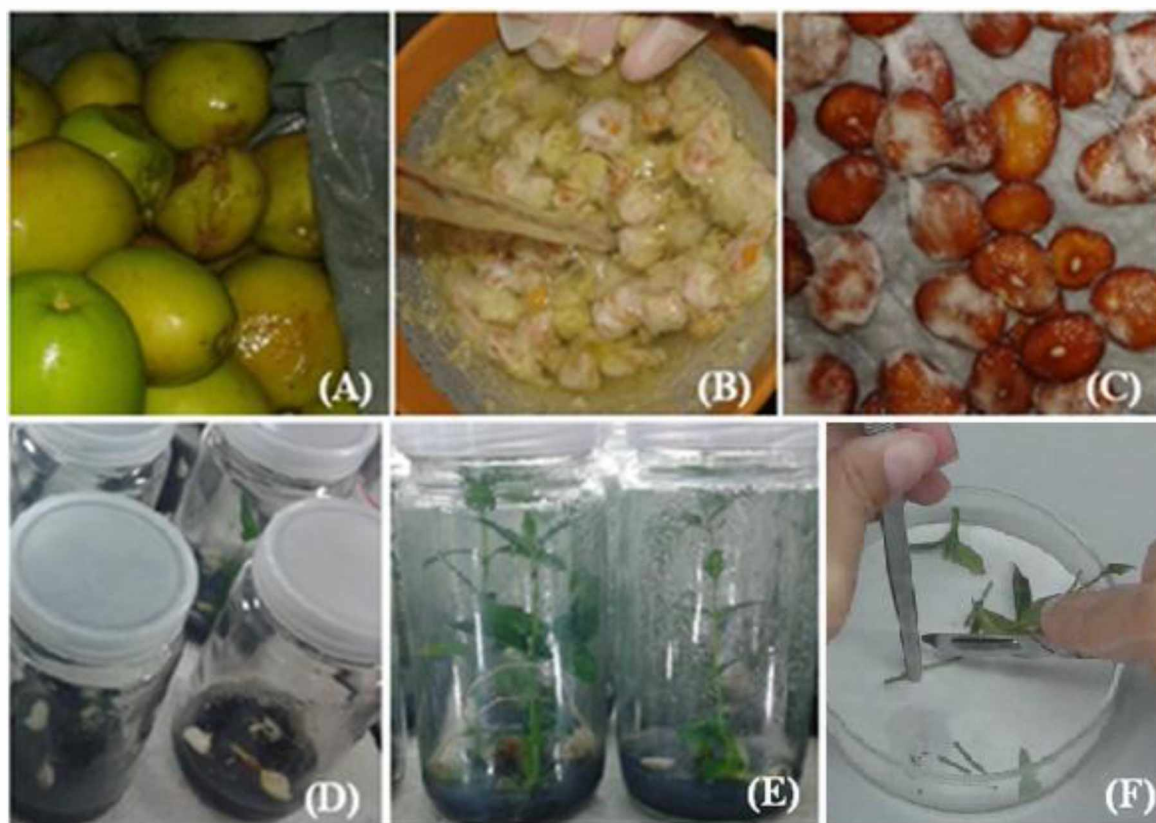


FIGURA 2. Frutos de mangabeira (A). Lavagem (B) e secagem das sementes (C). Início do processo de germinação (D). Plantas de mangabeira obtidas com a germinação *in vitro* das sementes (E). Extração de segmentos nodais de mangabeira (F). (Foto: Arquivo pessoal).

3.2 Conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira

Foram realizados três experimentos para testar a metodologia de conservação *in vitro* por crescimento lento da mangabeira. Para isso, em câmara de fluxo laminar, os segmentos nodais advindos do estabelecimento prévio *in vitro* foram inoculados em frascos de vidro transparente, vedados por tampas plásticas, contendo 40 mL de meio MS suplementado com 7 g L⁻¹ de ágar e variando de acordo com os diferentes tratamentos propostos pelos experimentos. O pH do meio foi ajustado para 5,7 e os frascos foram autoclavados à temperatura de 121 °C por 20 minutos, um dia antes da inoculação.

As avaliações foram feitas aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*, observando a taxa de sobrevivência e o número de folhas verdes dos segmentos nodais de mangabeira. Em seguida, os dados foram testados quanto às pressuposições de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, a 1% de probabilidade, utilizando o software estatístico SPSS (IBM, 2013).

3.2.1 Agentes osmóticos na conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira

O experimento foi realizado em esquema de parcelas subdivididas no tempo 7 x 2, sendo o fator da parcela sete tratamentos arranjados em modelo hierárquico e o fator da subparcela dois tempos. Os tratamentos foram constituídos pela combinação de agentes osmóticos e doses (15, 20 e 25 g L⁻¹ de manitol e 10, 20 e 40 g L⁻¹ de sorbitol), com um tratamento adicional correspondente à dose zero desses agentes osmóticos (testemunha) e as avaliações foram feitas aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições, cada repetição com cinco frascos e cada frasco com um explante.

Após a inoculação dos segmentos nodais de mangabeira, os frascos foram mantidos em sala de crescimento à temperatura de 25 ± 2°C e fotoperíodo de 16 horas de luz, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20 W.

Posteriormente, o experimento foi repetido com adição de 2 g L⁻¹ de carvão ativado ao meio de conservação para comparar com os resultados obtidos em sua ausência.

Após as avaliações e os testes de pressuposições, as variáveis foram submetidas à análise de variância com o auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2014), as médias qualitativas comparadas pelo teste de Tukey e quantitativas por meio de curvas de

regressão polinomial. Para comparação entre os tratamentos e a testemunha (tratamento adicional), realizou-se o teste de Dunnett no software estatístico Assistat (SILVA; AZEVEDO, 2016). Para verificar os efeitos do carvão ativado no meio de conservação, os experimentos foram comparados em análise conjunta por meio do programa GENES (CRUZ, 2013). Os testes foram realizados a 5% de probabilidade.

3.2.2 Sacarose e ácido abscísico (ABA) na conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira

O experimento foi realizado em esquema de parcelas subdivididas no tempo 8×2 , sendo o fator da parcela um fatorial 4×2 , quatro concentrações de sacarose (0, 10, 20 e 30 g L^{-1}) e duas de ABA (0 e $0,5 \text{ mg L}^{-1}$), e o fator da subparcela dois tempos (45 e 90 dias). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições, cada repetição com cinco frascos e cada frasco com um explante.

Os frascos foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas de luz, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20 W.

Posteriormente, o experimento foi repetido e foram adicionados 2 g L^{-1} de carvão ativado ao meio de conservação para comparar com os resultados obtidos em sua ausência.

Após as avaliações e os testes de pressuposições, as variáveis foram submetidas à análise de variância com o auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2014), as médias qualitativas comparadas pelo teste de Tukey e quantitativas por meio de curvas de regressão polinomial. E, para verificar os efeitos do carvão ativado no meio de conservação, os experimentos foram comparados em análise conjunta por meio do programa GENES (CRUZ, 2013). Os testes foram realizados a 5% de probabilidade.

3.2.3 Meios de cultivo e temperaturas na conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira

Para testar diferentes temperaturas foi necessário fazer dois experimentos. Um em sala de crescimento para testar a temperatura de $25^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ e outro em câmara de crescimento para a temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Os experimentos consistiram em quatro tratamentos formados pelos meios MS (MURASHIG; SKOOG, 1962) e WPM (LLOYD; MCCOWN, 1980) com 100 e 50% da concentração de sais, com cinco repetições e quatro frascos por repetição, em delineamento inteiramente casualizado e parcelas subdivididas

no tempo (45 e 90 dias). Os frascos foram mantidos em condições de fotoperíodo de 16 horas de luz, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20 W.

Após as avaliações e os testes de pressuposições, as variáveis foram submetidas à análise de variância com o auxílio do programa SISVAR e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Para verificar os efeitos da temperatura, os experimentos foram comparados em análise conjunta por meio do programa GENES (CRUZ, 2013). Os testes foram realizados a 5% de probabilidade.

3.3 Recuperação do crescimento de segmentos nodais de mangabeira conservados *in vitro*

Após 90 dias de conservação *in vitro*, os explantes foram transferidos para frascos contendo 40 mL de meio MS suplementado com 7 g L⁻¹ de ágar, 1 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP), 1 mg L⁻¹ de ácido naftalenoacético (ANA), 2 g L⁻¹ de carvão ativado e pH ajustado para 5,7, que foram previamente autoclavados à temperatura de 121°C por 20 minutos e, após inoculação, mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de 25 ± 2°C e fotoperíodo de 16 horas de luz, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20 W.

A avaliação ocorreu aos 60 dias, observando a taxa de sobrevivência, número de folhas verdes, número de nós, comprimento da parte aérea e massa fresca dos segmentos nodais de mangabeira. As análises estatísticas ocorreram de forma semelhante à etapa de conservação *in vitro*.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira

4.1.1 Agentes osmóticos na conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira

Na análise individual do experimento, na ausência de carvão ativado, verificou-se que as doses de agentes osmóticos estudadas não influenciaram as características avaliadas e também não houve diferenças entre a testemunha e os demais tratamentos. Entretanto, ocorreu efeito significativo do agente osmótico para a taxa de sobrevivência e também número de folhas verdes, aos 45 dias de conservação *in vitro*. Além disso, houve efeito significativo do tempo para as duas características avaliadas (Anexo A).

Após a avaliação das características percebeu-se que os segmentos nodais de mangabeira já estavam passando por um processo de senescência aos 90 dias de conservação *in vitro*, pois ocorreu uma redução média de 43,81% na taxa de sobrevivência e de 0,72 no número de folhas verdes (Tabela 1). Ao comparar o efeito dos agentes osmóticos, verificou-se que quando significativo, o manitol proporcionou menor número de folhas verdes, mas também reduziu a taxa de sobrevivência dos segmentos nodais de mangabeira, quando comparado ao sorbitol, independente do tempo de conservação *in vitro* (Tabela 2).

TABELA 1. Médias da taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, na ausência de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Fonte	Dose (g L ⁻¹)	Taxa de Sobrevivência (%)		Número de Folhas Verdes	
		45	90	45	90
Testemunha	0*	40,00	0,00	0,53	0,00
Manitol	15	53,33	0,00	0,40	0,00
	20	46,67	6,67	0,93	0,27
	25	20,00	0,00	0,20	0,00
	40	20,00	0,00	0,20	0,00
Sorbitol	10	66,67	26,67	1,53	1,00
	20	73,33	13,33	1,93	0,27
	40	73,33	20,00	1,40	0,33
Média		53,33a	9,52b	0,99a	0,27b
W; F _{Lev.}		0,965; 2,622		0,961; 2,634	
CV ₁ ; CV ₂ (%)		71,83; 57,48		32,64; 20,29	
Transformação		$\arcsin \sqrt{x/100}$		$\sqrt{x + 0,5}$	

Médias seguidas por letras distintas, na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; *: Diferente pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade; W e F_{Lev.}: Estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, respectivamente, a 1% de probabilidade.

TABELA 2. Influência do agente osmótico na taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira, na ausência de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Agente Osmótico	Taxa de Sobrevivência (%)		Número de Folhas Verdes	
	Tempo (dias)		Tempo (dias)	
	45	90	45	90
Manitol	40,00B	2,22B	0,51B	0,75A
Sorbitol	71,11A	20,00A	1,62A	0,97A

Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nesses resultados verifica-se que, na ausência de carvão ativado, apesar do manitol ter favorecido a redução do desenvolvimento dos segmentos nodais de mangabeira, ao ser comparado ao sorbitol, esses agentes osmóticos, independente da dose utilizada, não diferiram da testemunha, não favorecendo a redução do metabolismo dos explantes de mangabeira. Portanto, nessas condições, esses agentes osmóticos não são viáveis para a conservação *in vitro* por crescimento lento da espécie.

O manitol e o sorbitol são açúcares alcoóis que geralmente não são metabolizados pelas plantas e por isso são utilizados na redução do potencial hídrico do meio de cultura (GEORGE, 1993), interferindo na absorção de água e nutrientes pelas plantas e,

consequentemente, no seu desenvolvimento. Entretanto, os resultados são dependentes de vários fatores como a concentração do agente osmótico, a composição do meio de cultura, o tipo de explante, a espécie em estudo e outros. Léo et al. (2013b) relataram que as doses de 0 a 20 g L⁻¹ de manitol adicionados ao meio MS, suplementado com 4,5 g L⁻¹ de Phytigel®, não são eficientes na conservação *in vitro* de plântulas de jenipapeiro, pois não promovem a desaceleração do crescimento.

Em relação ao experimento, na presença de carvão ativado, as doses testadas de agentes osmóticos também não influenciaram as características avaliadas. Entretanto houve efeito significativo do agente osmótico e do tempo para a taxa de sobrevivência e da interação tratamento x tempo para o número de folhas verdes, tendo sido influenciado também pelo uso de agente osmótico aos 45 dias, além de haver diferenças significativas entre a testemunha e os demais tratamentos para esta característica (Anexo B).

Assim, quando se utilizou o meio suplementado com 2 g L⁻¹ de carvão ativado, a taxa de sobrevivência dos explantes de mangabeira também foi inferior aos 90 dias de conservação *in vitro*, apresentando uma queda de 32,38% em relação ao menor tempo de avaliação. O manitol, independente da dose, resultou em segmentos nodais com menor número de folhas verdes quando comparado à testemunha, apresentando valores estatisticamente iguais aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. As doses de sorbitol, por sua vez, não apresentaram diferenças em relação à testemunha, com exceção de 10 g L⁻¹ que favoreceu o desenvolvimento de explantes com menor número de folhas verdes aos 90 dias de conservação *in vitro*. No entanto, nesta dose, ocorreu maior senescência foliar com o avanço do tempo (Tabela 3).

TABELA 3. Médias da taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, na presença de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Agente Osmótico	Dose (g L ⁻¹)	Taxa de Sobrevivência (%)		Número de Folhas Verdes	
		Tempo (dias)		Tempo (dias)	
		45	90	45	90
Testemunha	0*	80,00	40,00	3,07a	2,40a
Manitol	15	26,67	0,00	0,13a*	0,00a*
	20	53,33	26,67	0,67a*	0,53a*
	25	46,67	20,00	0,73a*	0,27a*
Sorbitol	10	86,67	33,33	2,13a	0,13b*
	20	60,00	33,33	2,87a	0,93b
	40	80,00	53,33	1,87a	1,60a
Média		61,90a	29,52b	1,64	0,84
W; F _{Lev.}		0,948; 2,383		0,972; 2,611	
CV(%)		57,68; 26,15		24,31; 11,76	
Transformação		-		$\sqrt{x + 0,5}$	

Médias seguidas por letras distintas, na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; *: Diferente pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade; W e F_{lev.}: Estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, respectivamente, a 1% de probabilidade.

Ao comparar o efeito dos dois agentes osmóticos, na presença de carvão ativado, verificou-se que, quando significativo, os resultados foram semelhantes aos obtidos na ausência de carvão, sendo a taxa de sobrevivência dos explantes maior com a adição de sorbitol ao meio de cultura, mas segmentos nodais com menor número de folhas verdes foram favorecidos com o uso de manitol (Tabela 4).

TABELA 4. Influência do agente osmótico na taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira, na presença de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Agente Osmótico	Taxa de Sobrevivência (%)		Número de Folhas Verdes	
	Tempo (dias)		Tempo (dias)	
	45	90	45	90
Manitol	42,22B	15,55B	0,51B	0,27A
Sorbitol	75,55A	40,00A	2,29A	0,89A

Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na conservação *in vitro* por crescimento lento tem-se como objetivo encontrar uma metodologia que permita que as plantas tenham um crescimento reduzido e altas taxas de

sobrevivência. Na presença de carvão ativado, o uso de manitol permitiu que os segmentos nodais de mangabeira mantivessem o mesmo número de folhas verdes com o passar do tempo, ou seja, o metabolismo dos explantes foi reduzido. Entretanto, as taxas de sobrevivência foram muito baixas e, independente do uso ou não dos agentes osmóticos, os explantes já estavam em processo de senescência aos 90 dias de conservação *in vitro*, o que demonstra que os tratamentos testados não são eficientes para esse propósito.

De modo semelhante, o manitol foi melhor que o sorbitol na redução do desenvolvimento da parte aérea de plântulas de *Macrosyphonia velame* (MARTINS et al., 2011). Lédo et al. (2007a) verificaram que o manitol não apresenta efeitos positivos na conservação *in vitro* de coqueiro, pois apesar de promover um menor crescimento das plântulas, causa menor percentagem de sobrevivência.

Ao contrário dos resultados obtidos, Santos et al. (2011), em trabalho sobre a conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira, encontraram diferenças significativas entre as doses de 10, 20 e 40 g L⁻¹ de sorbitol, ao utilizarem um meio suplementado com 1 mg L⁻¹ de ácido 3-indolacético (AIA) e 1 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP), que são reguladores de crescimento da classe das auxinas e citocininas, respectivamente. Os autores concluíram que o uso de 10 ou 20 g L⁻¹ desse agente osmótico, sem adição de sacarose ao meio de cultura, possibilita a conservação dos explantes de mangabeira por 120 dias. Além disso, Sá et al. (2011) também utilizaram um meio de conservação suplementado com esses reguladores de crescimento e tiveram um efeito significativo ao testar as doses de 0, 10, 15 e 20 g L⁻¹ de manitol, que favoreceram a formação de microestacas de mangabeira mais curtas, porém apresentaram efeitos deletérios aos 90 dias de conservação *in vitro*.

As auxinas são substâncias que controlam o crescimento e o alongamento celular e as citocininas estimulam a divisão celular e reduzem a dominância apical, sendo que o balanço entre esses dois tipos de reguladores controla muitos aspectos da diferenciação celular e organogênese nas culturas de tecidos (PASQUAL, 2001b). Os trabalhos citados acima encontraram diferenças significativas entre as doses de agentes osmóticos provavelmente por terem utilizado um meio de cultura suplementado com estes reguladores de crescimento, que induziram o desenvolvimento dos explantes e os tornaram mais suscetíveis à ação dos agentes osmóticos. Pode-se inferir também que por causa da falta desses reguladores no meio de conservação utilizado neste trabalho, os segmentos nodais de mangabeira tiveram menor estímulo ao desenvolvimento e por isso já se encontravam em processo de senescência aos 90 dias de conservação *in vitro*.

Ao avaliar os experimentos de forma conjunta verificou-se um efeito significativo da interação tratamento x carvão ativado para o número de folhas verdes e efeito isolado deste produto para a taxa de sobrevivência (Anexo C). Apesar disso, não houve diferenças significativas da taxa de sobrevivência entre as doses de carvão ativado. O uso de 40 g L⁻¹ de sorbitol, na presença de carvão, favoreceu o maior desenvolvimento de folhas verdes aos 90 dias, assim como a testemunha, independente do tempo de conservação *in vitro* (Tabela 5).

TABELA 5. Influência do carvão ativado na taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

			Taxa de Sobrevivência (%)		Número de Folhas Verdes	
Tempo (dias)	Agente Osmótico	Dose (g L ⁻¹)	Carvão (g L ⁻¹)		Carvão (g L ⁻¹)	
			0	2	0	2
45	Testemunha	0	40,00	80,00	0,53b	3,07a
		15	53,33	26,67	0,40a	0,13a
	Manitol	20	46,67	53,33	0,93a	0,67a
		25	20,00	46,67	0,20a	0,73a
	Sorbitol	10	66,67	86,67	1,53a	2,13a
		20	73,33	60,00	1,93a	2,87a
		40	73,33	80,00	1,40a	1,87a
90	Testemunha	0	0,00	40,00	0,00b	2,40a
		15	0,00	0,00	0,00a	0,00a
	Manitol	20	6,67	26,67	0,27a	0,53a
		25	0,00	20,00	0,00a	0,27a
	Sorbitol	10	26,67	33,33	1,00a	0,13a
		20	13,33	33,33	0,27a	0,93a
		40	20,00	53,33	0,33b	1,60a
Média		31,43a	45,71a	0,63	1,24	

Médias seguidas por letras distintas, na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O carvão ativado tem a capacidade de modificar o meio de cultura ao adsorver substâncias tóxicas, nutrientes, vitaminas e reguladores de crescimento e, assim, em algumas circunstâncias, melhorar ou regular o crescimento de plantas cultivadas *in vitro* (ARDITTI; ERNST, 1993; GEORGE, 1993). Pesquisas realizadas com mangabeira (LÉDO et al., 2007b) e barueiro (SILVA et al., 2016) mostraram que a adição de carvão ativado ao meio de cultura proporciona melhor desenvolvimento da parte aérea das plântulas.

4.1.2 Sacarose e ácido abscísico (ABA) na conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira

As análises individuais dos experimentos mostraram que ao utilizar o meio de conservação sem carvão ativado, houve efeito significativo para a interação dupla, sacarose x tempo, para todas as variáveis estudadas, e também da interação ABA x tempo, que influenciou o número de folhas verdes. Porém, quando se utilizou o meio de conservação suplementado com 2 g L⁻¹ de carvão ativado, verificou-se um efeito significativo da ação isolada da sacarose e do tempo para taxa de sobrevivência e interação tripla entre esses fatores para número de folhas verdes. Na análise conjunta dos experimentos, verificou-se efeito significativo da interação tratamento x carvão ativado para a taxa de sobrevivência e efeito isolado do carvão para número de folhas verdes (Anexo D).

A taxa de sobrevivência, na presença de carvão ativado, foi menor aos 90 dias, assim como na ausência desse produto, exceto para os explantes mantidos em meio sem sacarose, que registraram taxa de sobrevivência nula já aos 45 dias de conservação *in vitro* (Tabela 6). Entretanto, o aumento das concentrações de sacarose, na ausência de carvão, influenciou um comportamento linear crescente da taxa de sobrevivência dos explantes, sendo que a cada 1 g L⁻¹ de sacarose adicionado ao meio de cultura, houve um aumento na taxa de sobrevivência de 1,57 e 2,90%, aos 45 e 90 dias, respectivamente. E, na presença do carvão, houve um comportamento quadrático registrando uma taxa de sobrevivência máxima de 75,67%, na dose de 20,2 g L⁻¹ de sacarose (Figura 3).

TABELA 6. Médias da taxa de sobrevivência (%) de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de sacarose, na presença e ausência de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Sacarose (g L ⁻¹)	Carvão ativado (g L ⁻¹)			
	0		2	
	Tempo (dias)		Tempo (dias)	
	45	90	45	90
0	0,00a	0,00a	26,67	0,00
10	26,67a	10,00b	83,33	66,67
20	76,67a	16,67b	73,33	50,00
30	80,00a	50,00b	80,00	53,33
Média	45,83	19,17	65,83a	42,50b
W; F _{Lev}	0,936 ; 4,261		0,962 ; 2,356	
CV ₁ ; CV ₂ (%)	60,24; 30,77		52,76; 25,00	

Médias seguidas por letras distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; W e F_{lev}: Estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, respectivamente, a 1% de probabilidade.

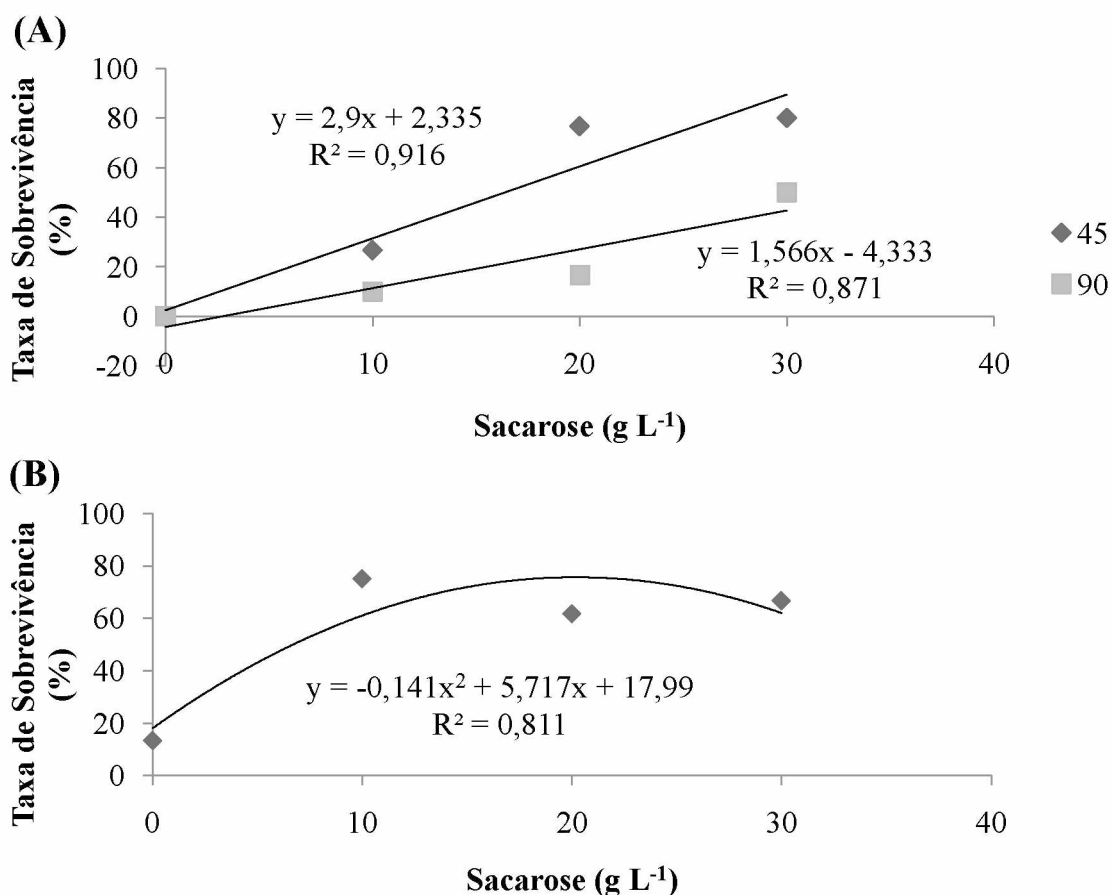


FIGURA 3. Taxa de sobrevivência de segmentos nodais de mangabeira em função da dose de sacarose, tempo de conservação *in vitro* e ausência de carvão ativado (A); e em função da concentração de sacarose e presença de carvão ativado (B). Uberlândia-MG, 2017.

Segundo Faria et al. (2006), a presença de sacarose no meio de cultura é fundamental para manter o desenvolvimento de explantes de maracujazeiro. Isso porque os carboidratos são extremamente importantes para os vegetais, pois além de fornecerem energia para o processo respiratório e esqueletos de carbono para a síntese de biomoléculas, também constituem um importante componente estrutural do organismo das plantas (MAJEROWICZ, 2004).

Ao comparar os dois experimentos, verifica-se que a adição de carvão ativado ao meio de conservação proporcionou maior taxa de sobrevivência dos explantes aos 45 dias, quando foram mantidos em meio sem sacarose e com 10 g L⁻¹ desse carboidrato, e aos 90 dias, nas doses intermediárias de sacarose, sem registrar diferenças nos demais tratamentos. Com relação ao número de folhas verdes, tem-se que esse aspecto não foi influenciado pelo uso do carvão ativado (Tabela 7). Acredita-se que esses resultados estão relacionados, principalmente, ao fato do carvão ativado ser capaz de adsorver substâncias tóxicas e reguladores de crescimento presentes no meio de cultura.

TABELA 7. Influência do carvão ativado na taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de sacarose e ABA, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Tempo (dias)	Sacarose (g L ⁻¹)	ABA (mg L ⁻¹)	Taxa de Sobrevivência (%)		Número de Folhas Verdes	
			Carvão (g L ⁻¹)		Carvão (g L ⁻¹)	
			0	2	0	2
45	0	0	0,00a	20,00a	0,00	0,20
		0,5	0,00b	33,33a	0,00	0,00
	10	0	26,67b	73,33a	0,60	0,87
		0,5	26,67b	93,33a	0,07	3,13
	20	0	73,33a	73,33a	2,27	2,53
		0,5	80,00a	73,33a	0,73	2,67
	30	0	86,67a	73,33a	3,07	3,07
		0,5	73,33a	86,67a	1,87	3,13
	0	0	0,00a	0,00a	0,00	0,00
		0,5	0,00a	0,00a	0,00	0,00
90	10	0	0,00b	60,00a	0,00	1,33
		0,5	20,00b	73,33a	0,13	3,47
	20	0	20,00 b	53,33a	0,67	1,87
		0,5	13,33b	46,67a	0,20	3,20
	30	0	53,33a	53,33a	1,53	3,67
		0,5	46,67a	53,33a	1,67	2,07
	Média		32,50	54,17	0,80a	1,95a

Médias seguidas por letras distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O desenvolvimento do número de folhas verdes, na ausência de carvão ativado, foi maior conforme o aumento das concentrações de sacarose no meio de cultura, crescendo a taxas maiores aos 45 dias de conservação *in vitro* (Figura 4). Nas doses de 20 e 30 g L⁻¹ de sacarose, os explantes registraram maior senescência foliar com o avanço do tempo, ao contrário das menores doses que apresentaram o mesmo número de folhas verdes aos 45 e 90 dias (Tabela 8).

A adição de ABA ao meio de cultura, sem carvão ativado, proporcionou menor desenvolvimento dos segmentos nodais, já que o número de folhas verdes registrado nos dois tempos de avaliação foi igual estatisticamente. Ao contrário do que ocorreu na ausência desse regulador, em que os explantes apresentaram menor número de folhas verdes aos 90 dias de conservação *in vitro* (Tabela 8).

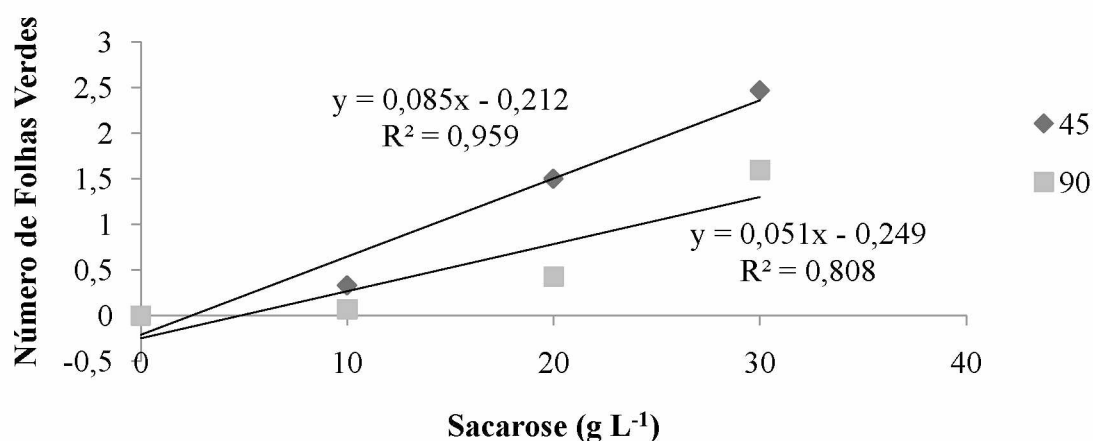


FIGURA 4. Número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira em função da concentração de sacarose e do tempo de conservação *in vitro*, na ausência de carvão ativado. Uberlândia-MG, 2017.

TABELA 8. Médias do número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de sacarose e ABA, na ausência de carvão ativado, aos 45 dias e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Sacarose (g L ⁻¹)	Tempo (dias)	
	45	90
0	0,00a	0,00a
10	0,33a	0,07a
20	1,50a	0,43b
30	2,47a	1,60b
ABA (mg L ⁻¹)		
0	1,48aA	0,55bA
0,5	0,67aB	0,50aA
W; F _{Lev}	0,929; 4.870	
CV ₁ ; CV ₂ (%)	91,8; 53,03	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; W e F_{lev.}: Estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, respectivamente, a 1% de probabilidade.

A presença de ABA no meio de cultura também favoreceu a redução do desenvolvimento da parte aérea de segmentos nodais de mangabeira (SANTOS, 2010) e de plântulas de jenipapeiro (LÉDO et al., 2013a), sendo viável o seu uso na conservação *in vitro* dessas espécies. Um dos efeitos mais comuns causados pelo ABA é a inibição do crescimento vegetativo, que é provocada pelo transporte desse hormônio para as gemas, onde provoca a dormência (STACCIARINI-SERAPHIN, 2004).

Quando foi avaliado o número de folhas verdes, na presença de carvão ativado, verificou-se que, na ausência de ABA e independente do tempo de avaliação, o número de folhas verdes apresentou um comportamento linear crescente, ou seja, quanto maior a concentração de sacarose no meio, maior o desenvolvimento de folhas. Já na presença de ABA, essa variável apresentou uma curva de regressão quadrática com um máximo de 3,37 folhas, na dose de 21,70 g L⁻¹ de sacarose; e no maior tempo de avaliação o máximo foi de 3,70 folhas, na dose de 17,58 g L⁻¹ de sacarose (Figura 5). Apesar disso, não foram encontradas diferenças significativas entre a ausência e presença de ABA no meio de conservação contendo de 0 a 20 g L⁻¹ de sacarose, porém na dose de 30 g L⁻¹ verificou-se maior senescência foliar em explantes conservados com ABA (Tabela 9).

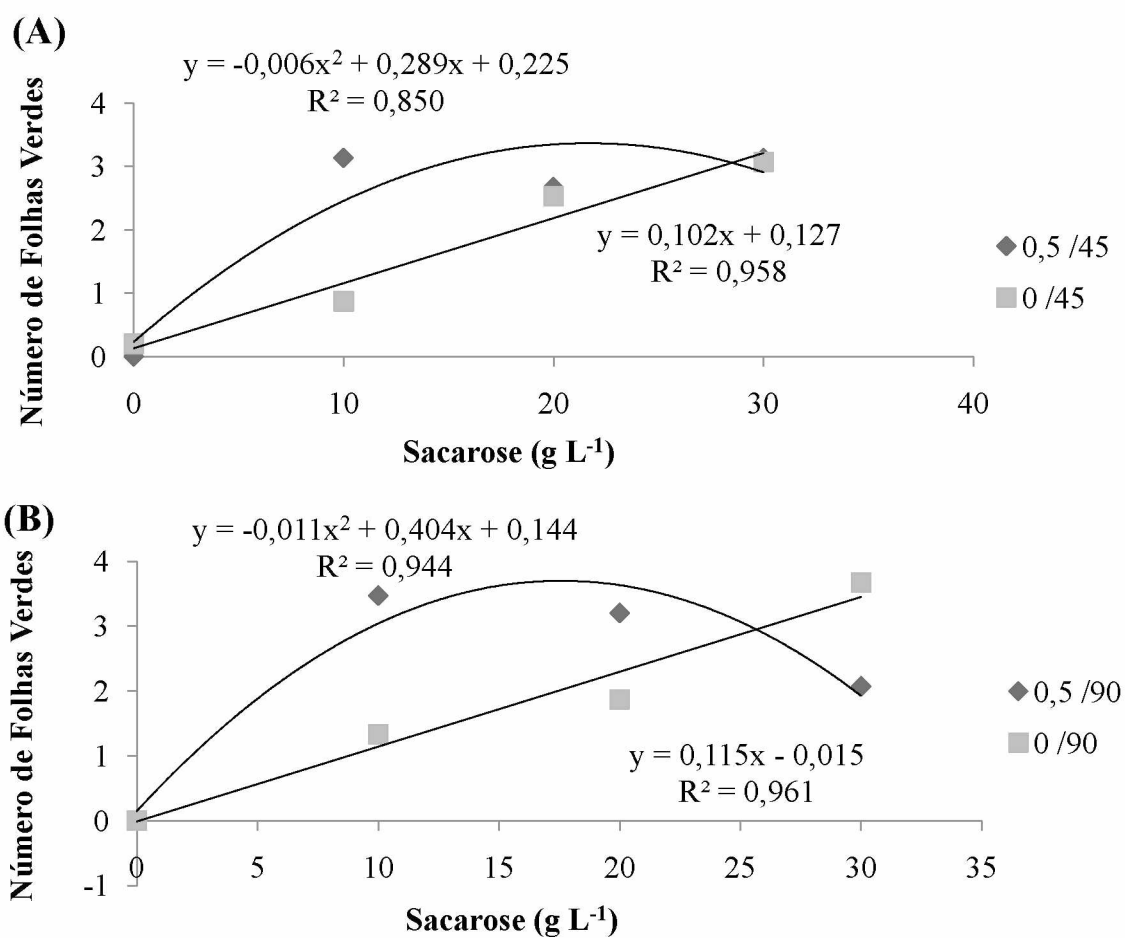


FIGURA 5. Número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira em função da dose de sacarose e ABA, aos 45 dias (A) e 90 dias (B) de conservação *in vitro*, na presença de carvão ativado. Uberlândia-MG, 2017.

TABELA 9. Médias do número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de sacarose e ABA, na presença de carvão ativado, aos 45 dias e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Sacarose (g L ⁻¹)	ABA (mg L ⁻¹)	Tempo (dias)	
		45	90
0	0	0,20aA	0,00 aA
	0,5	0,00 aA	0,00 aA
10	0	0,87 aA	1,33 aA
	0,5	3,13 aA	3,47 aA
20	0	2,53 aA	1,87 aA
	0,5	2,67 aA	3,20 aA
30	0	3,07 aA	3,67 aA
	0,5	3,13 aA	2,07bA
W; F _{Lev.}		0,909; 5,011	
CV ₁ ; CV ₂ (%)		98,06; 29,31	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; W e F_{Lev.}: Estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, respectivamente, a 1% de probabilidade.

O aumento das concentrações de sacarose também proporcionou maior desenvolvimento da parte aérea de segmentos nodais de mangabeira conservados em meio com reguladores de crescimento (SANTOS et al., 2011) e de embriões de pinhão-manso (NUNES et al., 2008). Esses resultados mostram que o aumento da disponibilidade de sacarose no meio de cultura favorece o aumento do metabolismo dos explantes e, consequentemente, o seu desenvolvimento.

Ao contrário desses resultados, Léo et al. (2007a) verificaram que as concentrações de 40 a 80 g L⁻¹ de sacarose reduzem o crescimento da parte aérea de plântulas de coqueiro. Isso porque altas concentrações de carboidratos no meio de cultura elevam o potencial osmótico, o que reduz a absorção de água e nutrientes pela planta, prejudicando o seu crescimento (FRÁGUAS et al., 2003).

De acordo com Carvalho et al. (2012), o carvão ativado é capaz de adsorver reguladores de crescimento no meio de cultura, então é possível inferir que neste trabalho ocorreu a adsorção do ABA exógeno, inibindo o seu efeito retardante no desenvolvimento dos explantes. Além disso, Chagas et al. (2005) observaram que são necessárias maiores concentrações de ácido giberélico, em meio de cultura com carvão ativado, para apresentar efeitos sobre explantes de citros. Dessa forma, pode-se inferir também que na concentração de 30 g L⁻¹ de sacarose, em virtude da maior quantidade de componentes no meio, a adsorção de ABA pode ter sido menor, refletindo no desenvolvimento dos explantes com o decorrer do tempo.

4.1.3 Meios de cultivo e temperaturas na conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira

Houve efeito significativo da interação meio de cultura x tempo para número de folhas verdes e efeito isolado do tempo para taxa de sobrevivência, independente da temperatura utilizada (Anexo E).

A taxa de sobrevivência apresentou uma redução de 22,50% com o avanço do tempo de conservação *in vitro*, nas duas temperaturas testadas. A 25°C, o meio WPM e o MS, ambos com a metade da concentração de sais, foram os que proporcionaram o menor desenvolvimento da parte aérea de segmentos nodais de mangabeira, sem apresentarem senescência foliar com o avanço do tempo (Tabela 10). Da mesma maneira, o uso dos meios MS 100% e WPM 50%, na temperatura de 20°C, resultou em menor metabolismo dos explantes (Tabela 11).

TABELA 10. Médias da taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e diferentes meios de cultura, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Meio de cultura	Taxa de sobrevivência (%)		Número de folhas verdes	
	Tempo (dias)		Tempo (dias)	
	45	90	45	90
MS 100%	76,00	43,00	2,48aA	1,58abB
MS 50%	55,00	45,00	1,08aA	1,32abA
WPM 100%	82,00	65,00	2,46aA	2,82aA
WPM 50%	80,00	50,00	1,04aA	1,06bA
Média	73,25A	50,75B	1,76	1,69
W, F_{Lev}	0,961; 0,543		0,945; 0,752	
CV ₁ ; CV ₂ (%)	34,80; 25,60		69,59; 25,55	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; W e F_{Lev} : Estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, respectivamente, a 1% de probabilidade.

TABELA 11. Médias da taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e diferentes meios de cultura, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Meio de cultura	Taxa de sobrevivência (%)		Número de folhas verdes	
	Tempo (dias)		Tempo (dias)	
	45	90	45	90
MS 100%	96,00	68,00	1,06aA	1,06bA
MS 50%	80,00	50,00	2,20aA	1,20abB
WPM 100%	87,00	70,00	2,54aA	3,16aA
WPM 50%	90,00	75,00	1,76aA	2,56abA
Média	88,25A	65,75B	1,89	1,99
W, F_{Lev}	0,957; 0,956		0,948; 1,524	
CV ₁ ; CV ₂ (%)	27,55; 15,33		74,17; 34,06	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; W e F_{Lev} : Estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, respectivamente, a 1% de probabilidade.

Camillo et al. (2009) obtiveram o crescimento mínimo de algodão-do-campo (*Cochlospermum regium*) quando os explantes foram submetidos à temperatura de 20°C e meio WPM 50%. Almeida (2013), ao testar diferentes concentrações de meio MS, verificou que 100 e 50% da sua concentração de sais associados com 30 g L^{-1} de sacarose promoveram a desaceleração do crescimento de plântulas de jenipapeiro quando submetidas à temperatura de 25°C .

O meio WPM difere do MS por conter menores quantidades de nutrientes e vitaminas, apresentando diferentes respostas no desenvolvimento *in vitro* dos explantes, que podem variar de acordo com a espécie em estudo e o ambiente de cultivo.

Ao comparar os dois experimentos, verificou-se significância do efeito isolado da temperatura para a taxa de sobrevivência e ausência de efeitos significativos para número de folhas verdes (Anexo E). Todavia, as taxas de sobrevivência nas duas temperaturas foram estatisticamente iguais e as folhas apresentadas por explantes conservados a 20°C foram pequenas e amareladas (Tabela 12 e Figura 6), indicando que a redução da temperatura de conservação *in vitro* proporcionou menor metabolismo dos explantes de mangabeira.

TABELA 12. Influência da temperatura na taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a diferentes meios de cultura, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

Tempo (dias)	Meio de cultura	Taxa de sobrevivência (%)		Número de folhas verdes	
		Temperatura (°C)		Temperatura (°C)	
		25	20	25	20
45	MS 100%	76,00	96,00	2,48	1,06
	MS 50%	55,00	80,00	1,08	2,20
	WPM 100%	82,00	87,00	2,46	2,54
	WPM 50%	80,00	90,00	1,04	1,76
90	MS 100%	43,00	68,00	1,58	1,06
	MS 50%	45,00	50,00	1,32	1,20
	WPM 100%	65,00	70,00	2,82	3,16
	WPM 50%	50,00	75,00	1,06	2,56
Média		62,00a	77,00a	1,73a	1,94a

Médias seguidas por letras distintas, na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

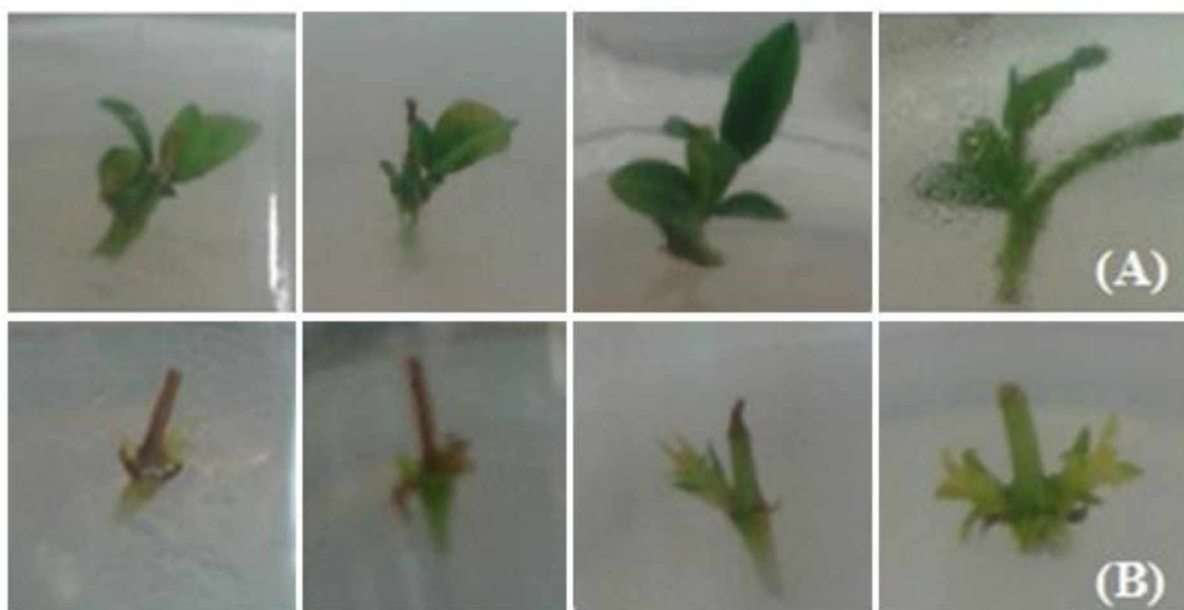


FIGURA 6. Segmentos nodais de mangabeira conservados por 90 dias, à temperatura de 25°C (A) e 20°C (B), em meio MS 100%, MS 50%, WPM 100% e WPM 50%, respectivamente. Uberlândia-MG, 2017.

Assim como neste trabalho, Oliveira et al. (2000) verificaram que, nos primeiros 90 dias de conservação *in vitro*, plântulas de bananeira apresentavam folhas mais amareladas quando mantidas em temperaturas abaixo de 17°C, sendo possível a sua conservação *in vitro* por 450 dias.

O calor e o frio são estados termodinâmicos caracterizados pela alta ou baixa energia cinética das moléculas. Dessa forma, o calor acelera o movimento das moléculas, o que enfraquece as ligações entre elas, tornando as camadas lipídicas das biomembranas mais fluídas. O frio reduz a velocidade de reações químicas vitais das plantas, o que torna as biomembranas mais rígidas, sendo necessária uma maior quantidade de energia para ativar processos bioquímicos (LARCHER, 2006). Assim, o frio reduz o desenvolvimento das plantas e causa amarelecimento das folhas, pois o cloroplasto é afetado, causando danos ao aparelho fotossintético e à molécula de clorofila (STHAPIT et al., 1995), o que explica a formação de folhas menores e cloróticas.

4.2 Recuperação do crescimento de segmentos nodais de mangabeira conservados *in vitro*

4.2.1 Agentes osmóticos na recuperação do crescimento de segmentos nodais de mangabeira conservados *in vitro*

No resumo de análise de variância verificou-se que as doses e os agentes osmóticos não influenciaram nenhuma das características avaliadas, porém, houve um efeito significativo da interação entre a testemunha e os demais tratamentos (Anexo F). Apesar disso, não foram encontradas diferenças significativas para massa fresca (Tabela 13).

Segmentos nodais de mangabeira conservados em manitol não apresentaram taxa de sobrevivência após cultivo por 60 dias em meio de multiplicação, ou seja, não foi possível a recuperação do crescimento desses explantes, o que afetou as outras características, sendo inferiores à testemunha (Tabela 13).

Segmentos nodais conservados em sorbitol também apresentaram menor desenvolvimento da parte aérea em relação àqueles conservados em meio sem adição de agentes osmóticos, com exceção da dose de 20 g L⁻¹ que proporcionou número de nós e comprimento da parte aérea semelhantes à testemunha. Isso indica que, nesta dosagem, os explantes responderam melhor aos estímulos para a retomada do crescimento, apesar de ter ocorrido uma redução na taxa de sobrevivência de 26,66%, desde a avaliação aos 90 de conservação *in vitro* (Tabela 13).

Na ausência de agentes osmóticos (testemunha), desde a avaliação ocorrida aos 90 dias de conservação *in vitro*, houve uma redução de apenas 6,67% na taxa de sobrevivência dos explantes, os quais apresentaram bom desenvolvimento da parte aérea após cultivo por 60 dias em meio de multiplicação (Tabela 13).

TABELA 13. Médias da taxa de sobrevivência (TS), número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados em meio suplementado com 2 g L⁻¹ de carvão ativado e diferentes doses de manitol e sorbitol, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.

Agente Osmótico	Dose (g L ⁻¹)	TS (%)	NFV	NN	CPA (cm)	MF (g)
Testemunha	0*	33,33	2,07	1,20	1,10	0,072
Manitol	15	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,000
	20	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,000
	25	0,00*	0,00*	0,00*	0,10*	0,016
Sorbitol	10	6,67*	0,40*	0,07*	0,03*	0,015
	20	6,67*	0,40*	0,80	0,63	0,047
	40	0,00*	0,00*	0,27*	0,07*	0,009
W		0,800	0,817	0,834	0,885	0,920
F _{Lev}		11,556	7,678	9,659	2,970	3,798
CV (%)		160,36	99,90	112,63	17,78	137,00
Transformação		-	-	-	$\sqrt{x + 0,5}$	-

*: Diferente pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade; W e F_{Lev}: Estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, respectivamente, a 1% de probabilidade.

Explantos de jenipapeiro conservados com 15 e 20 g L⁻¹ de manitol apresentaram maior resposta morfogênica aos 120 dias da retomada do crescimento (LÉDO et al., 2013b), ou seja, o manitol apresentou um efeito contrário, o qual os autores acreditam estar relacionado à espécie em estudo ou ao uso de doses inadequadas.

No trabalho de Santos et al. (2011), verifica-se que os segmentos nodais de mangabeira, conservados em meio suplementado com reguladores de crescimento e 10 g L⁻¹ de sorbitol, apresentaram maior viabilidade na retomada do crescimento aos 60 dias, quando comparados às doses de 20 e 40 g L⁻¹.

Com base nesses resultados é possível afirmar que os explantes mantidos sob ação dos agentes osmóticos durante o período de conservação *in vitro* sofrem um estresse, afetando a recuperação do crescimento, mesmo após transferência para meio suplementado com reguladores de crescimento.

4.2.2 Sacarose e ácido abscísico (ABA) na recuperação do crescimento de segmentos nodais de mangabeira conservados *in vitro*

Foram encontradas diferenças significativas entre as doses de sacarose apenas para a taxa de sobrevivência. Não houve significância do uso de ABA e da interação entre esses

fatores para nenhuma das características avaliadas (Anexo G e Tabela 14). Isso indica que segmentos nodais de mangabeira conservados em meio com ABA apresentam o mesmo desempenho daqueles conservados na ausência deste regulador durante a etapa de recuperação do crescimento.

O aumento da concentração de sacarose causou um comportamento quadrático da curva de regressão para taxa de sobrevivência, apresentando um máximo de 29,83%, na dose de 18,60 g L⁻¹ (Figura 7), mostrando uma redução relevante desde a avaliação aos 90 dias de conservação *in vitro*.

Apesar de não haver diferenças significativas nas outras características, na dose de 30 g L⁻¹ de sacarose e ausência de ABA, os segmentos nodais de mangabeira apresentaram melhor desenvolvimento da parte aérea (Tabela 14).

TABELA 14. Médias da taxa de sobrevivência (TS), número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados em meio suplementado com 2 g L⁻¹ de carvão ativado e diferentes doses de sacarose e ABA, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.

Sacarose (g L ⁻¹)	ABA (mg L ⁻¹)	TS (%)	NFV	NN	CPA (cm)	MF (g)
0	0	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,000a
	0,5	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,000a
10	0	20,00a	0,80a	0,33a	0,47a	0,020a
	0,5	33,33a	2,80a	1,20a	1,50a	0,093a
20	0	20,00a	1,60a	0,93a	0,93a	0,050a
	0,5	33,33a	2,33a	1,47a	1,53a	0,087a
30	0	20,00a	4,00a	2,07a	2,33a	0,157a
	0,5	20,00a	1,73a	0,93a	0,80a	0,050a
W		0,828	0,890	0,915	0,927	0,840
F _{Lev}		3,086	5,101	3,720	3,232	3,445
CV (%)		62,98	119,29	115,29	111,35	114,54

Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; W e F_{Lev}: Estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, respectivamente, a 1% de probabilidade.

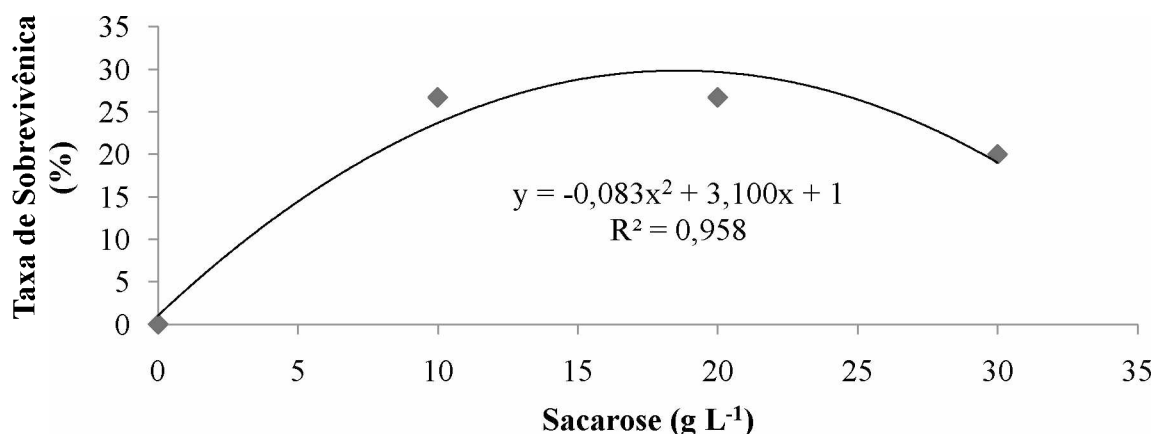


FIGURA 7. Taxa de sobrevivência de segmentos nodais de mangabeira conservados *in vitro* em função da concentração de sacarose, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.

4.2.3 Meios de cultivo e temperaturas na recuperação do crescimento de segmentos nodais de mangabeira conservados *in vitro*

A interação meio de cultura x temperatura não mostrou efeito significativo para nenhuma das características avaliadas, ao contrário da ação isolada dos meios de cultura que influenciou todas as variáveis. Além disso, verificou-se um efeito significativo da temperatura para o comprimento da parte aérea (Anexo H), entretanto esta característica não diferiu entre as temperaturas testadas (Tabela 15).

Os segmentos nodais de mangabeira conservados em meio WPM apresentaram melhores respostas à retomada de crescimento do que aqueles conservados em meio MS. Mas, apesar dos meios WPM com 100 e 50% da concentração de sais proporcionarem resultados estatisticamente iguais, o primeiro foi superior, pois todas as características, com exceção da taxa de sobrevivência, diferiram daquelas de segmentos nodais desenvolvidos em meio MS, independente da concentração de sais, ao contrário do segundo (Tabela 15).

TABELA 15. Médias da taxa de sobrevivência (TS), número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados com diferentes temperaturas e meios de cultura, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.

Meio de cultura	TS (%)	NFV	NN	CPA (cm)	MF (g)
MS 100%	9,50b	0,28b	0,11b	0,04b	0,007b
MS 50%	17,50b	0,43b	0,18b	0,16b	0,009b
WPM 100%	49,50a	3,41a	1,23a	1,04a	0,038a
WPM 50%	52,50a	2,37ab	0,59ab	0,45ab	0,026ab
Temperatura					
25	29,75a	1,38a	0,60a	0,58a	0,21a
20	34,75a	1,86a	0,45a	0,26a	0,19a
W	0,918	0,945	0,949	0,872	0,879
F _{Lev.}	3,842	2,303	6,177	2,591	1,349
CV(%)	54,92	36,54	98,85	115,31	73,77
Transformação	-	$\sqrt{x + 0,5}$	-	-	-

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; W e F_{Lev.}: Estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal e variâncias homogêneas, respectivamente, a 1% de probabilidade.

O meio WPM foi originalmente desenvolvido para plantas lenhosas (LLOYD; McCOWN, 1980), assim como a mangabeira, o que justifica ter sido mais apropriado para o crescimento dos explantes. De modo semelhante, plantas de louro-pardo (*Cordia trichotoma*) apresentaram melhor desenvolvimento *in vitro* quando cultivadas em meio WPM (FICK et al., 2007).

5 CONCLUSÕES

A adição de 2 g L^{-1} de carvão ativado ao meio de cultura melhora a sobrevivência e desenvolvimento dos segmentos nodais de mangabeira.

O manitol e o sorbitol, na ausência de carvão ativado e nas condições testadas, não são eficientes na redução do metabolismo dos explantes.

O sorbitol, na presença de carvão ativado, não foi eficiente na conservação dos explantes, assim como o manitol que, apesar de reduzir o metabolismo dos explantes, proporciona baixas taxas de sobrevivência, não sendo possível realizar posteriormente a recuperação do crescimento.

O uso de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de ABA, na ausência de carvão ativado, proporciona menor desenvolvimento dos explantes. Entretanto, na presença do carvão, não apresenta efeitos positivos na redução do crescimento.

Baixas concentrações de sacarose no meio de cultura, independente do uso do carvão ativado, proporciona redução do metabolismo dos explantes, porém baixas taxas de sobrevivência. A ausência de sacarose e carvão no meio de cultura resulta na morte dos explantes.

Explantes conservados em meio WPM com 50% da concentração de sais e temperatura de 20°C apresentam baixo metabolismo e respondem bem à etapa de recuperação do crescimento.

REFERÊNCIAS

- ARDITTI, J.; ERNST, R. **Micropropagation of orchids**. New York: John Wiley, 1993. 682 p.
- AGUIAR FILHO, S. P.; BOSCO, J.; ARAÚJO, I. A. de. **A mangabeira (*Hancornia speciosa*): domesticação e técnicas de cultivo**. João Pessoa: EMEPA-PB, 1998, 26 p. (Documentos, 24).
- ALENCAR, G. **Pesquisas mostram que mangaba está ameaçada em estados do Nordeste**. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2007. Disponível em: <<http://www.renorbio.org.br/portal/noticias/pesquisas-mostram-que-mangaba-esta-ameacada-em-estados-do-nordeste.htm>>. Acesso em: 20 mar. 2017.
- ALMEIDA, C. S. **Propagação e conservação *in vitro* de acessos de jenipapeiro**. 70 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia de Recursos Naturais) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2013.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464 p.
- ALVES, R. B. N.; BERTONI, B. W.; VIEIRA, R. F.; FRANÇA, S. C.; MING, L. C.; PEREIRA, A. M. S. Influência de diferentes meios de cultura sobre o crescimento de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae) para conservação *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 4, p. 510-515, 2010.
- BARREIRO NETO, M. Recursos genéticos para o melhoramento da mangabeira no Estado da Paraíba. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 1., 2003, Aracaju. **Anais ...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 1 CD-ROM.
- BARRUETO CID, L. P. **Introdução aos hormônios vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. 180 p.
- BARRUETO CID, L. P. CARVALHO, L. L. C. B. Importance of abscisic acid (ABA) in the *in vitro* conservation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Chilean Journal of Agricultural Research**, Chillán, v. 68, n. 3, p. 304-308, 2008.
- BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S.; COSTA, M. A. P. C.; ROCHA, M. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1122-1124, 2007.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais. **Relatório técnico de monitoramento do desmatamento no bioma Cerrado, 2002 a 2008: dados revisados**. Acordo de cooperação técnica MMA/ IBAMA/ PNUD. Centro de Sensoriamento Remoto – CSR/ IBAMA, 2009. 71 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais. **Monitoramento do Desmatamento nos Biomas Brasileiros por Satélite: Cerrado 2010-2011**. Brasília, 2015a. 16p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Mapeamento do uso e cobertura da terra do Cerrado: Projeto TerraClass Cerrado 2013/ MMA/ SBF**. Brasília: MMA, 2015b. 67p.

BROWSE, J.; XIN, Z. Temperature sensing and cold acclimation. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 4, n. 3, p. 241-246, 2001.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E.; Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa SPI/Embrapa CNPH, 1998. p. 87-132.

CAMILLO, J.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; VIEIRA, R. F.; PEIXOTO, J. R. Conservação *in vitro* de *Cochlospermum regium* (Schränk) Pilg.- Cochlospermaceae sob regime de crescimento mínimo. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 11, n. 2, p. 184-189, 2009.

CANTO, A. M. M. E.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. C.; SOUZA, A. S.; LEDO, C. A. S.; CABRAL, J. R. S. Conservação *in vitro* de germoplasma de abacaxi tratado com paclobutrazol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 7, p. 717-720, 2004.

CARVALHO, M. J. S.; SANTOS, E. B.; CARDOSO, M. G. S.; SOUZA, A. S.; SOUZA, F. V. D.; LÉDO, C. A. S.; FILHO, W. S. S. Efeito do carvão ativado e ácido giberélico na conservação *in vitro* de tangerineira ‘cleópatra’ (*Citrus resnyi* hort. ex Tanaka). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: SBF, 2012. p. 569-572.

CARVALHO, M. J. S.; SOUZA, A. S.; SANTOS, E. B.; FILHO, W. S. S.; LEDO, C. A. S.; SOUZA, F. V. D. Univariate and multivariate statistical tools for *in vitro* conservation of citrus genotypes. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 38, n. 1, p. 129-137, 2016.

CHAGAS, E. A.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; PIO, L. A. S.; DUTRA, L. F.; CAZETTA, J. O. Cultivo de embriões imaturos de citros em diferentes concentrações de carvão ativado e ácido giberélico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1125-1131, 2005.

COELHO, S. Estudos apontam redução de mangabeiras em Sergipe. **Folha de Sergipe**. 2016a. Disponível em: < <http://folhadesergipe.com.br/estudos-apontam-reducao-de-mangabeiras-em-sergipe/>>. Acesso em: 16 mar. 2017.

COELHO, S. Banco genético de mangaba da Embrapa em Sergipe recebe credenciamento oficial. **Embrapa notícias**, 2016b. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/9130064/banco-genetico-de-mangaba-da-embrapa-em-sergipe-recebe-credenciamento-oficial>>. Acesso em: 17 mar. 2017.

CONAB. **Conjuntura mensal: mangaba (fruto)**. 2015. Disponível em: < http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_22_17_15_46_conjuntura_mangaba_fevereiro_de_2015-versao_final.pdf>. Acesso em: 16 mar. 2017.

COSTA, M. A. P. C.; MOREIRA, M. J. S.; SOUZA, F. V. D.; ROCHA, M. A. C. Conservação *in vitro* de *Aechmea fasciata* (Lindley) Baker e *Aechmea miniata* Beer ex Baker (Bromeliaceae-Bromelioideae). **Magistra**, Cruz das Almas, v. 24, n. 4, p. 293-303, 2012.

CRONQUIST, A. **The evolution in classification of flowering plants**. 2. ed. Bronx: The New York Botanical Garden, 1988. 555 p.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DARRAULT, R.; SCHLINDWEIN, C. Polinização de *Hancornia speciosa* (Apocynaceae). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 1., 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 1 CD-ROM.

DIAS, M. G. L.; MARANHÃO, T. O. Análise citogenética e palinológica quanto à viabilidade e morfologia em mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Biociências**, Piracicaba, v. 1, n. 1, p. 61-69, 1994.

DISARZ, R.; CORDER, M. P. M. Multiplicação de gemas axilares de *Acacia mearnsii* De Wild. sob diferentes meios de cultura. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 599-606, 2009.

DORION, N.; KADRI, M.; BIGOT, C. *In vitro* preservation at low temperature of rose plantlets usable for direct acclimatization. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 298, p. 335-343, 1991.

DUMET, D. ENGELMANN, F.; CHABRILLANGE, N.; DUVAL, Y.; DEREUDDRE, J. Importance of source for the acquisition of tolerance to desiccation and cryopreservation of oil palm somatic embryos. **Cryo-Letters**, London, v. 14, n. 1, p. 243-250, 1993.

ENGELMANN, F. Plant cryopreservation: progress and prospects. **In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant**, Columbia, v. 40, n. 5, p. 427-433, 2004.

ENGELMANN, F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. **In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant**, Columbia, v. 47, n. 1, p. 5-16, 2011.

ESPÍNDOLA, A. C. M.; FRANÇA, E. A.; NASCIMENTO JÚNIOR, N. A. N. Efeito da profundidade de plantio e misturas de substratos na germinação e vigor das mudas de mangabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n. 3, p. 165-168, 1992.

FAO. Food and fruit-bearing Forest species 3: examples from Latin America. **Forestry Paper**, Rome, v. 44, n. 3, p. 149-151, 1986.

FARIA, G. A.; COSTA, M. A. P. C.; JUNGHANS, T. G.; LÉDO, C. A. S.; SOUZA, A. S. Efeito da sacarose e sorbitol na conservação *in vitro* de *Passiflora giberti* N. E. Brown. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 267-270, 2006.

- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.
- FERREIRA, E. G.; MARINHO, S. J. O. Produção de frutos da mangabeira para consumo *in natura* e industrialização. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 1, n. 1, p. 9-14, 2007.
- FERREIRA, M. B. Frutos comestíveis do Distrito Federal III. Pequi, mangaba, marolo e mamãozinho. **Cerrado**, Brasília, v. 5, n. 20, p. 22-25, 1973.
- FICK, T. A.; BISOGNIN, D. A.; QUADROS, K. M.; HORBACH, M.; REINIGER, L. R. S. Estabelecimento e crescimento *in vitro* de plântulas de louro-pardo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 17, n. 4, p. 343-349, 2007.
- FORTES, G. R. L.; PEREIRA, J. E. S. Preservação *in vitro* da batata com ácido acetilsalicílico e duas fontes de carboidrato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 10, p. 1261-1264, 2001.
- FRÁGUAS, F. V., SOUZA, A. V., PASQUAL, M.; DUTRA, L. F. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea oriundas da hibridação entre *Cattleya labiata* e *Laelia itambana*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 50, n. 292, p. 719-726, 2003.
- GEORGE, E. F. (Ed.) **Plant propagation by tissue culture. Part 1.** – The technology. 2 ed. Edington:Exegetics, 1993. 574 p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. p. 183-260.
- HOYT, E. **Conservação dos parentes silvestres de plantas cultivadas**. Wilmington: Addison-Wesley Iberoamericana, 1992. 52 p.
- IBGE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA**: Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/289> >. Acesso em: 16 fev. 2017.
- IBM Corp. **IBM SPSS Statistics for Windows**, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp, 2013.
- JESUS, E. O. Apropriação do Cerrado: análise do currículo e práticas educativas na rede estadual de educação de Goiás. **CaderNAU**, Rio Grande, v. 9, n. 1, p. 137-150, 2016.
- JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P.; PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; BRAGA, M. F.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; FALEIRO, F. G. Frutíferas nativas do Cerrado: o extrativismo e a busca da domesticação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: SBF, 2012.
- KADOTA, M.; IMIZU, K.; HIRANO, T. Doublé-phase *in vitro* culture using sorbitol increase shoot proliferation and hyperhydricity in Japanese pear. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam v. 89, n. 3, p. 207-215, 2001.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**, São Carlos: Rima, 2006. 398 p.

LEDERMAN, I. E.; SILVA JÚNIOR, J. F.; BEZERRA, J. E. F.; ESPÍNDOLA, A. C. M. **Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 35 p.

LEDERMAN, I. L.; BEZERRA, J. E. F. Situação atual e perspectivas da cultura da mangaba. In: SILVA JUNIOR, J. F.; LÉDO, A. (Ed.). **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 248-253.

LÉDO, A. S.; CUNHA, A. O.; ARAGÃO, W. M.; TUPINAMBÁ, E. A. Efeito da sacarose e do manitol na conservação *in vitro* por crescimento lento de coqueiro anão. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 19, n. 4, p. 346-351, 2007a.

LÉDO, A. S.; SECA, G. S. V.; BARBOZA, S. B. S. C.; SILVA JÚNIOR, J. F. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de germinação *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 989-993, 2007b.

LÉDO, A. S.; SÁ, A. J.; SANTOS, M. C.; SILVA JÚNIOR, J. F.; MUNIZ, A. V. C. S. **Protocolo para conservação *in vitro* por crescimento lento de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2011. 4 p. (Comunicado Técnico, 115).

LÉDO, A. S.; ALMEIDA, C. S.; ARAÚJO, A. G.; SILVA, A. V. C.; SILVA JÚNIOR, J. F. Efeito do ácido abscísico na redução do crescimento *in vitro* do acesso de jenipapeiro Núcleo Bandeirante. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 25, I RGVNE, 2013a.

LÉDO, A. S.; ALMEIDA, C. S.; ARAÚJO, A. G.; SILVA, A. V. C.; SILVA JÚNIOR, J. F. Efeito do manitol no crescimento *in vitro* de acesso de jenipapeiro dos Cerrados para fins de conservação. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 25, I RGVNE, 2013b.

LEMOS, E. E. P.; FERREIRA, M. S.; ALENCAR, L. M. C.; RAMALHO NETO, C. E.; ALBUQUERQUE, M. M. Conservação *in vitro* de germoplasma de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1359-1364, 2002.

LIMA, I. L. P.; SCARIOT, A. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da Mangaba**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 68 p.

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

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. São Paulo, Nova Odessa. 2002. 386 p.

MACHADO, C. A. **Estratégias para conservação de acessos de coqueiro anão do BAG da Embrapa Tabuleiros Costeiros**. 2012. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2012.

- MACIA, R. J. **Conservação *in vitro* de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).** 2011. 67 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2011.
- MAJEROWICZ, N. Fotossíntese. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal.** 1.ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. p. 114-178.
- MARTINS, L. M.; PEREIRA, A. M. S.; FRANÇA, S. C.; BERTONI, B. W. Micropropagação e conservação de *Macrosyphonia velame* (St. Hil.) Muell. Arg. em banco de germoplasma *in vitro*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 3, p. 454-458, 2011.
- MENDES, S. O.; OLIVEIRA, I. J.; MORAIS, E. M. B. Abordagens do Cerrado em livros didáticos de geografia. **Revista Brasileira de Educação em Geografia**, Campinas, v. 6, n. 12, p. 179-208, 2016.
- MENEZES, T. S. A. **Conservação *in vitro* e aclimatização de epidendroideae (Orquidaceae) do Estado de Sergipe.** 2014. 43 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2014.
- MMA - Ministério do Meio Ambiente. **O Bioma Cerrado.** Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 14 fev. 2017.
- MONACHINO, J. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). **Lilloa**, Tucumán, v. 11, p. 19-48, 1945.
- MOOSIKAPALA, L.; TE-CHATTO, S. Application of *in vitro* conservation in *Vetiveria zizanioides* Nash. **Journal of Agricultural Technology**, Bangkok, v. 6, n. 2, p. 401-407, 2010.
- MOURA, L. C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; OLIVEIRA, M. L. R. Micropropagação de sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 12, p. 1691-1698, 2012.
- MURASHIGE, T; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A.; KENT, J. Biodiversity *hotspots* for conservation priorities. **Nature**, Philadelphia, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.
- NEPOMUCENO, C. F.; RIOS, A. P. S.; QUEIROZ, S. R. O. D.; PELACANI, C. R.; SANTANA, J. R. F. Respostas morfofisiológicas *in vitro* de plântulas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb) Altschul. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 481-490, 2009.
- NOGUEIRA, G. F. **Criopreservação e produção de sementes sintéticas *in vitro* de mangabeira.** 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

NOGUEIRA, G. F. **Regeneração, conservação *in vitro* e estabilidade genômica em cana-de-açúcar**. 2013. 184 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

NUNES, C. F.; PASQUAL, M.; SANTOS, D. N.; CUSTÓDIO, T. N.; ARAÚJO, A. G. Diferentes suplementos no cultivo *in vitro* de embriões de pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 9-14, 2008.

OLIVEIRA, D. A.; PIETRAFESA, J. P.; BARBALHO, M. G. S. Manutenção da biodiversidade e o *hotspots* Cerrado. **Caminhos de Geografia**, Uberlândia, v. 9, n. 26, p. 101-114, 2008.

OLIVEIRA, L. M. Q.; VALIO, I. F. M. Effects of moisture content on germination of seeds of *Hancornia speciosa* Gom. (Apocynaceae). **Annals of Botany**, London, v. 69, p. 1-5, 1992.

OLIVEIRA, R. P.; SILVA, S. O.; SILVA, K. M.; SILVEIRA, D. G. *In vitro* conservation of diploid banana accessions. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 245-249, 2000.

PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; DUTRA, L. F. **Aplicações no melhoramento genético de plantas**. 2001. 79 p. Curso de Pós-Graduação "Lato Sensu" (Especialização em Cultura de Tecidos Vegetais: tecnologia e aplicações) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001a.

PASQUAL, M. **Textos acadêmicos**: meios de cultura. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001b. 127 p.

PEDROSO, A. N. V.; LAZARINI, R. A. M.; TAMAKI, V.; NIEVOLA, C. C. *In vitro* culture at low temperature and *ex vitro* acclimatization of *Vriesea inflata* an ornamental bromeliad. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 407-414, 2010.

PELÁ, M.; MENDONÇA, M. R. Cerrado Goiano: encruzilhada de tempos e territórios em disputa. In: PELÁ, M.; CASTILHO, D. (org.). **Cerrados**: perspectivas e olhares. Goiânia: Editora Vieira, 2010.

PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; SILVA JÚNIOR, J. F.; SILVA, D. B. Mangaba. In: VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006, p. 188-213.

PRUDENTE, D. O. **Organogênese indireta e criopreservação de gemas laterais e de unidades encapsuláveis de mangabeira**. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

RIZZO, J. A.; FERREIRA, H. D. *Hancornia* G. no estado de Goiás. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 36, 1985, Curitiba, PR. **Anais...** Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 1990. v. 1, p. 363-368.

ROCA, W. M.; ARIAS, D. I.; CHAVES, R. Métodos de conservación *in vitro* del germoplasma. In: ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A. (Ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones**. CIAT, Cali, Colombia. 1991. 697-712p.

- SÁ, A. J. **Avanços na propagação e conservação *in vitro* da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) nativa da região nordeste.** 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2009.
- SÁ, A. J.; LÉDO, A. S.; LÉDO, C. A. Conservação *in vitro* de mangabeira da região nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 1, p. 57-62, 2011.
- SALOMÃO, A. N.; ALLEM, A. C. Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian Cerrado and Caatinga vegetation. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 15, n. 3, p. 369-378, 2001.
- SANO, S. M.; FONSECA, C. E. L. **Avaliação de progênies de mangabeira do Cerrado.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003. 16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 96).
- SANTOS, M. C. **Conservação *in vitro* de mangabeira nativa da Região Nordeste do Brasil.** 2010. 55 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2010.
- SANTOS, M. C.; LÉDO, A. S.; LÉDO, C. A. S.; SOUZA, F. V. D.; SILVA JÚNIOR, J. F. Efeito da sacarose e do sorbitol na conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 3, p. 735-741, 2011.
- SANTOS, M. S. **Prospecção, caracterização molecular e conservação *in vitro* de *Laeliinae* (Orchidaceae).** 2014. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2014.
- SANTOS, P. A. A. **Cultivo e conservação *in vitro* de *Hancornia speciosa* Gomes.** 2013. 96 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- SANTOS, E.; BETTENCOURT, E. **Manual de apoio à formação e treino em conservação *ex situ* de recursos fitogenéticos.** Lisboa: Instituto Nacional de Investigação Agrária, 2002, 207 p.
- SARTOR, F. R. **Desenvolvimento e avaliação de técnicas de micropropagação e criopreservação para o armazenamento da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes).** 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2011.
- SILVA, A. V.; AMORIM, J. A. E.; MELO, M. F. V.; LÉDO, A. S.; RABBANI, A. R. C. Genetic diversity of remaining populations of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) in restingas of Brazil. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 9, n. 2, p. 46-52, 2017.
- SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R.M. **Frutas do Cerrado.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001.179p.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, Academic Journals, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016.

SILVA, H. F. J.; ASMAR, S. A.; OLIVEIRA, R. C.; MELO, B.; LUZ, J. M. Q.; PASQUAL, M. *In vitro* establishment and early development of barueiro (*Dipteryx alata* Vogel). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 1779-1790, 2016.

SILVA JÚNIOR, J. F.; BEZERRA, I. E.; LEDERMAN, I. E. Recursos genéticos e melhoramento de fruteiras nativas e exóticas de Pernambuco. In: QUEIRÓZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (eds.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro**. (on line). Petrolina, PE: Embrapa Semi-Árido/ Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. Disponível em: < <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/153831>>. Acesso em: 17 mar. 2017.

SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. (Ed.). Botânica. In: SILVA JÚNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. (Ed.). **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 25-33.

SILVA JÚNIOR, J. F.; MOTA, D. M.; SCHMITZ, H.; RODRIGUES, R. F. A. Entre Tabuleiros, Restingas e Cerrados: a conservação *in situ* da mangabeira pelas comunidades tradicionais de extrativistas. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E O CARIBE, 10., 2015, Bento Gonçalves. Recursos genéticos no século 21: de Vavilov a Svalbard: **Anais...** [S.l.]: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2015.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D. R. G.; PAIVA, P. D. O. **Cultura da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Lavras, UFLA, 2006. 12 p. (Boletim Agropecuário, 67).

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A. A.; NERY, F. C.; VARGAS, D. P.; SILVA, D. R. G. Taxa de multiplicação e efeito residual de diferentes fontes de citocinina no cultivo *in vitro* de *Hancornia speciosa* Gomes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 152-157, 2011.

STACCIARINI-SERAPHIN, E. Ácido abscísico. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 1.ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. p. 293-307.

STHAPIT, B. R.; WITCOMBE, J. R.; WILSON, J. M. Methods of selection for chilling tolerance in Nepalese rice by chlorophyll fluorescence analysis. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 90- 94, 1995.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

THOMAS, T. D. The role of activated charcoal in plant tissue culture. **Biotechnology Advances**, New York, v. 26, n. 6, p. 618-631, 2008.

VIEIRA, M. C. **Produção, fenologia de plantas e morfogênese *in vitro* de diferentes subespécies de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez)**. 208 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, 2014.

VIEIRA NETO, R. D.; MELO, V. S.; DANTAS, J. O. **Caracterização do sistema produtivo da mangabeira no município de Itaporanga D'Ajuda, Sergipe**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. 10 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 48).

WATT, M. P.; THOKOANE, N. L.; MYCOCK, D.; BLAKEWAY, F. *In vitro* storage of *Eucalyptus grandis* germplasm under minimal growth conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 61, n. 2, p.161-164, 2004.

WITHERS, L. A. *In vitro* conservation. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 43, n. 1, p. 31-42, 1991.

WITHERS, L. A.; WILLIAMS, J. T. Conservação *in vitro* de recursos genéticos de plantas. In: TORRES, A. A.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa SPI/Embrapa CNPH, 1998. p. 297-330.

ANEXOS

Página

ANEXO A. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV) de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, na ausência de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.....	53
ANEXO B. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV) de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, na presença de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.....	53
ANEXO C. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, na presença e ausência de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.....	54
ANEXO D. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV) de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de sacarose e ABA, na ausência e presença de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação <i>in vitro</i> . Uberlândia-MG, 2017.....	54
ANEXO E. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV) de segmentos nodais de mangabeira conservados <i>in vitro</i> à temperatura de 25 e 20°C e diferentes meios de cultura, na ausência e presença de carvão ativado, aos 45 e 90 dias. Uberlândia-MG, 2017.	55
ANEXO F. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS), número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados com diferentes doses de manitol e sorbitol, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.	55

ANEXO G. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados com diferentes doses de sacarose e ABA, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.....55

ANEXO H. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados com diferentes temperaturas e meios de cultura, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017. ...56

ANEXO A. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV) de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, na ausência de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

FV	GL	TS (%)		NFV	
		Tempo (dias)		Tempo (dias)	
		45	90	45	90
Agente Osmótico	1	5,28*	7,39*	9,14*	3,68 ^{ns}
Dose (Ag. Osmótico)	4	0,57 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,95 ^{ns}
Fat. x Testemunha	1	1,47 ^{ns}	1,82 ^{ns}	1,14 ^{ns}	1,10 ^{ns}
CV (%)		46,88	138,70	26,34	28,23
Média Geral		53,33	9,52	0,99	0,27
FV	GL	TS (%)		NFV	
		Tempo (dias)		Tempo (dias)	
		45	90	45	90
Tempo	1	50,63*		27,03*	
Trat. x Tempo	6	0,40 ^{ns}		1,37 ^{ns}	
CV ₁ ; CV ₂ (%)		71,83; 57,48		32,64; 20,29	
Média geral		31,42		0,63	

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, ^{ns} não significativo pelo teste F.

ANEXO B. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV) de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, na presença de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

FV	GL	TS (%)		NFV	
		Tempo (dias)		Tempo (dias)	
		45	90	45	90
Agente Osmótico	1	11,93*	6,42*	49,27*	4,47 ^{ns}
Dose (Ag. Osmótico)	4	1,38 ^{ns}	1,17 ^{ns}	1,97 ^{ns}	2,60 ^{ns}
Fat. x Testemunha	1	2,73 ^{ns}	0,92 ^{ns}	19,77*	16,42*
CV (%)		33,07	69,34	14,48	24,67
Média Geral		61,90	29,52	1,64	0,84
FV	GL	TS (%)		NFV	
		Tempo (dias)		Tempo (dias)	
		45	90	45	90
Tempo	1	77,07*		47,09*	
Trat. x Tempo	6	1,15 ^{ns}		6,88*	
CV ₁ ; CV ₂ (%)		57,68; 26,15		24,31; 11,76	
Média geral		45,71		1,24	

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, ^{ns} não significativo pelo teste F.

ANEXO C. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência e número de folhas verdes de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de manitol e sorbitol, na presença e ausência de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

FV	GL	Taxa de Sobrevivência (%)	Número de Folhas Verdes
Carvão	1	9,28*	18,01*
Trat. x Carvão	13	1,19 ^{ns}	3,12*
CV (%)		55,72	22,77
Média geral		38,57	1,12

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, ^{ns} não significativo pelo teste F.

ANEXO D. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV) de segmentos nodais de mangabeira submetidos a doses de sacarose e ABA, na ausência e presença de carvão ativado, aos 45 e 90 dias de conservação *in vitro*. Uberlândia-MG, 2017.

FV	GL	TS (%)		NFV	
		Carvão (g L ⁻¹)		Carvão (g L ⁻¹)	
		0	2	0	2
Sacarose	3	26,23*	11,33*	18,88*	5,60*
ABA	1	0,00 ^{ns}	0,65 ^{ns}	4,17 ^{ns}	0,88 ^{ns}
Sacarose x ABA	3	0,52 ^{ns}	0,24 ^{ns}	1,06 ^{ns}	1,34 ^{ns}
Tempo	1	85,33*	35,64*	20,17*	0,00 ^{ns}
Sacarose x Tempo	3	19,33*	0,36 ^{ns}	4,17*	0,70 ^{ns}
ABA x Tempo	1	0,33 ^{ns}	1,64 ^{ns}	9,80*	0,09 ^{ns}
Saca. x ABA x Tempo	3	1,44 ^{ns}	0,06 ^{ns}	1,40 ^{ns}	3,24*
CV ₁ ; CV ₂ (%)		60,24; 30,77	52,76; 25,00	91,86; 53,03	98,06; 29,31
Média geral		32,50	54,17	0,80	1,95
FV	GL	TS (%)		NFV	
		Carvão (g L ⁻¹)		Carvão (g L ⁻¹)	
		0	2	0	2
Carvão	1	30,38*		15,60*	
Trat x Carvão	15	2,62*		1,07 ^{ns}	
CV (%)		44,44		103,72	
Média geral		43,33		1,37	

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, ^{ns} não significativo pelo teste F.

ANEXO E. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV) de segmentos nodais de mangabeira conservados *in vitro* à temperatura de 25 e 20°C e diferentes meios de cultura, na ausência e presença de carvão ativado, aos 45 e 90 dias. Uberlândia-MG, 2017.

FV	GL	TS (%)		NFV	
		Temperatura (°C)		Temperatura (°C)	
		25	20	25	20
Meio de cultura	3	2,09 ^{ns}	1,49 ^{ns}	3,82*	2,74 ^{ns}
Tempo	1	20,10*	36,32*	0,25 ^{ns}	0,25 ^{ns}
Meio x Tempo	3	1,17 ^{ns}	1,03 ^{ns}	4,17*	3,77*
CV ₁ ; CV ₂ (%)		34,80; 25,60	27,55; 15,33	69,59; 25,55	74,17; 34,06
Média geral		62,00	77,00	1,73	1,94
		TS (%)		NFV	
Carvão	1	13,77*		0,87 ^{ns}	
Trat x Carvão	7	0,71 ^{ns}		2,09 ^{ns}	
CV (%)		26,01		55,52	
Média geral		69,50		1,84	

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, ^{ns} não significativo pelo teste F.

ANEXO F. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS), número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados com diferentes doses de manitol e sorbitol, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.

FV	GL	TS (%)	NFV	NN	CPA (cm)	MF (g)
Agente Osmótico	1	0,78 ^{ns}	2,14 ^{ns}	4,55 ^{ns}	2,36 ^{ns}	1,54 ^{ns}
Dose (Ag. Osmótico)	4	0,19 ^{ns}	0,32 ^{ns}	1,53 ^{ns}	1,97 ^{ns}	0,77 ^{ns}
Fat. x Testemunha	1	21,78*	54,22*	18,65*	25,05*	8,66*
CV (%)		160,36	99,90	112,63	17,78	137,00
Média Geral		6,67	0,42	0,33	0,28	0,023

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, ^{ns} não significativo pelo teste F.

ANEXO G. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados com diferentes doses de sacarose e ABA, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.

FV	GL	TS (%)	NFV	NN	CPA (cm)	MF (g)
Sacarose	3	7,17*	2,21 ^{ns}	2,55 ^{ns}	2,46 ^{ns}	2,58 ^{ns}
ABA	1	2,00 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Saca. x ABA	3	0,67 ^{ns}	1,23 ^{ns}	1,15 ^{ns}	1,70 ^{ns}	2,12 ^{ns}
CV (%)		62,98	119,29	115,29	111,25	114,54
Média Geral		18,33	1,66	0,87	0,94	0,057

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, ^{ns} não significativo pelo teste F.

ANEXO H. Resumo da análise de variância da taxa de sobrevivência (TS) e número de folhas verdes (NFV), número de nós (NN), comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF) de segmentos nodais de mangabeira conservados com diferentes temperaturas e meios de cultura, aos 60 dias de recuperação do crescimento. Uberlândia-MG, 2017.

FV	GL	TS (%)	NFV	NN	CPA (cm)	MF (g)
Meio de cultura	3	15,32*	12,12*	9,72*	8,40*	9,60*
Temperatura	1	0,80 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,88 ^{ns}	4,43*	0,04 ^{ns}
Meio x Temp.	3	2,10 ^{ns}	0,70 ^{ns}	0,41 ^{ns}	1,32 ^{ns}	2,42 ^{ns}
CV (%)		54,92	36,54	98,85	115,31	73,77
Média Geral		32,25	1,62	0,53	0,42	0,020
Transformação		-	$\sqrt{x + 0,5}$	-	-	-

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, ^{ns} não significativo pelo teste F.