**CRESCIMENTO E ATIVIDADE DA FOSFATASE ÁCIDA DE
PLÂNTULAS DE PROGÊNIES DE *Eucalyptus grandis* HILL EX MAIDEN
EM DIFERENTES DOSES DE FÓSFORO *in vitro***

ANA LUISA DE MORAES MENCK
Engenheiro Florestal

Orientador : Prof. Dr. ANTONIO NATAL GONÇALVES

**Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da
Universidade de São Paulo, para obtenção
do título de Mestre em Ciências, Área de
concentração : Ciências Florestais.**

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro/1996

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luz de Queiroz"/USP

Menck, Ana Lusa de Moraes

Crescimento e atividade da fosfatase ácida de plântulas de progênies de *Eucalyptus grandis* Hill Ex Malden em diferentes doses de fósforo *in vitro* / Ana Lusa de Moraes Menck. - - Piracicaba, 1996.

100p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luz de Queiroz, 1996.

Bibliografia.

1. Eucalipto - Fisiologia 2. Eucalipto - Plântula - Progenie 3. Fosfatase ácida 4. Muda - Seleção I. Título

CDD 634.9734

**CRESCIMENTO E ATIVIDADE DA FOSFATASE ÁCIDA DE
PLÂNTULAS DE PROGÊNIES DE *Eucalyptus grandis* HILL EX MAIDEN
EM DIFERENTES DOSES DE FÓSFORO *in vitro***

Autor : ANA LUISA DE MORAES MENCK

Aprovado em : 17.12. 1996.

Comissão Julgadora :

Prof. DR. ANTONIO NATAL GONÇALVES (Orientador) ESALQ/USP

Prof. DR. MÁRIO FERREIRA ESALQ/USP

Prof. DR. ROLAND VENCovsky ESALQ/USP

Prof. DR. ANTONIO NATAL GONÇALVES
Orientador

A *DEUS* por estar me ajudando nesta fase difícil da minha vida.

As minhas filhas Tássia e Mariah por me darem alegria de viver e força para lutar

Aos meus pais Deovaldo e Theresinha e aos meus irmãos, Deovaldo Júnior, Jorge, Sebastião Neto e Marta, pela força espiritual, pelo apoio, dedicação e a certeza de sempre poder voltar.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Companhia Suzano de Papel e Celulose , em nome do engenheiro Shinitiro Oda , pela oportunidade e incentivo de realizar o mestrado;

Ao Eng^o Agrônomo Paulo César Martins Menck que sempre me incentivou e apoiou neste mestrado;

Ao Professor Antonio Natal Gonçalves pela orientação , amizade , sinceridade , apoio e liberdade para pensar e discutir a fisiologia e filosofia das árvores e humana;

Ao Professor Hilton Thadeu Zarate do Couto , do DCF/ESALQ , e Elizabeth Sayuri Tanaka, da Cia.Suzano , pela compreensão , amizade , orientação estatística e sugestões para confecção deste trabalho;

Ao Professor Roland Vencovsky , do LGN / ESALQ , e ao Professor Edson Seiso Mori , do Departamento de Melhoramento de Plantas da UNESP - Botucatu - SP, que acompanharam e incentivaram o início deste trabalho;

A Professora Giuseppina Pace Pereira Lima do Departamento de Bioquímica da UNESP - Botucatu - SP e ao CEBTEC / ESALQ , em nome do Professor Luis Antonio Gallo , que me ajudaram na confecção e orientação dos dados bioquímicos;

A Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos;

Aos Engenheiros da Cia Suzano , Eduardo José de Mello , José Luís Gava , Julyana Vieira de Melo e Clóvis José Fernandes Oliveira Júnior , pela amizade e apoio técnico;

A equipe técnica da Cia. Suzano, do laboratório de micropropagação , Milton Arantes Galvão e Adelson Antonio Rodrigues e estagiária Telma Aparecida Ferreira, do laboratório de sementes Maria Eliza Kovalski Ferreira , de viveiro de mudas João Galdino de Oliveira Corrêa e de campo Edson Luiz Marchi , pela amizade , amadurecimento profissional e ajuda valiosa neste trabalho;

A Márcia Regina Marcondes de Oliveira Nalesso e Fábio Aparecido Machado, da Cia. Suzano , pelo apoio e serviços de digitação e composição desta dissertação;

A todos que me ajudaram, direta ou indiretamente, meus sinceros agradecimentos.

ÍNDICE

Lista de Figuras	x
Lista de Tabelas	xi
Lista de Abreviaturas	xiv
Resumo	xv
Summary	xvii
1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	03
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	04
3.1. Interação genótipo x ambiente	04
3.1.1. Importância	04
3.1.2. Avaliação	06
3.1.3. Classificação	06
3.1.4. Métodos	07
3.2. Fósforo (P)	08
3.2.1. Ciclo do P	08
3.2.2. Função do P	09
3.2.3. O uso do P pelo eucalipto	10
3.2.4. Interação fósforo e ambiente	11

3.2.4.1. Interação P com outros nutrientes minerais	11
3.2.4.2. Interação P com micorrizas	11
3.2.4.3. Interação genótipo com doses de P	12
3.3. Fosfatase Ácida (FAC)	13
3.4. Métodos para avaliação do status do P	16
3.4.1. Métodos bioquímicos	16
3.4.2. Métodos morfológicos (quantitativos)	17
3.5. Perspectivas do uso das metodologias para seleção	18
3.5.1. Cultura de tecidos	18
3.5.1.1. Seleção <i>in vitro</i>	18
3.5.1.2. Meio de Cultura e P	20
3.5.2. Isoenzimas	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1. Material genético	22
4.2. Experimentação de campo	22
4.2.1. Material genético	22
4.2.2. Solos	24
4.2.3. Métodos	24
4.2.3.1. Instalação dos ensaios	24
4.2.4. Área experimental	26

4.2.5. Coleta de dados	26
4.2.6. Análise estatística	26
4.3 - Experimentação <i>in vitro</i>	28
4.3.1. Material Genético	28
4.3.2. Meio de Cultura	29
4.3.3. Condições de cultura	30
4.3.4. Métodos	30
4.3.4.1. Instalação do experimento de progênies	30
4.3.5. Coleta de Dados	33
4.3.5.1. Variáveis morfológicas	33
4.3.5.2. Eletroforese de isoenzimas	34
4.3.5.3. Análise bioquímica	36
4.3.6. Análise estatística	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
5.1 - Classificação e seleção quanto à estabilidade fenotípica	38
5.2 - Cultivo <i>in vitro</i> de progênies em 5 doses de P.	38
5.2.1 - Doses de P nos experimentos <i>in vitro</i>	38
5.2.2 - Contaminação de P através das sementes e do ágar.	39
5.2.3 - Comportamento morfológico das progênies <i>in vitro</i>	39
5.2.3.1 - Correlações de variáveis de crescimento <i>in vitro</i> com variáveis de crescimento em campo.	53

5.2.4 - Comportamento bioquímico das progênies <i>in vitro</i> .	55
5.2.4.1 - Correlações de variáveis bioquímicas das plântulas <i>in vitro</i> com variáveis de crescimento em campo...	67
6- CONCLUSÕES	70
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
8 - APÊNDICE	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	- Foto do Pomar de Sementes Clonal	23
Figura 02	- Índice ambiental de <i>E.grandis</i> aos 4,3 anos de idade para variável volume	24
Figura 03	- Fotografias das plântulas de <i>E.grandis</i> aos 60 dias de cultura por classe de estabilidade em diferentes doses de KH_2PO	32
Figura 04	- Gel de agarose	35
Figura 05	- Picos de atividade da enzima FAC utilizando-se a técnica densitométrica da eletroforese	35
Figura 06	- Média das alturas das plântulas de <i>E.grandis</i> por dose de P e classe de estabilidade aos 60 dias de cultura <i>in vitro</i>	44
Figura 07	- Média do comprimento das raízes das plântulas de <i>E.grandis</i> por dose de P e classe de estabilidade aos 60 dias de cultura <i>in vitro</i>	45
Figura 08	- Média dos pares de folhas das plântulas de <i>E.grandis</i> por dose de P e classe de estabilidade aos 60 dias de cultura <i>in vitro</i>	46
Figura 09	- Média das variáveis das plântulas de <i>E.grandis</i> por dose de P, por progênie e classe de estabilidade nas 03 Atividades de Fosfatase Ácida (APs) para Folha	58
Figura 10	- Média das variáveis das plântulas de <i>E.grandis</i> por dose de P, por progênie e classe de estabilidade nas 03 Atividades de Fosfatase Ácida (APs) para Raiz	59
Figura 11	- Índice Ambiental das Aps para folha e raiz de plântulas de progênies de <i>E.grandis</i> cultivado <i>in vitro</i> em diferentes doses de P aos 60 dias	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	- Número e especificação dos tratamentos para os 5 locais de experimentação	25
Tabela 02	- DAP e ALT e respectivos <i>bi</i> (estimativa de correlação) de 9 progênies de <i>E. grandis</i> e classificação quanto à estabilidade fenotípica e produção em VCHA	28
Tabela 03	- Número de progênies ou matrizes por classe de estabilidade	29
Tabela 04	- Concentração de P na solução (mM e ppm) e de KH_2PO_4 nas cinco doses de P	29
Tabela 05	- Porcentagens de sementes no tamanho > 0.71 e < 0.84 mm e de sementes germinadas totais, normais, e fósforo por progênie	31
Tabela 06	- Variáveis morfológicas das progênies (plântulas)	33
Tabela 07	- Esquema de análise por experimento (análise morfológica e bioquímica)	37
Tabela 08	- Análise de Variância (ANAVA), teste F e nível de significância para número de par de folhas e tipo de raiz de plântulas de <i>E. grandis</i> aos 30 dias de cultivo <i>in vitro</i> em 5 doses de P	40
Tabela 09	- Análise de Variância (ANAVA), teste F e nível de significância para altura, comprimento de raiz, par de folhas e peso da matéria seca da parte aérea e da raiz de plântulas de <i>E. grandis</i> aos 60 dias de cultura <i>in vitro</i> em 5 doses de P	40
Tabela 10	- Média das variáveis das plântulas de <i>E. grandis</i> por dose de P, por progênie e classe de estabilidade, aos 30 dias de cultura <i>in vitro</i>	42

Tabela 11	- Média das variáveis das plântulas de <i>E.grandis</i> por dose de P, por progênie e classe de estabilidade, aos 60 dias de cultura <i>in vitro</i> .	43
Tabela 12	- Médias por classe de estabilidade fenotípica para diferentes variáveis de crescimento de plântulas de <i>E.grandis</i> após 30 dias de cultura <i>in vitro</i> em diferentes doses de P	47
Tabela 13	- Médias por classe de estabilidade fenotípica para diferentes variáveis de crescimento de plântulas de <i>E.grandis</i> após 60 dias de cultura <i>in vitro</i> em diferentes doses de P	48
Tabela 14	- Análise de regressão linear por progênie de <i>E.grandis</i> aos 30 dias de cultura <i>in vitro</i>	49
Tabela 15	- Análise de regressão linear por progênie de <i>E.grandis</i> aos 60 dias de cultura <i>in vitro</i>	50
Tabela 16	- Dados médios das variáveis do crescimento de progênies de <i>E.grandis</i> em campo (teste analisado aos 4.3 anos) e <i>in vitro</i> (teste aos 60 dias) e respectivos valores de <i>b</i> nas 5 doses de P por progênie	52
Tabela 17	- Dados de Vdi das variáveis de campo e <i>in vitro</i> nas 5 doses de P por progênie	53
Tabela 18	- Classes de estabilidade fenotípica das progênies de <i>E.grandis</i> estudadas	54
Tabela 19	- R^2 (%) para todas variáveis de crescimento analisadas aos 60 dias por de cultura <i>in vitro</i> por progênie pelo método Eberhart & Russel (1966)	55
Tabela 20	- Análise de variância (ANAVA), teste F e nível de significância das atividades dos picos da enzima fosfatase ácida (APs)	56

Tabela 21	- Média das variáveis de crescimento das plântulas de <i>E.grandis</i> por nível de P, por progênie e classe de estabilidade nas 03 Atividades de Fosfatase Ácida (APs) para folha	57
Tabela 22	- Média das variáveis de crescimento das plântulas de <i>E.grandis</i> por nível de P, por progênie e classe de estabilidade nas 03 Atividades de Fosfatase Ácida (APs) para raiz	57
Tabela 23	- Análise de regressão linear por progênie de <i>E.grandis</i> aos 60 dias de cultura <i>in vitro</i> para folha	60
Tabela 24	- Análise de regressão linear por progênie de <i>E.grandis</i> aos 60 dias de cultura <i>in vitro</i> para raiz	61
Tabela 25	- Dados médios das variáveis do crescimento de <i>E.grandis</i> em campo (teste analisado aos 4.3 anos) e bioquímicos (APs) e respectivos valores de <i>b</i> nas 5 doses de P por progênie para folha	62
Tabela 26	- Dados médios das variáveis do crescimento de <i>E.grandis</i> em campo (teste analisado aos 4.3 anos) e bioquímicos (APs) e respectivos valores de <i>b</i> nas 5 doses de P por progênie para raiz	63
Tabela 27	- Dados de Vdi das variáveis de crescimento de <i>E.grandis</i> em campo e <i>in vitro</i> nas 5 doses de P por progênie	64
Tabela 28	- Classes de estabilidade fenotípica das progênies de <i>E.grandis</i> estudadas	68
Tabela 29	- R^2 (%) para todas variáveis analisadas (bandas) aos 60 dias de cultura <i>in vitro</i> por progênie pelo método Eberhart & Russel (1966)	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AIA	: Ácido Indolacético
³³ P	: Isótopo de Fósforo (P)
Al	: Alumínio
ALT	: Altura
ANA	: Ácido Naftaleno Acético
APs	: Atividade da banda (s) da fosfatase ácida
APS	: Área de produção de sementes
AQ	: Areias quartzozas
ATP	: Trifosfato de adenosina
<i>b</i>	: Coeficiente de regressão (Coeficiente angular)
BA	: 6 Benzil Amino Purina ou Benziladenina
Ca	: Cálcio
COMPR	: Comprimento da raiz (cm)
CV	: Coeficiente de variação
DAP	: Diâmetro altura do peito
DNA	: Ácido desoxirribonucleico
F	: Teste F
FAC	: Enzima Fosfatase Ácida EC 3.1.3.2
Fe	: Ferro
GL	: Grau de Liberdade
GM	: Meio de Cultura Gonçalves 1980 modificado
IA	: Índice ambiental
Km	: Constante de Michaelis Menten
Mg	: Magnésio
Mn	: Manganês
N	: Nitrogênio
NP	: Número de População
P	: Fósforo
PARFOL	: Número de par de folhas (n°)
Pi	: Fósforo inorgânico
P.M.	: Peso molecular
Pr	: Progenie
PSAERE	: Peso da matéria seca da parte aérea (g)
PSRADI	: Peso da matéria seca do sistema radicular (g)
PSC	: Pomar de sementes clonal
PVE	: Solo podizolico vermelho escuro
R ²	: Coeficiente de variação explicada (coeficiente de correlação)
RNA	: Ácido ribonucleico
TIPOR	: Tipo de raiz
UTP	: Trifosfato de uracil
VCHA	: Volume cilíndrico por hectare (cm ³)

CRESCIMENTO E ATIVIDADE DA FOSFATASE ÁCIDA DE PLÂNTULAS DE PROGÊNIES DE *Eucalyptus grandis* HILL EX MAIDEN EM DIFERENTES DOSES DE FÓSFORO *in vitro*

Autora: ANA LUISA DE MORAES MENCK

Orientador: PROF. DR. ANTONIO NATAL GONÇALVES

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar correlações entre variáveis do crescimento em campo e *in vitro* e a atividade de fosfatase ácida de plântulas de progênes de *Eucalyptus grandis* Hill Ex Maiden cultivadas em diferentes doses de fósforo *in vitro*.

Nove progênes de *Eucalyptus grandis* foram classificadas e selecionadas quanto à estabilidade fenotípica aos 4,3 anos de idade, em 5 locais representativos do Estado de São Paulo.

As sementes das 9 matrizes (3 de estabilidade superior , 3 de estabilidade média e 3 de estabilidade inferior) foram germinadas e cultivadas *in vitro* em 5 doses diferentes de fósforo , como fonte de variação ambiental .

As avaliações do crescimento das plântulas *in vitro* foram morfológicas e bioquímicas (quantificação da atividade da enzima fosfatase ácida nas raízes e nas gemas) .

A análise dos resultados obtidos pelas avaliações , permitiram as seguintes conclusões :

1-) As avaliações aos 60 dias de cultura foram mais adequadas para as variáveis morfológicas , altura , comprimento da raiz e número de par de folhas, quando comparada com as análises aos 30 dias de cultura.

2-) O método de análise estatística proposto por Eberhart & Russel (1966) foi mais adequado tanto no comportamento morfológico como no bioquímico das progênes *in vitro*, destacado-se os valores superiores de b e R^2 (%)

3-) As correlações entre as variáveis de crescimento *in vitro* e as variáveis de crescimento em campo, para classificação de estabilidade fenotípica, mostraram :

a) 66% das progênes foram semelhantes em relação ao b das variáveis DAP e altura no campo com as variáveis morfológicas *in vitro*, altura, comprimento de raiz e número de par de folhas , e atividade da banda 2 da fosfatase ácida nas folhas.

b) 100% da banda 1 da fosfatase ácida na raiz foram semelhantes para genótipo de estabilidade superior e inferior.

4-) As progênes de classe de estabilidade superior apresentaram maiores atividades da banda 1 da fosfatase ácida do que aquelas de classe de estabilidade inferior.

5-) O método morfológico se apresentou mais adequado que o método bioquímico na seleção precoce *in vitro* para as variáveis estudadas.

GROWTH AND ACID PHOSPHATASE ACTIVITY OF *Eucalyptus grandis* HILL EX MAIDEN PROGENY SEEDLINGS IN DIFFERENT PHOSPHATE DOSES *in vitro*

Author: ANA LUISA DE MORAES MENCK

Advisor: PROF. DR. ANTONIO NATAL GONÇALVES

SUMMARY

The aim of this work was to determine correlations among growth variables in field and in vitro and the acid phosphatase activity of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden progeny seedlings in different phosphate doses *in vitro*.

Nine *E.grandis* progenies were selected and graded in relation to the phenotypic stability in five representative sites of the state of São Paulo at the age of 4.3 years.

The seeds of 9 mother trees (three of higher, three of intermediary and three of lower stability) were germinated and cultivated in five different phosphate doses *in vitro*.

The evaluations of the seedlings growth *in vitro* were morphological and biochemical (quantification of the acid phosphatase in seedlings shoots and roots).

The analysis of the results allowed to draw the following conclusions :

1-) The evaluations at the 60th day of culture were the most adequate for the variables height, root length and number of leaves pair ;

2-) The statistical analysis proposed by Eberhart & Russel (1966) was the most adequate for the morphological and the biochemical behaviour of the progenies *in vitro*, showing higher values for b and R^2 (%);

3-) The correlations among *in vitro* and in field growth variables for the phenotypic stability grading showed :

a) 66 % of the progenies had similar b values for the variables DBH and height in the field and height, root, length, number of leaves pair and the band 2 activity of the acid phosphatase in the shoots ;

b) 100 % of the band 1 activity of the acid phosphatase in the roots were alike for genotypes of higher and lower stability ;

4-) The progenies of the higher stability class showed higher activities for band 1 of the acid phosphatase than those of lower stability class ;

5-) The morphological evaluation showed to be more adequate than the biochemical evaluation for the early selection *in vitro* of the studied variables.

1. INTRODUÇÃO

A implantação de florestas de eucalipto no Brasil tem sido crescente em solos de cerrado onde o fósforo é um dos nutrientes mais limitantes no crescimento vegetal (Neves, 1987).

Devido a razões econômicas e logísticas, aliadas a baixa eficiência no uso do fósforo, a quantidade de fósforo adicionado em florestas é hoje muito aquém das necessidades que ocorrem deste elemento (Ballard, 1980). Desta maneira, a utilização de materiais genéticos mais eficientes são de extrema importância na manutenção da produtividade.

A seleção de genótipos especialistas para condições ambientais particulares tem se mostrado oneroso e com riscos de perdas de produtividade decorrente da interação com as variações ambientais (solo, clima, técnicas de manejo, etc.). A seleção de genótipos estáveis com bom crescimento em condições marginais mas responsivo a adição de fertilizante, tem se mostrado uma técnica segura e racional no uso dos recursos.

Apesar disto, a implantação de materiais genéticos em vários locais representativos da região estudada e o acompanhamento dos experimentos, durante vários anos, são requeridos quando se quer retorno seguro na seleção dos genótipos estáveis.

A seleção precoce é uma ferramenta muito importante quando se quer minimizar estes fatores, desde que a correlação juvenil x adulto, para as características estudadas seja alta. O desenvolvimento de técnicas de seleção de

mudas *in vitro* , monitorando a fisiologia de sementes e /ou gemas , ao invés de testar plantas inteiras *in vivo* , é um teste relativamente simples de seleção de espécies florestais .

A seleção *in vitro* é uma alternativa bastante promissora para condições específicas, sem que haja interferência de variáveis que normalmente ocorrem na natureza, além de ganhar tempo e reduzir custos.

O uso de métodos morfológicos e bioquímicos como a eletroforese e análise enzimática da fosfatase ácida nas plântulas, surgem como mais uma alternativa na seleção precoce de genótipos estáveis e eficientes em fósforo.

2. OBJETIVOS

- a) Classificar quanto à estabilidade fenotípica, 22 progênies de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden cultivados em 5 sítios ou locais diferentes, aos 4 anos de idade.
- b) Selecionar 9 progênies típicas de 3 classes distintas, sendo: 3 de estabilidade superior, 3 de média e 3 de inferior.
- c) Cultivar *in vitro* as 9 progênies, a partir de sementes em 5 doses de fósforo como fonte de variação ambiental, detectando variáveis fenotípicas (quantitativas), bioquímicas e/ou genéticas, que diferenciem os materiais.
- d) Determinar correlações de variáveis dos resultados obtidos *in vitro* com aqueles obtidos para o mesmo material genético cultivado no campo, viabilizando ou não a seleção precoce *in vitro* para a situação estudada.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Interação genótipo x ambiente

3.1.1. Importância

Segundo Vencovsky¹, como estratégia de melhoramento genético de plantas existem duas linhas básicas a seguir:

- a) Obtenção de genótipos especialistas que utilizam a interação genótipo x ambiente;
- b) Obtenção de genótipos generalistas ou mais estáveis.

A interação genótipo por ambiente tem sido muito explorada na área florestal, na detecção de genótipos produtivos e específicos para condições ambientais particulares (Mora, 1986; Mori²).

Entretanto, quando se utiliza estratégias visando a seleção de genótipos específicos, o número de genótipos e ambientes pode se tornar elevado e de difícil condução. Além do mais a constante mudança nas condições climáticas e de manejo dos locais de implantação, dificulta antever se o genótipo especialista vai

¹ VENCovsky, R. Modelos estatísticos e implicações na estabilidade fenotípica. Trabalho apresentado na Reunião de Programa Cooperativo na Área de Melhoramento Florestal IPEF/SIF/ESALQ/UFV, São Paulo, 1988.

² MORI, E.S. Avaliação da estabilidade fenotípica em progênies de *Eucalyptus saligna* em São Paulo. Trabalho apresentado na Reunião de Programa Cooperativo na Área de Melhoramento Florestal IPEF/SIF/ESALQ/UFV, São Paulo, 1988.

adaptar as mudanças de tecnologia, podendo haver perdas decorrentes da interação (Mori²; Ramalho³, 1989; Jayasekera, 1982).

Desta maneira, a utilização de genótipos estáveis torna a seleção mais segura (Jayasekera, 1982).

Devido ao alto custo de implantação dos materiais genéticos em diferentes locais, a determinação da estabilidade tem sido utilizada pelos melhoristas apenas na fase final de um programa de melhoramento (Vencovsky⁴, 1988).

Segundo Kalil Filho (1983), um material genético é considerado estável quando responde positivamente as variações ambientais, podendo ser a nível populacional (clones, progênies, procedências) ou individual.

Conceitualmente, a homeostase constitui num fator de evolução e sobrevivência sob condições naturais, sendo que os indivíduos heterozigotos exibem uma maior estabilidade que os homozigotos (devido a maior variabilidade genética para ser liberada nas variações ambientais), (Mori⁵).

Do ponto de vista bioquímico um complexo enzimático ou mistura de enzimas confere vantagens a um indivíduo submetido a amplas variações ambientais (Haldane 1954), sendo que este complexo pode resultar de um ou mais genes no estado heterozigoto ou de um ou mais alelos interagindo em diferentes locais (Kalil Filho, 1983).

³ RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; ZINMERMANN, M.J. de. **Genética quantitativa aplicada ao melhoramento do feijoeiro**. cap. 4 : Interação dos genótipos por ambientes, 1989. (apostila de aula).

⁴ VENCOVSKY, R. Modelos estatísticos e implicações na estabilidade fenotípica. Trabalho apresentado na Reunião de Programa Cooperativo na Área de Melhoramento Florestal IPEF/SIF/ESALQ/UFV, São Paulo, 1988.

⁵ MORI, E.S. Avaliação da estabilidade fenotípica em progênies de *Eucalyptus saligna* em São Paulo. (Trabalho apresentado na Reunião de Programa Cooperativo na Área de Melhoramento Florestal IPEF/SIF/ESALQ/UFV, São Paulo, 1988)

3.1.2. Avaliação

Em todas situações em que for avaliado mais de um material genético em mais de um ambiente é possível determinar a interação genótipo por ambientes.

Segundo Vencovsky⁶, numa avaliação de estabilidade os genótipos envolvidos podem ser de qualquer natureza (clones, progênies, procedência, etc) e as condições ambientais podem abranger qualquer fator de interesse, artificial ou natural (níveis de estresse hídrico, mineral, diferentes locais de teste, etc), sendo que o ideal é conhecer os fatores que a estabilidade se manifestou.

Almeida (1994),utilizando-se doze híbridos biclonais de cacau no estadio adulto , avaliou o potencial agronômico e genético e estimou correlações fenotípicas , genotípicas e de ambiente entre dez caracteres agronômicos. O caráter , taxa de assimilação líquida avaliado na fase juvenil , foi suficiente para explicar cerca de 69,0% da variação do peso das sementes úmidas por planta no estadio adulto , evidenciando a possibilidade de utilização da seleção precoce em cacau.

3.1.3. Classificação

Becker (1981) classifica a estabilidade fenotípica em dois conceitos básicos :

- a) O genótipo estável deve ter a mínima variância sob diferentes condições ambientais (conceito biológico);

⁶ VENCOVSKY, R. Modelos estatísticos e implicações na estabilidade fenotípica. (Trabalho apresentado na Reunião de Programa Cooperativo na Área de Melhoramento Florestal IPEF/SIF/ESALQ/UFV, São Paulo, 1988)

b) O genótipo estável é aquele que acompanha a média de todos os genótipos para todos os ambientes testados (conceito agrônômico).

O comportamento do primeiro conceito não é desejável, pois o genótipo não acompanha as melhorias do ambiente e é associado a baixas produtividades. Este tipo só é interessante se o indivíduo apresentar máxima produtividade em todos os sites (Davide, 1990).

Lin et al. (1986), classificou em 3 tipos de estabilidade. Além dos dois já citados a estabilidade tipo 3, baseada em Eberhart Russel (1966), é aquela que o genótipo é estável quando o quadrado médio do desvio de regressão for pequeno.

Segundo Davide (1990), a estabilidade de um genótipo é dada em função de um coeficiente de regressão (b) e da sua produtividade média (Y), sendo que para a estabilidade no conceito biológico o material mais estável terá $b = 0$ e no conceito agrônômico $b = 1$. Esta técnica considera que o índice ambiental, média dos genótipos em cada ambiente, é variável independente e a produtividade média de cada genótipo é variável dependente.

Quando $b = 1,0$ o genótipo é estável e sua adaptabilidade será totalmente dependente da produtividade.

Quando $b > 1,0$ a estabilidade será baixa e apresentará adaptação específica aos melhores ambientes - é um genótipo responsivo.

Se $b < 1,0$ a estabilidade será acima da média com adaptabilidade aos piores "sites" (genótipo não responsivo).

3.1.4. Métodos

Segundo Jayasekera (1982), os métodos de determinação de estabilidade só são possíveis se a resposta do material genético a variação de ambientes for

linear. Desta maneira, o uso do coeficiente de regressão tem sido eficiente (Finlay & Wilkinson, 1963).

Quando as respostas não são lineares a variância de cada tratamento sob todas as condições testadas pode ser usada como índice de estabilidade.

Vários são os métodos de determinação da estabilidade fenotípica, sendo que os desenvolvidos por Finlay & Wilkinson (1963) e Eberhart & Russel (1966), tem sido utilizados com maior frequência em espécies florestais.

Segundo Ramalho (1989), a metodologia de Finlay & Wilkinson (1963), envolve a análise de regressão linear simples, onde o índice ambiental é a variável independente (x) e a produtividade média de cada material genético em cada ambiente é a variável dependente. A estabilidade é fornecida em função do coeficiente de regressão (b) e de sua produtividade média.

A metodologia de Eberhart & Russel (1966) é semelhante a de Finlay & Wilkinson (1963), diferindo basicamente em que os dados são analisados sem serem transformados e é estimado o desvio de regressão.

A cultivar ideal, segundo Eberhart & Russel (1966), é aquela com produtividade média alta, coeficiente de regressão igual a unidade ($b = 1,0$) e com desvios da regressão o menor possível, ou seja, com resposta positiva a melhoria do ambiente.

3.2. Fósforo (P)

3.2.1. Ciclo do P

O fósforo ocorre na litosfera na ordem de 0,12%, na forma de fosfatos pouco solúveis como os de Ca, Al, Fe e Mn, podendo ainda, ficar retido na argila em forma de aniônio trocável, não disponível para a planta (Epstein, 1975).

O fosfato entra na biosfera ao ser absorvido pelos microrganismos e plantas (Epstein, 1975), sendo que em pH normal o H_2PO_4^- é o íon predominante e pode ser facilmente transportado, enquanto que em pH alto o íon HPO_4^- predomina e é absorvido por um mecanismo separado (Bieleski, 1983).

O fósforo é, junto com o nitrogênio, o nutriente que mais prontamente transloca na planta, podendo retranslocar pelo floema, a partir de folhas velhas antes da abscisão.

A absorção é considerada o primeiro passo no transporte do íon, sendo que a maioria dos fósforos inorgânicos (P_i) entram na raiz através dos pelos radiculares ou das camadas externas da célula. As células corticais internas contribuem quando a transpiração da planta é grande (Bieleski, 1973).

Após absorção o íon é transferido da raiz para o xilema por simplastia (plasmalema), seguido por apoplastia (parede celular), (Bieleski, 1983).

3.2.2. Função do P

O fósforo faz parte de todos organismos vivos, pois está presente no DNA e RNA molecular.

Além de ter a função de formação da cadeia estrutural unindo as letras do código genético (desoxiribonucleotídeos), o fosfato terminal do RNA tem a função de transferência de energia de ativação e transporte dos aminoácidos, tradução do código genético, síntese de proteínas e transferência com reconhecimento do código genético (Bieleski, 1983).

A presença do P na formação e síntese de ácidos nucleicos é considerada pequena quando comparada com outras atividades metabólicas nas plantas

Segundo Bieleski (1983), para cada 1000 átomos de P envolvidos na produção de ATP e UTP, 250 são envolvidos na síntese de carboidratos, 150 na

fotossíntese, 60 na troca e síntese de fosfolípidos, 15 na troca e síntese de RNA e 1 na troca e síntese de DNA.

3.2.3. O uso do P pelo eucalipto

Os povoamentos de eucalipto no Brasil vem sendo implantados em áreas de cerrado, onde o fósforo (P) é um dos nutrientes mais limitantes no crescimento vegetal (Neves, 1987).

Barros (1986) indica que os níveis críticos de P no solo para plantio de eucalipto deve ser de 4 ppm para solos argilosos e 8 ppm para solos arenosos.

Inúmeros são os trabalhos que estudam o uso do P pelo eucalipto em diversas idades, concluindo que em idades mais jovens há necessidade de maior quantidades de P para produzir a mesma quantidade de matéria seca (Pereira et al., 1983; Tynker, 1980; Vale, 1982; Barros, 1986; Vetorazzo, 1989).

Barros (1986) concluiu que para obtenção de mudas de eucalipto para o plantio até 85 dias, após semeadura, é necessário que se contenha no solo aproximadamente 55 ppm de P, enquanto que se este período for estendido para 135 dias este valor pode ser reduzido para 10 ppm.

Barrow (1977) observou em experimento com "seedlings" de 5 espécies nativas da Austrália, incluindo 3 de eucalipto, que a resposta das espécies a adição de diferentes níveis de fósforo por mais de 20 semanas parece ter sido afetado pela reserva de fósforo das sementes. Plântulas de sementes menores responderam mais rapidamente que as sementes maiores.

A maior exigência de P, pelo eucalipto na fase inicial, em relação a outras espécies de ciclo anual, deve ser decorrente da constante cinética de absorção de P, o km, ser maior para o eucalipto em relação ao milho (Vale, 1982).

A queda do nível crítico no solo, com o crescimento do eucalipto, deverá se dar pela diminuição do seu km e/ou pelo aumento do sistema radicular, aspecto da maior importância na absorção de P (Tynker, 1980).

3.2.4. Interação fósforo e ambiente

3.2.4.1. Interação P com outros nutrientes minerais

Segundo Bielieski (1973), o aumento de P_i no solo pode melhorar o suprimento de Fósforo inorgânico (P_i) para a raiz de duas maneiras, aumentando a quantidade disponível e a velocidade de difusão.

A eficiência de fertilização do fósforo tem sido associado com reações envolvendo fosfato e certos cátions, principalmente Ca, Al e Fe. Quantidades normais destes cátions asseguram a concentração de P na solução do solo em pelo menos 1 ppm na maioria dos solos (Adam, 1980).

O fósforo atua em muitas reações metabólicas na planta que são muito dependentes de muitos íons, quer seja como ativadores de sistemas enzimáticos como carregador de elétrons.

A interação do P_i com outros íons ocorre quando este está em níveis normais ou excessivos, afetando a absorção pela planta de outros íons ou quando estes últimos, em excesso, afetam a utilização de fósforo (Adam, 1980).

3.2.4.2. Interação P com micorrizas

As micorrizas aumentam a concentração de P_i na planta através da afinidade de transformação do P insolúvel para solúvel e pelo aumento da capacidade de absorção pelas hifas (Bielieski, 1973).

Esta associação ocorre comumente em espécies florestais e auxiliam a absorção e mobilização do P do solo (Brendemuehl, 1978).

Entretanto o efeito é positivo quando a concentração de P no solo não inibe o desenvolvimento das ectomicorrizas nas raízes.

Soares (1989) em experimento com ectomicorrizas em *Eucalyptus grandis* observou efeitos positivos no crescimento e absorção de nutrientes, quando a concentração de Pi disponível no solo foi inferior a 8,6 mg/kg, enquanto que em concentração acima de 13,4 mg/kg de solo houve inibição no desenvolvimento de ectomicorrizas nas raízes novas.

Fosfatase ácida (FAC) vacuolar foi encontrada em raízes de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake in vitro em ambos isolados de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch (pinus e eucalipto) 4 horas após inoculação. (Lei et al., 1990).

3.2.4.3. Interação genótipo com níveis de P

A aplicação cara do fósforo, aliada a baixa eficiência no uso de fertilizantes, justificam a utilização de genótipos mais eficientes no uso de fósforo.

Na prática, o genótipo ideal seria aquele que tem bom crescimento em condições de nutrição marginal, mas que responde bem a adições de fertilizantes (Ballard, 1980).

Embora exista alguma evidência de que a interação fertilizante x genótipo não é tão forte como frequentemente se suspeitava (Mateziris & Zobel, 1976), vários são os autores que tem explorado esta interação.

Segundo Smith & Goddard (1973), a interação genótipo x exigência nutricional, tem sido explorada principalmente entre espécies e muito pouco dentro de espécies.

Silva (1983), observou que de 5 espécies de *Eucalyptus* estabelecidas em solos de baixa fertilidade, o *E. grandis* foi a espécie que mais eficientemente

utilizou os nutrientes P e K, em função das produtividades apresentadas, produzindo 34% a mais de biomassa e utilizando-se 15% a menos de nutrientes que o *E. saligna*, que foi a segunda espécie mais produtiva em termos de utilização de nutrientes.

Rodrigues (1986) estudando relações de parâmetros silviculturais de *E. saligna* com concentrações de P, K, Ca e Mg, observou que as variações existentes no conteúdo de nutrientes entre os materiais genéticos, mostram boas perspectivas de utilização desta variável no melhoramento genético, permitindo selecionar indivíduos mais produtivos e eficientes do ponto de vista nutricional.

Waring & Snowdon (1986) trabalhando com três progênes de meios irmãos de *Pinus radiata*, verificou que a fonte de fósforo interagiu com o material genético, sendo perigosa a seleção baseada em uma fonte de material genético.

Janromi (1976) analisando a incorporação do ^{33}P nas frações fosfato de ácido solúvel, ácido nucleico e proteína fosfolipídica em raízes de "seedling" de 3 famílias de *Pinus* sob 5 níveis de N/P, verificou que houve interação famílias x níveis de fósforo na acumulação e translocação de P para as gemas. O estudo indicou que a seleção precoce de "seedling" de *Pinus elliotti* para incorporação de fosfato nas frações metabólicas pode ser conduzida correlacionada com o crescimento.

3.3. Fosfatase Ácida (FAC)

As FACs são enzimas presentes nos tecidos das plantas, podendo ser ou não específicas em diferentes substratos. Em tecidos maduros, ela fica normalmente localizada nos vacúolos, enquanto que na senescência ela se localiza no citoplasma (Bielecki, 1973).

O papel da FAC não está bem estabelecido, mas acredita-se que esta enzima seja um agente de transporte de Pi na forma acidental ou hidrolizando os P esterres, transformando o P não disponível em Pi (Bieleski, 1973).

Segundo o Workinton Enzyme Manual (1977) o número da enzima é EC 3.1.3.2 trata-se de um monoéster ortofosfórico + H₂O = álcool + ortofosfato ou fosfomonoesterase ácida ou fosfomonoesterase glicero fosfatase.

Mc Lachlan (1976), sugere que a fosfatase seja uma enzima adaptativa e que sua atividade pode ser utilizada para aproveitar o fósforo existente em situação de baixa disponibilidade.

Duff (1991 e 1994) cita que a FAC intra e extra celular são componentes integrais da resposta à deficiência ao Pi que comumente ocorre ao acaso. O mesmo autor , em 1994 , comenta que a expressão da FAC é influenciada por fatores ambientais

Helal (1990) cita que a significância prática da FAC na eficiência nutricional das plantas não é ainda bem clara, entretanto, plantas com alta atividade de fosfatase tem o potencial de utilizar o fósforo orgânico do solo.

Ueki & Sato (1977) estudando a regulação na síntese de fosfatase em cultura de células de *Nicotiana tabacum*, separando fosfatases intra e extra celulares, observaram que após adição de Pi a síntese ou fosfatase é reprimida, mas não ocorre inativação das enzimas pré existentes.

A correlação inversamente proporcional a concentração de fósforo em soluções com a atividade da FAC em plantas tem sido observada por diversos pesquisadores:

Hevitt & Tathan (1960), relatam um aumento de 20 vezes na atividade da FAC em folhas de tomates deficientes em fósforo.

Furlani (1984) associou a alta atividade da FAC à baixa concentração de fósforo, na cultura de sorgo, e relatou que plantas cultivadas em fósforo orgânico tem menor atividade da FAC do que aquelas cultivadas em fósforo inorgânico.

O'Connell & Grove (1985) estudando a atividade da FAC solúvel em diferentes tecidos de "seedlings" e árvores de 5 anos de idade de *Eucalyptus diversicolor*, a níveis de 0 a 1250 mg P/kg de solo, verificaram que a atividade foi alta a baixos níveis de fósforo e decresceu com o suprimento de fósforo, independente do tipo de tecido. A atividade foi maior em gemas do que em ramos adultos. Entretanto, a variação relativa ao decréscimo de P foi maior em ramos (4,3 vezes), que em gemas jovens (2,7 vezes).

Zaini & Mercado (1985 a) observaram em estudos *in vitro* de 2 cultivares de arroz, que a atividade da FAC foi inversamente proporcional a absorção e concentração de fósforo na solução, sendo que a variedade mais eficiente ao uso de P foi a resistente ao Al, mostrando menor atividade da FAC.

Vetorazzo (1989) estudando comportamento de 8 clones de *Eucalyptus grandis*, em solos Podzólico Vermelho Escuro (PVE) e Areia Quartzosa, encontrou baixa correlação entre atividade da FAC e a concentração de P a nível de média de clones e tendência a correlação negativa da fosfatase e a altura das plantas somente no ensaio PVE.

Duff (1991) em cultura celular de *Brassica nigra*, encontrou duas FACs induzidas, fosfoenol piruvato e parede celular não específica. O aumento da atividade das duas isoenzimas ocorreu como consequência da deficiência de Pi na suspensão celular.

Vários são os fatores que podem afetar a atividade da FAC nas plantas, quando analisadas em campo.

Kucey (1982) cita que a micorriza pode alterar a atividade enzimática do sistema radicular hospedeiro, fazendo com que haja mais absorção de fósforo.

Este resultado pode variar com o fungo e o hospedeiro usados e o solo que a planta está crescendo.

Zaini & Mercado (1985b) estudando interações de nutrientes com a atividade da FAC em arroz, comentam que o alto teor de Al pode indisponibilizar o Pi para a planta, aumentando a atividade da enzima, devido a deficiência de Pi.

A adição de Ca melhora a absorção de P, diminuindo a atividade da enzima, enquanto que o acréscimo de Al ou Mn, que reduzem a absorção de Ca e P, aumentam a atividade (Zaini & Mercado, 1985c).

O'Connell & Grove (1985) analisando a atividade da FAC de folhas maduras de *E. diversicolor*, verificou que sob altos níveis de fósforo a atividade foi independente da adição de nitrogênio, enquanto a baixos níveis de fósforo esta atividade diminuiu com o acréscimo do nível de N.

3.4. Métodos para avaliação do status do P

3.4.1. Métodos bioquímicos

Segundo O'Connell & Grove (1985), para determinação do status de fósforo na planta, a atividade da FAC é uma ferramenta indicada quando o suprimento de fósforo limita o crescimento, mas quando o fósforo está em níveis adequados, a determinação da concentração de fósforo é mais eficiente.

Besford (1978) sugere que a atividade da FAC pode ter potencial como índice bioquímico de deficiência de P, visto a resposta ser grande e ocorrer antes do aparecimento de sintomas de deficiência.

Furlani (1984) concluiu que a FAC de plantas de sorgo aparentam ser um indicador do status de P ou estresse de deficiência da planta, mas não a natureza do fósforo que é mais utilizável pela planta.

Duff (1991) estudando a resposta à deficiência de fósforo em cultura de células de *Brassica nigra*, utilizou, entre outros métodos, a determinação da atividade enzimática, a extração e quantificação das proteínas e eletroforese em gel de poliacrilamida e verificou que o nível da atividade enzimática foi consequência direta da quantidade de proteína enzimática presente nas células e da deficiência de P na solução. A intensidade das bandas revelada no gel de poliacrilamida, diminuiu com o aumento do P_i .

O'Connell & Grove (1985) e Vetorazzo (1989) utilizaram o procedimento da técnica colorimétrica de Bessey et al. (1946) e adaptada por Baret Lennard et al. (1982) para medir a atividade da FAC solúvel em tecidos de *Eucalyptus spp.*

Zaini & Mercado (1985a) utilizaram raiz intacta de arroz com uso de p-nitrophenyl fosfato como substrato enzimático da fosfatase presente nas raízes. Em solução alcalina o p-nitrofenol é convertido num complexo amarelo, cuja intensidade de cor é proporcional a atividade enzimática.

3.4.2. Métodos morfológicos (quantitativos)

Utilizando-se vários níveis de P no substrato, partindo-se do zero, várias são as formas de quantificar o seu efeito na planta:

- . Plântulas - número, comprimento e peso seco das raízes, altura e peso seco da parte aérea, número de folhas etc.

- . Plantas adultas - dependendo da finalidade : massa seca, volume, produção de frutos, grãos e sementes.

Grose (1989) trabalhando com "seedlings" de *Tilopea speciosissima* (Waratahs) por 14 semanas em 10 regimes de fosfato de 0 a 31 mg P/Kg na forma de KH_2PO_4 , verificou que o comprimento das raízes aumentaram a baixos níveis de fosfato, mas o peso seco não. O número de raízes aumentou do nível deficiente

(Po) até baixos níveis e decresce onde o fosfato torna adequado ao crescimento da planta.

Fageria (1981) e Oliveira (1987) classificaram cultivares de arroz e feijão, respectivamente, tolerantes a baixo nível de fósforo, através de um índice de eficiência (α) baseado na produção a dois níveis de fósforo (baixo e alto). Foram classificados em 4 grupos : cultivares eficientes não responsivos, eficientes responsivos, não eficientes responsivos e não eficientes não responsivos.

3.5. Perspectivas do uso das metodologias para seleção

3.5.1. Cultura de tecidos

3.5.1.1. Seleção *in vitro*

A cultura de tecidos é uma técnica que vem sendo usada de forma crescente pelos melhoristas, pois além de propagar genótipos desejáveis pode ser utilizado para seleção em condições específicas, sem interferência de variáveis que normalmente ocorrem na natureza, além de reduzir tempo e custos no processo de seleção (Mix, 1990).

Segundo TAL (1982), a aplicação desta técnica no melhoramento e adaptação de plantas a estresses é relativamente recente. O mesmo autor considerou os principais estresses, aqueles que produzem na natureza os efeitos mais profundos nas plantas, isto é, temperatura e água em *Eucalyptus microtheca* e *Pinus taeda* (Morabito et al, 1994 e Newton et al, 1989) em estresse à radiação, fungos fusiformes em *Pinus taeda* (Gray et Amerson, 1984, Jansen 1990) e em "seedlings" de *Populus* (Jansen 1990 e 1991). A seleção de plantas *in vitro* é normalmente explorada em tecidos e células através de cultura de calos (indução a mutação), crescimento em condições de estresse e regeneração de plantas (Tal,

1982), sendo que a grande dificuldade na utilização desta técnica é a regeneração da planta inteira.

Poucos trabalhos foram feitos na seleção *in vitro* de "seedlings" e gemas, utilizando-se a variabilidade natural. Esta metodologia é bastante promissora na seleção precoce, desde que a correlação juvenil x adulto, para as características estudadas, seja alta.

Barlass & Skene (1978) obtiveram alta correlação no comportamento das variedades de *Vitis vinífera* (uva), mais e menos resistentes ao NaCl na cultura de gemas apicais *in vitro* e estacas enraizadas, fazendo com que a seleção preliminar *in vitro*, em condições salinas seja viável.

Duff (1991) estudou níveis de P em células e "seedlings" de *Brassica nigra*, encontrando altas correlações nos resultados entre esses dois tipos de material.

Na seleção de plantas ao estresse iônico, a determinação da toxidez e resistência ao íon é dificultada pelas complexas interações dentro e entre íons e vários outros fatores dentro do organismo (Levitt, 1980). Apesar disto há fortes evidências que as plantas diferem na resistência/tolerância aos íons.

Segundo Williams (1993), a cultura *in vitro*, hoje, é baseada em poucas formulações básicas, deixando de lado o nível ótimo de nutrientes que requer cada genótipo de uma espécie de planta. Além do mais, cita a concentração de P em diferentes marcas de agar (desde 42 da Bacto até 1300 ug da Merck).

3.5.1.2. Meio de Cultura e P

Segundo Bielecki (1973), em condições de cultura estática e de volume limitado, a concentração de Pi utilizado é de 1 - 5 m M, para soluções em movimento (contínuas) a concentração ótima é de 1 - 10 uM, semelhante a solução do solo.

O fósforo é absorvido pelas plantas na forma de íon H_2PO_4 e é nesta forma que é acrescentado aos meios de cultura (Caldas et al., 1990).

No meio Murashige & Skoog (1962) o fosfato de potássio monobásico é usado na concentração de 1,25 m M, sendo que para algumas espécies a complementação com um nível de fosfato de sódio monobásico tem sido benéfico (Murashige, 1977).

Gonçalves (1983) em trabalhos com *E. urophylla*, utilizou o meio Gonçalves (1980), que continha 1,25mM de fosfato de potássio monobásico.

Outras fontes orgânicas de fósforo tem sido usadas como fitato de sódio, glicose - 6 fosfato, frutose - 6 fosfato e adenosina, sendo que se mostraram tão eficazes quanto ao fosfato inorgânico na promoção de crescimento dos tecidos *in vitro* (Caldas et al., 1990).

Em cultura de *Actinidia deliciosa* C.F Liang , Mezzeti et alii, 1991, mostraram que o conteúdo inicial de P no meio MS foi insuficiente após 30 dias de cultura (94.5% absorvido pelos explantes).

Segundo Williams (1993), a concentração de P decresceu, em *Ptilotus exaltatus*, após a 4a semana *in vitro* , e cessou sua disponibilidade na 6a coincidindo com a diminuição do efeito do crescimento da planta. Isto mostra que o P pode ser um fator limitante na cultura *in vitro*.

Higashi⁷ et al, entre outras conclusões verificaram que se deve ter cuidado no monitoramento e preparo do meio de cultura e que clones diferentes se comportam de maneira diferenciada em relação a deficiência de macronutrientes .

3.5.2. Isoenzimas

Apesar de apresentar limitações, a técnica de isoenzimas é a melhor maneira de avaliar diretamente o status dos recursos genéticos das espécies (Moran & Bell, 1983).

Dentro da seleção precoce para estabilidade, via análise enzimática, é possível explorar as seguintes avaliações:

Atividade da FAC na resposta das plântulas *in vitro* aos diferentes níveis de fósforo, através da análise do nível enzimático e da intensidade das bandas via eletroforese (Duff, 1990);

Grau de polimorfismo nos genótipos, observada via eletroforese baseado na hipótese de que um indivíduo ou família polimórfica (complexo enzimático), dentro de uma população pode ser geneticamente mais estável.

Segundo Rood & Pharis (1987), a condição heterozigótica para um dado gene é ocasionada para conferir um potencial fenotípico superior ao indivíduo. Ao nível molecular a teoria da sobredominância ocorrida nos híbridos pode envolver polimorfismo enzimático (Swartz, 1969).

⁷ HIGASHI, E.N.; POMPERMAYER NETO, P.; GONÇALVES, A.N. et all. Diagnose de deficiências minerais *in vitro*. Trabalho apresentado na Reunião de Programa Cooperativo de Macropropagação e Micropropagação IPEF/ESALQ, Piracicaba/SP, 1995.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Material genético

As matrizes de *E. grandis*, utilizadas neste estudo são procedentes de Coff's Harbour - Austrália e originárias do Pomar de Sementes Clonal de segunda geração de melhoramento com intensidade de seleção de 1/5000, instalado em julho de 1982 na Fazenda Ariona, de propriedade da Companhia Suzano de Papel e Celulose, localizada no município de Itatinga, Estado de São Paulo.

4.2. Experimentação de campo

4.2.1. Material genético

A seleção de progênies, quanto à estabilidade, foi feita através de análise de testes de progênies, de 22 matrizes do Pomar de Sementes Clonal, implantados em 5 locais distintos. As localizações geográficas estão apresentadas no Quadro 1.

Figura 01 - Foto do Pomar de Sementes Clonal.

Quadro 1 - Características locais dos testes de progênies de *E.grandis* para seleção e índices ambientais.

Locais	Fazenda	Município (SP)	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	VCHA Médio (m ³)	Índice Ambiental *
1	Estrelas	Itapetininga	23°31'	47°51'	590	634,89	+ 204,31
2	São Roque	Capão Bonito	23°56'	48°02'	652	454,03	+ 23,49
3	Montes Claros	S. Luiz do Paraitinga	21°01'	46°01'	808	431,21	+ 0,62
4	Entre Rios	Angatuba	23°17'	48°02'	652	398,50	- 32,08
5	Pirapora	Santa Rosa do Viterbo	21°34'	47°26'	757	234,25	- 196,34
Média Geral						430,59	

- Índice ambiental é a diferença entre a média local e a média geral para volume cilíndrico(m³).Vide apêndice 2 para DAP e Altura.

Figura 02 - Índice ambiental de *E.grandis* aos 4,3 anos de idade para a variável volume.

4.2.2. Solos

Foram efetuadas análises químicas de solos dos locais dos testes para caracterização quanto aos níveis de fósforo (Apêndice 3).

4.2.3. Métodos

4.2.3.1. Instalação dos ensaios

Os testes foram instalados nos 5 locais em março e abril de 1988. Foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso, com 25 tratamentos e 3 repetições. A especificação dos tratamentos nos 5 locais estão listados no Tabela 1.

Tabela 1- Número e especificação dos tratamentos para os 5 locais de experimentação.

Ordem	Número da matriz (progênie)
01	01
02	02
03	03
04	04
05	05
06	07
07	08
08	09
09	10
10	11
11	12
12	13
13	14
14	15
15	16
16	20
17	21
18	22
19	23
20	24
21	25
22	26
23	lote comercial PSC 15D Itatinga
24	lote especial (matrizes 3,4,6 e 26) 15DE
25	lote comercial APS DUR Lençóis Paulista - SP

PSC - Pomar de Sementes Clonal

APS - Área de Produção de Sementes

As parcelas foram constituídas de 30 plantas (3 linhas de 10 plantas), com espaçamento entre plantas de 3,00 x 1,80 m.

A adubação foi a mesma utilizada pelas glebas.

4.2.4. Área experimental

Área de uma parcela	- 162 m ²
Área de um bloco	- 4050 m ²
Área do ensaio	- 1,215ha

4.2.5. Coleta de dados

Os ensaios foram avaliados aos 4,3 anos de idade, coletando-se dados de altura e diâmetro a altura do peito. A produtividade de madeira foi avaliada através do volume cilíndrico, com casca, m³ por ha (VCHA), obtido pela equação:

$$VCHA = (\pi \cdot ((DAP/2)/100)^2 \cdot ALT)$$

Onde : DAP = Diâmetro Altura do Peito (cm)

ALT = Altura (m)

4.2.6. Análise estatística

O método de classificação das progênies pela estabilidade foi o de Eberhart & Russel (1966), que pode definir a performance de um genótipo em diferentes ambientes.

O modelo matemático é o seguinte :

$$Y_{ij} = \mu_i + b_i I_j + d_{ij} + e_{ij}, \text{ onde}$$

Y_{ij} = média da variedade i no ambiente j

μ_i = média da variedade i em todos ambientes

b_i = coeficiente de regressão que mede a resposta da variedade e a variação de ambiente.

I_j = índice ambiental = média de todas as variáveis no ambiente j menos a média geral.

d_{ij} = desvio da regressão da variedade i no ambiente j .

e_{ij} = efeito do erro experimental médio.

O parâmetro de estabilidade é o coeficiente de regressão estimado de maneira usual.

$$b_i = \Sigma Y_{ij} I_j / \Sigma I_j^2$$

A partir da metodologia apresentada, as progênies foram classificadas quanto a estabilidade fenotípica, superior, média e inferior, para DAP, ALT. A seguinte tabela e figura do Apêndice 1 demostram esta estabilidade.

Tabela 2 : DAP e ALT médios e respectivos, b_i (estimativas de b) de 9 progênies de *E. grandis* e classificação quanto à estabilidade fenotípica e produção em VCHA.

CLASSE	No PROGÊNIES	DAP (cm)	b	ALT (m)	b	VCHA (m ³)
I	13	12.6	0.7308	19.2	0.7988	488.83
	20	11.9	0.6903	18.5	0.9157	417.59
	22	11.8	0.7302	18.2	0.9288	444.88
II	09	12.3	1.2542	19.1	1.0808	456.38
	12	12.2	1.1064	19.1	1.0230	450.09
	16	12.2	1.0763	19.0	0.9537	442.69
III	05	12.7	1.3060	19.5	1.0667	516.75
	14	11.9	1.6074	18.7	1.2717	424.73
	15	12.1	1.5168	19.4	1.2534	463.21

Observações :

I - Estabilidade superior ($b < 1$) : piores sites

II - Estabilidade média ($b = 1$)

III - Estabilidade inferior ($b > 1$) : responsivo

b - coeficientes de regressão relativos a DAP e altura, respectivamente com as 9 progênies.

4.3. Experimentação *in vitro*

4.3.1. Material Genético

Foram utilizadas sementes das matrizes de três progênies, por classe de estabilidade, classificadas a partir de dados de campo, perfazendo um total de 9 progênies, conforme indica a Tabela 3.

Tabela 3 - Número de progênies ou matrizes por classe de estabilidade.

Classe de estabilidade	Número das matrizes (progênie)
superior	13 ,20 e 22
média	9, 12 e 16
inferior	05, 14 e 15

4.3.2. Meio de Cultura

O meio de cultura básico foi o meio sólido de GM (1980) modificado com AIA 0,01 mg/l e BA 0,2 mg/l e distribuído em tubos de ensaio de 20 mm x 200 mm, num volume de 10 ml por tubo.

As concentrações dos níveis de fósforo que foram utilizadas na forma de KH_2PO_4 (fosfato monobásico de potássio) estão apresentados no Tabela 4.

Tabela 4 - Concentração de P na solução (mM e ppm) e de KH_2PO_4 nas cinco doses de P.

Dose de P (mM)	Concentração de P (ppm)	Concentração de KH_2PO_4 (mg/l)
0,0	0,0	0,0
0,3	9,3	40,5
0,6	18,6	81,6
1,2	37,2	163,3
1,8	55,8	244,92

4.3.3. Condições de cultura

Os materiais permaneceram em sala de crescimento, com intensidade de luz de 2.000 lux, temperatura de 27^o +/- 2^oC e fotoperíodo de 16 horas luz, 8 horas escuro.

4.3.4. Métodos

4.3.4.1. Instalação do experimento de progênies

No Pomar de Sementes Clonal, as sementes foram colhidas no terço superior da copa das 9 matrizes classificadas quanto à estabilidade fenotípica. Após beneficiamento, foram utilizadas somente as sementes de tamanho acima de 0,71 mm e abaixo de 0,84 mm. As mesmas foram esterilizadas antes de serem colocadas em placas com papel de filtro umedecido. Após germinação, as mesmas foram transferidas para meio de cultura com as 5 doses de fósforo citados na Tabela 4.

Após inoculação das sementes *in vitro*, as mesmas permaneceram em sala de crescimento durante 60 dias, quando as plântulas foram avaliadas.

Tabela 5- Porcentagens de sementes no tamanho > 0.71 e < 0.84 mm e de sementes germinadas totais, normais, anormais e fósforo por progênie.

CLASSE	MATRIZ	% SEMENTES NO LOTE > 0,71 e <0,84 mm	SEMENTES GERMINADAS (%)			NÚMERO SEMENTES VIÁVEIS POR Kg > 0,71 e <0,84 mm	P (%)
			TOTAIS	NORMAIS	ANORMAIS		
I	13	4,3	96,8	94,7	2,1	72.735	0,62
	20	7,2	93,9	89,5	4,4	201.051	1,00
	22	6,5	100,0	96,3	3,7	233.441	1,08
II	09	8,7	88,2	82,9	5,3	186.065	1,04
	12	8,6	96,3	94,0	2,3	207.105	1,00
	16	6,1	99,5	97,0	2,5	135.452	0,77
III	05	7,3	100,0	99,3	0,7	166.641	0,80
	14	4,7	100,0	98,1	1,9	127.528	0,78
	15	9,4	97,3	93,6	3,7	192.005	0,64

Observações :

- Plântulas avaliadas no 13º dia após germinação
- Data de Coleta : 11/92
- Data de Análise: 01/93

Figura 03 - Fotografias das plântulas de *E.grandis* aos 60 dias de cultura por classe de estabilidade em diferentes doses de KH_2PO_4

Estabilidade superior - Progênie 20

Estabilidade média - Progênie 12

Estabilidade inferior - Progênie 14

4.3.5. Coleta de dados

4.3.5.1. Variáveis morfológicas

As coletas de dados foram efetuadas aos 30 e 60 dias após inoculação de sementes em meios de cultura nas 5 doses de P. As variáveis analisadas estão listadas no Tabela 6.

Tabela 6 - Variáveis morfológicas das progênies (plântulas)

Variáveis	Descrição	Unidade	Avaliação Progênies	
			30	60
ALT	Altura	cm	Não	Sim
COMPR	Comprimento da raiz	cm	Não	Sim
TIPOR	Tipo de raiz	(*)	Sim	Não
PARFOL	número par de folhas	n°	Sim	Sim
PSAERE	Peso da matéria seca da parte aérea	g	Não	Sim
PSRADI	Peso da matéria seca do sistema radicular	g	Não	Sim

Observações :

(*) Critério para avaliação do tipo de raiz:

- 1 - Curta até 2 raízes
- 2 - Curta com mais de 2 raízes
- 3 - Média até 2 raízes
- 4 - Média com mais de 2 raízes
- 5 - Comprida até 2 raízes
- 6 - Comprida com mais de 2 raízes

1 e 2 , 3 e 4 , 5 e 6- Curta, média e mais comprida que a metade da altura do meio de cultura, respectivamente (altura do meio no tubo de ensaio = 3,8 cm).

4.3.5.2. Eletroforese de isoenzimas

Foi utilizado o sistema da fosfatase ácida em gel de agarose. (Figura 04).

Os materiais analisados foram ápices caulinares e radiculares das plântulas com 2 a 4 folhas aos 60 dias de cultura *in vitro*. Foram feitas 23 corridas eletroforéticas. Para cada gel, foram utilizados 2 progênies com 5 doses de P cada, num total de 450 plântulas (5 plântulas/tratamento) para o teste de progênies *in vitro*.

Para obtenção de homogeneidade no padrão eletroforético, pesou-se o tampão de extração, TRIS 0,05 M e NaCl 0,05 M, 4 vezes a mais do que o PSAERE (peso da matéria seca das folhas) e 2 vezes a mais para o PSRADI (peso da matéria seca das raízes) perfazendo 15 mg/l e 30 mg/l, respectivamente.

Houve necessidade de repetir os tratamentos 1 a 10 do bloco 1, de folha, 1 a 15 do bloco 1, 1 a 10 e 41 a 45 do bloco 2, de raiz. Para cada extrato foram utilizadas 3 plantas e tampão de extração TRIS HCl 0,1M.

Figura 04 - Gel de agarose

Figura 05 - Picos de atividade da enzima FAC utilizando-se a técnica densitométrica da eletroforese.

4.3.5.3. Análise bioquímica

Foram medidos os 3 picos de atividade da fosfatase ácida solúvel, AP(s), em tecidos das plântulas (raiz e parte aérea ou folha), utilizando-se a técnica densitométrica da eletroforese (Figura 05).

A quantificação das bandas foi baseada no Manual de Operações do densitômetro "Quick Scan Flur -Vis" do NL Comércio - Importação e Exportação F5490022 da Helena Laboratories.

A escala do alto do gráfico corresponde aos picos de fração resolvido eletroforéticamente. Os traços da escala menor do gráfico mostram um típico tracejado integrador das bandas. Os picos baixos ("vales") são a ação das bandas na linha da integral, cada pico corresponde a 10 espaços.

Para melhor caracterização da atividade da enzima FAC nas diferentes partes da plantas (folha e raiz), foram subdivididas em 3 bandas de atividade da enzima: AP1, AP2 e AP3.

4.3.6. Análise estatística

Os ensaios foram instalados em blocos ao acaso, em esquema fatorial, empregando 9 progênies, cinco doses de fósforo e seis repetições (540 plântulas por bloco). Cada parcela foi representada por 12 plântulas, sendo que 6 foram para análise bioquímica e 6 para análise quantitativa ou morfológica.

O esquema de análise está ilustrado na Tabela 7.

Tabela 7 - Esquema de análise por experimento (análise morfológica e bioquímica)

FONTE DE VARIAÇÃO	G.L.	G.L.
	Bioquímica	Morfológica
Progênie/matriz (Pr)	8	8
Doses de fósforo (P)	4	4
Interação Pr x P	32	32
Bloco	1	5
Resíduo	44	220
	89	269

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Classificação e seleção quanto à estabilidade fenotípica

Os resultados das Tabelas 1 e 2 (item 4.2.3) e do Apêndice 1 mostram que foram selecionadas e classificadas 9 entre 22 progênies com base na altura, quanto à estabilidade fenotípica aos 4.3 anos plantadas em 5 diferentes locais. A seleção e a classificação destas foram de acordo com a metodologia de Eberhart & Russel (1966). Onde, foram considerados os $b(s)$ do DAP e da ALT. Todas as progênies se mostraram semelhantes quanto à produtividade do VCHA. Pode-se verificar que os $b(s)$ da ALT mais típicos por classe de estabilidade foram:

- classe I (estabilidade superior, $b < 1$) tipicamente representada pela progênie 13.
- classe II (estabilidade média $b = 1$) tipicamente representada pelas progênies 9, 12 e 16.
- classe III (estabilidade inferior, $b > 1$) tipicamente representada pelas progênies 14 e 15.

5.2 - Cultivo *in vitro* de progênies em 5 doses de P.

5.2.1 - Doses de P nos experimentos *in vitro*

O teor de 55 ppm foi verificado por Barros (1986) como sendo máximo para plântulas de eucalipto aos 85 dias pós germinação. O teor máximo utilizado neste experimento foi de 55.8 ppm de P ou 244.92 ppm de KH_2PO_4 (Tabela 4).

5.2.2 -Contaminação de P através das sementes e do ágar.

Como pode-se observar na Tabela 5 ,o tamanho e/ou a reserva das sementes afetaram o desempenho das plântulas. Isto confirma os resultados obtidos por Barrow (1977) em sementes de eucalipto para produção de “seedlings” em vários níveis de P.

A marca do ágar influencia em diferentes contaminações minerais. Para tanto, foi feita análise do ágar utilizado no experimento (MERK) (Apêndice 4).

Apesar do ágar apresentar nível de P 0.03% (300 ppm) esta quantia é baixa quando se considera a quantia de P (média 55.8 ppm) no meio de cultura, a contaminação de P por litro de meio de cultura foi de 1.8 ppm.

Além do mais, este teor, no ágar, é idêntico em todos tratamentos do experimento.

5.2.3 - Comportamento morfológico das progênes *in vitro*.

Foram analisados os dados de crescimento das plântulas aos 30 (PARFOL e TIPOR) e aos 60 (ALT, COMPR, PARFOL, PSAERE e PSRADI) dias pós germinação e transferência *in vitro*.

Entre as progênes e os blocos, aos 30 dias , houve diferenças significativas ao nível de 5%. Entretanto, para o dose P e interação dose P x progênie não houve diferenças entre si. Isto vem mostrar que a coleta de dados, aos 30 dias, não foi adequada.

Aos 60 dias, só ocorreram diferenças significativas (ao nível de 5 e 1%) entre:

- Progênes - variáveis : ALT, COMPR e PARFOL (5%).
- Doses de P - variáveis : ALT, COMPR e PSAERE (5%).
- Blocos - variáveis : Todas.
- P x N - variáveis : Nenhuma.

Tabela 8 - Análise de Variância (ANAVA), teste F e nível de significância para número de par de folhas e tipo de raiz de plântulas de *E.grandis* aos 30 dias de cultivo *in vitro* em 5 doses de P

FONTE DE VARIAÇÃO	VARIÁVEIS			
	PARFOL		TIPOR	
	F	Significância	F	Significância
Progênie	2,61	*	2,35	*
Doses de P	1,56	n.s.	1,28	n.s.
Bloco	23,27	**	3,8	*
Progênie * Dose de P	1,11	n.s.	1,15	n.s.
C.V. (%)	15,47		26,54	
Média	2,66		2,42	

Observações :

- n.s. = não significativo
- * = significativo a 5%
- ** = significativo a 1%
- PARFOL = Média dos números de par de folha (n°).
- TIPOR = Média do tipo de raiz (Tabela 6).

Tabela 9 - Análise de Variância (ANAVA), teste F e nível de significância para altura, comprimento de raiz, par de folhas e peso da matéria seca da parte aérea e da raiz de plântulas de *E.grandis* aos 60 dias de cultivo *in vitro* em 5 doses de P.

FONTE DE VARIAÇÃO	VARIÁVEIS									
	ALT		COMPR		PARFOL		PSAERE		PSRADI	
	F	Signif.	F	Signif.	F	Signif.	F	Signif.	F	Signif.
Progênie	10,49	**	2,62	*	2,27	*	0,99	n.s.	0,77	n.s.
Dose de P	6,27	**	3,12	*	1,57	n.s.	2,62	*	1,66	n.s.
Bloco	45,64	**	27,69	**	82,76	**	12,78	**	10,05	**
Progênie * Dose P	0,79	n.s.	0,79	n.s.	0,57	n.s.	0,82	n.s.	0,74	n.s.
C.V. (%)	14,66		30,38		11,73		39,68		44,9	
Média	1,24		2,62		4,3		0,006		0,002	

Onde :

- n.s. = não significativo
- * = significativo a 5%
- ** = significativo a 1%
- ALT = Média das alturas das plântulas (cm).

- **COMPR** = Média do comprimento da raiz (cm).
- **PARFOL** = Média do número de par de folhas (n°).
- **PSAERE** = Média do peso da matéria seca da parte aérea (g).
- **PSRADI** = Média do peso da matéria seca do sistema radicular (g).

Determinando as médias de todas as variáveis por progênie e por dose de P aos 30 e 60 dias, e Teste Tukey foram obtidas as Tabelas 10 e 11.

Os dados confirmam a ANAVA, as plântulas não estão diferenciadas entre si. pelo Teste Tukey (Tabela 10), aos 30 dias pós germinação. Houve uma possível interferência do teor de P das sementes no crescimento inicial das plântulas (Tabela 05).

Aos 60 dias, apenas existiu uma pequena diferença dentro das progênies aos 5 doses de P. Considerando as progênies classificadas quanto à estabilidade, as de classe média apresentaram alguma diferença em altura (progênies 9 e 16), em comprimento de raiz (progênie 16) e número de par de folhas (progênie 12). As demais não apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 11).

Apesar do teste Tukey não ser significativo a 5% de probabilidade, houve uma tendência, principalmente para a variável altura (CV% menor), das progênies de estabilidade superior serem não responsivas a variação ambiental e as de estabilidade inferior serem responsivas ao aumento das doses de P (vide ganhos na Tabela 11 e figura 07).

Tabela 11 - Média das variáveis das plântulas de *E.grandis* por dose de P, por progênie e classe de estabilidade, aos 60 dias de cultura *in vitro*.

ALT	Classe de Estabilidade																	
	Superior						Média						Inferior					
PROGÊNIE DOSE P	13	Ganho	20	Ganho	22	Ganho	09	Ganho	12	Ganho	16	Ganho	05	Ganho	14	Ganho	15	Ganho
0	1.37	A 100	1.25	A 100	1.19	A 100	1.03	B 100	0.99	A 100	1.23	AB 100	1.09	A 100	1.28	A 100	1.04	A 100
0,3	1.39	A 101	1.23	A 96	1.28	A 108	1.09	B 106	1.13	A 114	1.13	B 92	1.07	A 98	1.31	A 102	1.09	A 105
0,6	1.44	A 105	1.21	A 97	1.38	A 116	1.10	AB 107	1.17	A 118	1.24	AB 101	1.32	A 121	1.40	A 109	1.11	A 107
1,2	1.39	A 101	1.48	A 118	1.26	A 106	1.33	A 129	1.14	A 115	1.46	A 119	1.17	A 107	1.39	A 109	1.19	A 114
1,8	1.46	A 107	1.34	A 107	1.28	A 108	1.22	AB 118	1.16	A 117	1.30	AB 106	1.13	A 104	1.41	A 110	1.17	A 113
MÉDIA	1.41		1.30		1.28		1.15		1.12		1.27		1.15		1.36		1.12	
C.V%	15.71		12.32		15.45		11.88		16.19		12.79		13.38		12.53		17.78	
COMPR																		
0	2.76	A 100	2.41	A 100	2.46	A 100	2.55	A 100	2.40	A 100	2.77	AB 100	2.35	A 100	2.76	A 100	2.56	A 100
0,3	2.90	A 105	2.33	A 97	2.74	A 111	2.55	A 100	2.15	A 90	1.94	B 70	2.18	A 93	2.42	A 88	2.03	A 79
0,6	3.09	A 112	2.50	A 104	2.82	A 115	2.69	A 105	2.42	A 101	2.39	AB 86	2.92	A 124	2.89	A 105	2.40	A 94
1,2	3.01	A 109	2.99	A 124	2.74	A 111	3.27	A 128	2.44	A 102	3.54	A 128	2.07	A 88	2.84	A 103	3.07	A 120
1,8	3.37	A 122	2.43	A 101	2.62	A 107	3.19	A 125	2.56	A 107	2.59	AB 94	2.09	A 89	2.99	A 108	1.94	A 76
MÉDIA	3.03		2.53		2.68		2.85		2.39		2.65		2.32		2.78		2.40	
C.V%	27.12		36.30		29.39		25.98		39.96		27.79		27.57		25.33		29.84	
PARFOL																		
0	4.34	A 100	4.24	A 100	4.15	A 100	4.13	A 100	3.88	B 100	4.61	A 100	4.18	A 100	4.40	A 100	4.03	A 100
0,3	4.27	A 98	4.27	A 101	4.16	A 100	4.05	A 98	4.32	AB 111	4.23	A 92	4.15	A 99	4.38	A 100	4.03	A 100
0,6	4.32	A 100	4.70	A 111	4.24	A 102	4.34	A 105	4.73	A 122	4.35	A 94	4.13	A 99	4.40	A 100	4.11	A 102
1,2	4.37	A 101	4.37	A 103	4.00	A 96	4.40	A 107	4.39	AB 113	4.83	A 105	4.23	A 101	4.63	A 105	4.06	A 101
1,8	4.40	A 101	4.58	A 108	4.28	A 103	4.58	A 111	4.33	AB 112	4.32	A 94	4.22	A 101	4.47	A 102	4.16	A 103
MÉDIA	4.34		4.43		4.17		4.30		4.33		4.47		4.18		4.46		4.08	
C.V%	10.31		15.24		12.12		10.41		11.22		11.47		10.05		8.88		8.96	
PS-AERE																		
0	0.0066	A 100	0.0069	A 100	0.0056	A 100	0.0049	A 100	0.0069	A 100	0.0060	A 100	0.0069	AB 100	0.0061	A 100	0.0065	A 100
0,3	0.0070	A 106	0.0056	A 81	0.0077	A 138	0.0067	A 137	0.0072	A 104	0.0052	A 87	0.0056	AB 81	0.0061	A 100	0.0052	A 80
0,6	0.0089	A 135	0.0071	A 103	0.0085	A 152	0.0064	A 131	0.0081	A 117	0.0068	A 113	0.0093	A 135	0.0076	A 125	0.0066	A 102
1,2	0.0065	A 98	0.0075	A 109	0.0064	A 114	0.0077	A 157	0.0061	A 88	0.0076	A 127	0.0058	AB 84	0.0067	A 110	0.0081	A 125
1,8	0.0093	A 144	0.0059	A 86	0.0067	A 120	0.0071	A 145	0.0080	A 116	0.0049	A 82	0.0054	B 71	0.0069	A 113	0.0052	A 80
MÉDIA	0.0076		0.0066		0.0069		0.0065		0.0072		0.006		0.0066		0.0066		0.0063	
C.V%	39.82		45.55		35.05		34.20		38.65		46.69		32.20		39.89		42.24	
PS-RADI																		
0	0.0021	A 100	0.0022	A 100	0.0019	A 100	0.0018	A 100	0.0025	A 100	0.0019	A 100	0.0021	A 100	0.0022	A 100	0.0023	A 100
0,3	0.0023	A 110	0.0018	A 82	0.0024	A 126	0.0020	A 111	0.0022	A 88	0.0014	A 74	0.0017	A 81	0.0019	A 86	0.0017	A 74
0,6	0.0022	A 105	0.0022	A 100	0.0026	A 137	0.0021	A 117	0.0027	A 108	0.0019	A 100	0.0027	A 129	0.0025	A 114	0.0022	A 96
1,2	0.0024	A 114	0.0025	A 114	0.0020	A 105	0.0025	A 139	0.0020	A 80	0.0029	A 153	0.0016	A 76	0.0023	A 105	0.0025	A 109
1,8	0.0027	A 129	0.0019	A 86	0.0021	A 111	0.0023	A 128	0.0025	A 100	0.0014	A 74	0.0017	A 81	0.0025	A 114	0.0015	A 65
MÉDIA	0.0023		0.0021		0.0021		0.0021		0.0023		0.0019		0.0020		0.0022		0.0020	
C.V%	41.16		47.10		39.34		47.35		50.14		46.43		37.50		50.44		45.42	

Observações : Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (na coluna).

- ALT = Média das alturas das plântulas (cm).
- COMPR = Média do comprimento da raiz (cm).
- PARFOL = Média do número de par de folhas (n°).
- PS_AERE = Média do peso da matéria seca da parte aérea (g).
- PS_RADI = Média do peso da matéria seca do sistema radicular (g).

Figura 06 - Média das alturas das plântulas de *E.grandis* por dose de P e classe de estabilidade aos 60 dias de cultura *in vitro*.

Figura 07 - Média do comprimento das raízes das plântulas de *E.grandis* por dose de P e classe de estabilidade aos 60 dias de cultura *in vitro*.

Figura 08 - Média dos pares de folhas das plântulas de *E.grandis* por dose de P e classe de estabilidade aos 60 dias de cultura *in vitro*.

Quando se agrupa por tipo de estabilidade (Tabelas 12 e 13), nota-se que aos 30 dias não ocorrem diferenças significativas entre as doses de P. Já aos 60 dias a análise detecta que a estabilidade média é a única que mostra diferenças na altura da parte aérea e no comprimento da raiz da plântula.

Tabela 12 - Médias por classe de estabilidade fenotípica para as diferentes variáveis de crescimento de plântulas de *E. grandis* após 30 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P.

Estabilidade Dose de P	Superior		Média PARFOL		Inferior	
0	2.75	A	2.62	A	2.70	A
0,3	2.53	A	2.62	A	2.61	A
0,6	2.76	A	2.72	A	2.81	A
1,2	2.63	A	2.81	A	2.59	A
1,8	2.55	A	2.68	A	2.60	A
MÉDIA	2.65		2.69		2.67	
C.V%	14.37		17.83		15.54	
	TIPOR					
0	2.45	A	2.65	A	2.46	A
0,3	2.29	A	2.34	A	2.19	A
0,6	2.54	A	2.28	A	2.50	A
1,2	2.46	A	2.82	A	2.24	A
1,8	2.41	A	2.61	A	2.15	A
MÉDIA	2.43		2.54		2.30	
C.V%	28.95		28.42		22.96	

Observações :

- Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (na coluna)
- PARFOL = Média dos números de par de folha (n°).
- TIPOR = Média do tipo de raiz (Tabela 6).

Tabela 13 - Médias por classe de estabilidade fenotípica para as diferentes variáveis de crescimento de plântulas de *E. grandis* após 60 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P.

Estabilidade	Superior		Média		Inferior	
Dose de P	ALT					
0	1.27	A	1.08	B	1.14	A
0,3	1.30	A	1.12	B	1.16	A
0,6	1.34	A	1.16	AB	1.28	A
1,2	1.38	A	1.31	A	1.25	A
1,8	1.36	A	1.23	AB	1.24	A
MÉDIA	1.32		1.18		1.21	
C.V%	15.20		15.59		16.29	
COMPR						
0	2.54	A	2.58	AB	2.56	A
0,3	2.66	A	2.21	B	2.21	A
0,6	2.80	A	2.51	AB	2.74	A
1,2	2.91	A	3.08	A	2.66	A
1,8	2.81	A	2.78	AB	2.34	A
MÉDIA	2.74		2.63		2.50	
C.V%	30.83		32.80		28.57	
PARFOL						
0	4.24	A	4.21	A	4.20	A
0,3	4.23	A	4.20	A	4.19	A
0,6	4.42	A	4.48	A	4.21	A
1,2	4.25	A	4.54	A	4.31	A
1,8	4.42	A	4.41	A	4.28	A
MÉDIA	4.31		4.37		4.24	
C.V%	12.11		13.27		9.72	
PSAERE						
0	0.0064	A	0.0059	A	0.0065	A
0,3	0.0068	A	0.0064	A	0.0057	A
0,6	0.0082	A	0.0071	A	0.0078	A
1,2	0.0068	A	0.0071	A	0.0069	A
1,8	0.0073	A	0.0069	A	0.0059	A
MÉDIA	0.0070		0.0066		0.0065	
C.V%	40.39		41.69		36.50	
PSRADI						
0	0.0020	A	0.0021	A	0.0022	A
0,3	0.0022	A	0.0019	A	0.0018	A
0,6	0.0024	A	0.0023	A	0.0025	A
1,2	0.0023	A	0.0025	A	0.0021	A
1,8	0.0022	A	0.0020	A	0.0019	A
MÉDIA	0.0022		0.0021		0.0021	
C.V%	41.60		49.81		42.72	

Observações : Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (na coluna).

- ALT = Média das alturas das plântulas (cm).
- COMPR = Média do comprimento da raiz (cm).
- PARFOL = Média do número de par de folhas (n°).

- PSAERE = Média do peso da matéria seca da parte aérea (g).
- PSRADI = Média do peso da matéria seca do sistema radicular (g).

Analisando-se a regressão linear (R^2 %) tanto aos 30 quanto aos 60 dias por progênie (Tabelas 14 e 15) verifica-se que esta foi baixa. Considerou-se o número da população (NP) como 30 (média dos blocos).

Tabela 14 - Análise de regressão linear por progênie de *E. grandis* aos 30 dias de cultura *in vitro*.

modelo: $y = a + b \cdot (\text{Dose P})$

Variável	Classe de Estabilidade	Progênie	Parâmetros de Regressão				
			a	b	R^2 (%)	Teste F	
PARFOL	Superior	13	2,6275	0,0561	0,73	0,21	n.s.
		20	2,7880	-0,1035	2,71	0,78	n.s.
		22	2,6807	-0,1587	5,09	1,50	n.s.
		média	2,6987	-0,0687	1,05	0,93	n.s.
	Média	09	2,5969	0,2160	6,69	2,01	n.s.
		12	2,8740	-0,1038	1,26	0,36	n.s.
		16	2,4600	0,0684	0,84	0,24	n.s.
		média	2,6436	0,0602	0,49	0,43	n.s.
	Inferior	05	2,7518	-0,0375	0,21	0,06	n.s.
		14	2,9642	-0,2153	7,72	2,34	n.s.
		15	2,4204	0,0741	1,24	0,35	n.s.
		média	2,7121	-0,0596	0,58	0,51	n.s.
TIPOR	Superior	13	2,4676	0,2262	4,65	1,37	n.s.
		20	2,2498	-0,0597	0,40	0,11	n.s.
		22	2,5502	-0,1350	1,47	0,42	n.s.
		média	2,4225	0,0105	0,01	0,01	n.s.
	Média	09	2,3355	0,4659	19,23	6,67	**
		12	2,4406	-0,1528	1,48	0,42	n.s.
		16	2,5633	0,0400	0,13	0,04	n.s.
		média	2,4465	0,1177	1,00	0,89	n.s.
	Inferior	05	2,5116	-0,2706	8,99	2,77	n.s.
		14	2,4505	-0,1198	2,09	0,60	n.s.
		15	2,2761	-0,0206	0,07	0,02	n.s.
		média	2,4127	-0,1370	2,65	2,40	n.s.

Observações:

- PARFOL = Média do número de par de folhas (n°).
- TIPOR = Média do tipo de raiz (Tabela 5).
- a = intercepto do modelo de regressão linear
- b = coeficiente angular
- R^2 (%) = coeficiente de regressão (variação explicada)
- n.s. = não significativo
- * = significativo a 5%

Tabela 15 - Análise de regressão linear por progênie de *E.grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro*.

modelo: $y = a + b*(Dose\ P)$

Variável	Classe de Estabilidade	Progênie	Parâmetros de Regressão				
			a	b	R2 (%)	Teste F	
ALT	Superior	13	1,3762	0,0419	0,91	0,26	n.s.
		20	1,2267	0,0973	8,59	2,63	n.s.
		22	1,2623	0,0190	0,23	0,07	n.s.
		média	1,2884	0,0527	1,73	1,55	n.s.
	Média	09	1,0467	0,1343	15,29	5,05	**
		12	1,0656	0,0676	3,11	0,90	n.s.
		16	1,1924	0,1028	7,91	2,32	n.s.
		média	1,1005	0,1020	7,26	6,81	**
	Inferior	05	1,1382	0,0223	0,32	0,09	n.s.
		14	1,3059	0,0654	2,85	0,82	n.s.
		15	1,0619	0,0757	3,76	1,09	n.s.
		média	1,1687	0,0545	1,66	1,49	n.s.
PARFOL	Superior	13	4,3003	0,0504	0,19	0,05	n.s.
		20	4,3168	0,1481	1,19	0,34	n.s.
		22	4,1499	0,0221	0,03	0,01	n.s.
		média	4,2557	0,0736	0,34	0,30	n.s.
	Média	09	4,0846	0,2767	5,84	1,74	n.s.
		12	4,2117	0,1489	0,89	0,25	n.s.
		16	4,4648	0,0108	0,01	0,00	n.s.
		média	4,2517	0,1461	1,29	1,14	n.s.
	Inferior	05	4,1503	0,0414	0,11	0,03	n.s.
		14	4,3876	0,0873	0,63	0,18	n.s.
		15	4,0260	0,0639	0,39	0,11	n.s.
		média	4,1879	0,0642	0,31	0,28	n.s.
COMPR	Superior	13	2,8013	0,2886	4,43	1,30	n.s.
		20	2,4228	0,1367	0,88	0,25	n.s.
		22	2,6448	0,0412	0,07	0,02	n.s.
		média	2,6229	0,0156	1,06	0,94	n.s.
	Média	09	2,5042	0,4454	9,94	3,09	*
		12	2,2829	0,1403	0,68	0,19	n.s.
		16	2,4309	0,2843	3,94	1,11	n.s.
		média	2,4056	0,2901	3,50	3,16	*
	Inferior	05	2,4758	-0,1958	2,26	0,65	n.s.
		14	2,6281	0,1962	1,49	0,42	n.s.
		25	2,4488	-0,0622	0,17	0,05	n.s.
		média	2,5176	-0,0206	0,02	0,02	n.s.
PSAERE	Superior	13	0,0069	0,0010	3,08	0,89	n.s.
		20	0,0067	-0,0001	0,04	0,01	n.s.
		22	0,0070	-0,0001	0,01	0,00	n.s.
		média	0,0069	0,0003	0,33	0,30	n.s.
	Média	09	0,0057	0,0011	8,86	2,72	n.s.
		12	0,0071	0,0002	0,17	0,05	n.s.
		16	0,0061	-0,0001	0,03	0,01	n.s.
		média	0,0063	0,0004	0,86	0,75	n.s.
	Inferior	05	0,0073	-0,0008	3,48	1,01	n.s.
		14	0,0064	0,0004	0,75	0,21	n.s.
		15	0,0063	0,0000	0,00	0,00	n.s.
		média	0,0067	-0,0002	0,14	0,13	n.s.

(continua)

Tabela 15 - Análise de regressão linear por progênie de *E.grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro*. (continuação)

modelo: $y = a + b \cdot (\text{Dose P})$

Variável	Classe de Estabilidade	Progênie	Parâmetros de Regressão				
			a	b	R ² (%)	Teste F	
PSRADI	Superior	13	0,0021	0,0003	3,64	1,06	n.s.
		20	0,0021	0,0000	0,02	0,01	n.s.
		22	0,0022	0,0000	0,09	0,02	n.s.
		média	0,0022	0,0001	0,24	0,21	n.s.
	Média	09	0,0019	0,0003	3,38	0,98	n.s.
		12	0,0024	-0,0001	0,21	0,06	n.s.
		16	0,0019	0,0000	0,08	0,02	n.s.
		média	0,0021	0,0001	0,21	0,19	n.s.
	Inferior	05	0,0022	-0,0027	3,38	0,98	n.s.
		14	0,0021	0,0002	1,20	0,34	n.s.
		15	0,0022	-0,0002	1,85	0,53	n.s.
		média	0,0022	-0,0001	0,30	0,27	n.s.

Observações:

- ALT = Média das alturas das plântulas (cm).
- COMPR = Média do comprimento da raiz (cm).
- PARFOL = Média do número de par de folhas (n°).
- PSAERE = Média do peso da matéria seca da parte aérea (g).
- PSRADI = Média do peso da matéria seca do sistema radicular (g).
- a = intercepto do modelo de regressão linear
- b = coeficiente regressão (angular)
- R² (%) = coeficiente de correlação (variação explicada)
- n.s. = não significativo
- * = significativo a 5%

Utilizando-se o método proposto por Eberhart & Russel (1966), cuja regressão é baseada em Índice Ambiental (Figura 2 e Apêndice 5), pode-se observar que os valores de *b* são maiores (Tabela 16) que os da tabela anterior (Tabela 15). As variâncias dos desvios (Vdi) são próximas a zero, dando maior confiabilidade aos resultados do experimento (Tabela 17).

Tabela 16 - Dados médios das variáveis do crescimento de progênies de *E. grandis* em campo (teste analisado aos 4.3 anos) e *in vitro* (teste aos 60 dias) e respectivos valores de *b* nas 5 doses de P por progênie.

Progênie	DAP		Altura		ALT.		COMPR		PARFOL		PSAERE		PSRADI	
	Média	<i>b</i>	Média	<i>b</i>	Média	<i>b</i>	Média	<i>b</i>	Média	<i>b</i>	Média	<i>b</i>	Média	<i>b</i>
13	12,6	0,6961	19,2	0,7852	1,4089	0,3884	3,0264	0,3942	4,3397	0,3685	0,0077	1,1244	0,0023	-0,2481
20	11,9	0,6379	18,5	0,8875	1,3026	1,2985	2,5294	1,2035	4,4323	1,9092	0,0066	0,7489	0,0021	1,3674
22	11,8	0,6090	18,2	0,8908	1,2771	0,4970	2,6769	0,1468	4,1672	0,1378	0,0070	1,1770	0,0022	0,3363
09	12,3	1,1385	19,1	1,0488	1,1556	0,8781	2,3231	-0,0236	4,1826	0,1702	0,0066	2,0713	0,0020	1,6050
12	12,2	1,0229	19,1	0,9955	1,3570	0,8400	2,7812	0,8497	4,4556	0,7189	0,0067	0,9463	0,0023	0,9171
16	12,2	0,9647	19,0	0,9237	1,1209	0,9151	2,4002	1,7498	4,0759	0,5406	0,0063	0,8561	0,0020	1,6876
05	12,7	1,1710	19,5	1,0245	1,1514	1,7399	2,8516	1,4205	4,3004	2,2785	0,0065	0,5085	0,0021	0,5905
14	11,9	1,4237	18,7	1,2280	1,1183	0,8922	2,3923	0,5562	4,3279	2,3524	0,0073	0,4614	0,0024	0,2112
15	12,1	1,3356	19,4	1,2156	1,2729	1,5507	2,6454	2,7027	4,4690	0,5240	0,0061	1,1058	0,0019	2,5329

Observações : Variáveis de campo:

- DAP (cm)
- ALTURA (m)

Variáveis morfológicas *in vitro*:

- ALT = Média das alturas das plântulas (cm).
- COMPR = Média do comprimento da raiz (cm).
- PARFOL = Média do número de par de folhas (n°).
- PSAERE = Média do peso da matéria seca da parte aérea (g).
- PSRADI = Média do peso da matéria seca do sistema radicular (g).

Tabela 17 - Dados de Vdi das variáveis do crescimento de progênie de *E. grandis* em campo aos 4,3 anos e *in vitro* aos 60 dias nas 5 doses de P por progênie.

Progênie	Variância dos desvios da regressão (Vdi)						
	DAP	ALTURA	ALT	COMPR	PARFOL	PSAERE	PSRADI
13	0,048557	-0,045767	-0,0040	-0,0339	-0,0381	0,000001	-0,000000
20	-0,066378	0,067203	0,0028	-0,0757	-0,0210	-0,000001	-0,000000
22	0,132034	0,045492	-0,0002	-0,0705	-0,0246	-0,000000	-0,000000
09	-0,033726	-0,159985	0,0038	0,0681	-0,0374	0,000000	0,000000
12	0,156769	0,616144	-0,0048	-0,0671	-0,0301	-0,000001	-0,000000
16	-0,039756	-0,215106	-0,0049	0,0296	-0,0384	0,000000	-0,000000
05	0,670643	1,178732	-0,0014	-0,0283	-0,0292	0,000000	-0,000000
14	-0,133096	-0,212203	-0,0021	-0,0812	0,0286	-0,000000	-0,000000
15	0,224564	0,619611	0,0017	0,0052	0,0390	-0,000000	0,000000

Observações : Variáveis de campo:

•DAP (cm)

ALTURA (m)

Variáveis morfológicas *in vitro*:

•ALT = Média das alturas das plântulas(cm).

•COMPR = Média do comprimento da raiz (cm).

•PARFOL = Média do número de par de folhas (n°).

•PSAERE = Média do peso da matéria seca da parte aérea (g).

•PSRADI = Média do peso da matéria seca do sistema radicular (g).

5.2.3.1 - Correlações de variáveis de crescimento *in vitro* com variáveis de crescimento em campo.

Analisando-se a Tabela 18 com base nos valores de *b*, pode-se observar que as classes de estabilidade das progênie selecionadas em campo são as mesmas de algumas testadas *in vitro* para determinadas variáveis. A progênie 13 se apresentou de classe idêntica para as variáveis ALT, COMPR e PARFOL; a progênie 20 para PS_AERE; a progênie 22 para ALT, COMPR e PARFOL; a progênie 09 para COMPR; a progênie 12 para PSAERE; a progênie 16 para ALT; a progênie 5 para ALT, COMPR e PARFOL; a progênie 14 para COMPR e a progênie 15 para ALT, COMPR E PSRADI. Nota-se que as progênie mais

típicas *in vitro* foram 13, 22, 5 e 25 em 66% e as variáveis de análise mais confiáveis foram ALT., COMPR e PARFOL.

Tabela 18 - Classes de estabilidade fenotípica das progênes de *E.grandis* estudadas.

Progênes	DAP	ALTURA	ALT	COMPR	PARFOL	PSAERE	PSRADI
13	I	I	I	I	I	III	II
20	I	I	III	III	III	I	III
22	I	I	I	I	I	III	I
09	II	II	I	II	I	III	III
12	II	II	I	I	I	II	II
16	II	II	II	III	I	I	III
05	III	III	III	III	III	I	I
14	III	III	I	I	III	I	I
15	III	III	III	III	I	II	III

Observações : I, II e III - estabilidade superior, média e inferior, respectivamente.

Variáveis de campo:

•DAP (cm)

•ALTURA (m)

Variáveis morfológicas *in vitro*:

•ALT = Média das alturas das plântulas(cm).

•COMPR = Média do comprimento da raiz (cm).

•PARFOL = Média do número de par de folhas (n°).

•PSAERE = Média do peso da matéria seca da parte aérea (g).

•PSRADI = Média do peso da matéria seca do sistema radicular (g).

Verifica-se que o coeficiente de explicação do modelo (R^2 %) de todas características analisadas, aos 60 dias para as progênes estudadas (Tabela 19), são superiores pelo método de Eberhart & Russel (1966) quando comparados ao método da Regressão Linear simples.

Tabela 19 - R^2 (%) para todas variáveis de crescimento analisadas aos 60 dias de cultura *in vitro* por progênie de *E.grandis* pelo método Eberhart & Russel (1966)

Progênes	DAP	ALTURA	ALT	COMPR	PARFOL	PSAERE	PSRADI
13	74,92	93,31	35,94	10,82	44,19	25,47	3,77
20	83,00	93,19	51,18	77,40	65,49	32,15	63,85
22	62,82	93,52	19,52	3,91	1,20	37,84	2,96
09	92,45	97,29	29,93	0,02	10,55	57,33	33,29
12	81,56	89,00	85,81	54,66	34,12	89,87	40,83
16	90,15	97,24	89,93	54,24	67,26	17,99	52,07
05	69,95	84,73	79,59	59,13	82,75	8,01	14,45
14	98,18	98,40	55,27	49,87	44,14	11,28	1,56
15	86,31	92,32	63,24	77,82	3,29	34,83	51,34

Observações : Variáveis de campo:

•DAP (cm)

•ALTURA (m)

Variáveis morfológicas *in vitro*:

•ALT = Média das alturas das plântulas (cm).

•COMPR = Média do comprimento da raiz (cm).

•PARFOL = Média do número de par de folhas (n°).

•PSAERE = Média do peso da matéria seca da parte aérea (g).

•PSRADI = Média do peso da matéria seca do sistema radicular (g).

• R^2 (%) = coeficiente de correlação (variação explicada)

5.2.4 - Comportamento bioquímico das progênes *in vitro*.

Foram analisados os dados bioquímicos das progênes (Atividade dos Picos da FAC %/g de matéria seca - AP(s)) nas 3 bandas e nas 5 doses de P . Verificou-se que na ANAVA as progênes apresentaram comportamento significamente diferente (ao nível de 5 e 1%) no AP3 de folha e AP1 ,AP2 e AP3 de raiz .A interação progênie com dose de fósforo também foi significativamente diferente para as 3 bandas, tanto de raiz como de folha.

A dose de P e o bloco não apresentaram diferenças significativas entre as variáveis estudadas , indicando que a atividade da enzima FAC seja genética.

Tabela 20 - Análise de variância (ANAVA), teste F e nível de significância das atividades dos picos da enzima fosfatase ácida (AP(s))

FONTE DE VARIAÇÃO	VARIÁVEIS											
	Folha						Raiz					
	AP1		AP2		AP3		AP1		AP2		AP3	
	F	Signif.	F	Signif.	F	Signif.	F	Signif.	F	Signif.	F	Signif.
Progênes	1,99	n.s.	1,59	n.s.	3,31	**	9,41	**	9,27	**	7,85	**
Doses P	0,17	n.s.	0,03	n.s.	0,61	n.s.	1,26	n.s.	0,16	n.s.	0,82	n.s.
Blocos	0,11	n.s.	0,65	n.s.	0,25	n.s.	0,94	n.s.	0,67	n.s.	0,6	n.s.
Progênes * Doses P	24,73	**	48,99	**	5,13	*	30,59	**	22,9	**	16,99	**
C.V. (%) ⁴	28,30		25,07		19,95		17,94		31,16		27,00	
Média	50,18		6,76		0,82		23,36		7,81		1,97	

Onde :

- n.s. = não significativo
- * = significativo a 5%
- ** = significativo a 1%
- AP1 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 1
- AP2 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 2
- AP3 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 3
- As variáveis foram transformadas resultando um menor C. V. (%)
 $APs = (APs/10) + 0,5$

Analisando as AP(s) por classe de estabilidade , nota-se que a AP1 de folha caracteriza melhor as progênes , isto é , as de classe superior (estáveis nos piores ambientes) apresentam menores atividades quando comparadas com as de classe inferior (responsivas).

O mesmo ocorre com a banda AP2 da raiz. O inverso ocorre com a AP1, onde as progênes de classe de estabilidade superior apresentam maiores atividades que a inferior. Isto vem confirmar o observado por diversos autores (MC Lachlan, 1976; Hevit & Tahan, 1960; Furlani, 1984; O'Connell & Grove, 1985; Zaini & Mercado, 1985 a; Vettorazzo, 1989;), que a enzima atua nos piores sítios. As progênes de classe média , tanto para folha como para raiz, são intermediárias às duas classes. A AP3 não foi considerada por apresentar baixos valores (Tabelas 21 e 22 e Figuras 08 e 09)

Tabela 21 - Média das variáveis de crescimento das plântulas de *E.grandis* por dose de P, por progênie e classe de estabilidade nas 03 Atividades de Fosfatase Ácida (APs) para folha

	Classe de Estabilidade											
	Superior						Folha Média			Inferior		
	13	20	22				09	12	16	05	14	15
AP1	28,74	B	31,47	B	45,69	AB	57,85	A	59,49	A	57,15	A
AP2	4,59	BC	5,19	ABC	4,05	C	7,82	ABC	4,89	BC	7,98	ABC
AP3	0,00	B	0,00	B	0,24	B	0,98	AB	2,27	A	1,52	AB

Onde:

- AP1 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 1
- AP2 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 2
- AP3 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 3
- Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 22 - Média das variáveis de crescimento das plântulas de *E.grandis* por dose de P, por progênie e classe de estabilidade nas 03 Atividades de Fosfatase Ácida (APs) para raiz

	Classe de Estabilidade											
	Raiz											
	Superior						Média			Inferior		
	13	20	22				09	12	16	05	14	15
AP1	31,34	A	25,16	AB	25,18	AB	19,78	B	23,64	B	23,35	B
AP2	1,98	C	8,17	AB	3,85	BC	9,57	AB	7,84	AB	7,92	AB
AP3	0,00	C	0,00	C	0,96	BC	3,97	A	1,83	ABC	2,04	ABC

Onde:

- AP1 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 1
- AP2 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 2
- AP3 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 3
- Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Figura 09 - Média das variáveis de crescimento das plântulas de *E.grandis* por dose de P, por progênie e classe de estabilidade nas 03 Atividades de Fosfatase Ácida (APs) para Folha

Figura 10 - Média das variáveis de crescimento das plântulas de *E.grandis* por dose de P, por progênie e classe de estabilidade nas 03 Atividades de Fosfatase Ácida (APs) para Raiz

Tabela 23 - Análise de regressão linear por progênie de *E.grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro* para folha

modelo: $y = a + b*(Dose\ P)$

Variável	Classe de Estabilidade	Progênie	Parâmetros de Regressão				
			a	b	R ² (%)	Teste F	Signif.
AP1	Superior	13	28,102	0,8195	0,0003	0,003	n.s.
		20	34,129	-3,1054	0,0069	0,055	n.s.
		22	5,525	-0,4259	0,0027	0,021	n.s.
	Média	09	58,506	-0,8341	0,0832	0,726	n.s.
		12	60,467	-1,2439	0,0425	0,355	n.s.
		16	58,231	-1,3822	0,1699	1,637	n.s.
	Inferior	05	57,225	0,2137	0,0043	0,034	n.s.
		14	57,947	4,4949	0,238	2,509	n.s.
		15	55,049	1,7049	0,1420	1,325	n.s.
AP2	Superior	13	5,230	-0,8192	0,0126	0,102	n.s.
		20	0,801	0,3198	0,0025	0,020	n.s.
		22	46,041	-0,4381	0,0005	0,004	n.s.
	Média	09	7,009	1,0461	0,2267	2,345	n.s.
		12	4,261	0,8082	0,0519	0,438	n.s.
		16	6,877	1,4203	0,1772	1,723	n.s.
	Inferior	05	8,971	-0,6647	0,0755	0,653	n.s.
		14	10,447	-2,2470	0,2852	3,191	n.s.
		15	10,686	-1,8583	0,2776	3,074	n.s.
AP3	Superior	13	0,00	0,00	0,00	-	-
		20	0,00	0,00	0,00	-	-
		22	0,157	0,1180	0,0443	0,371	n.s.
	Média	09	1,150	-0,2120	0,2267	0,135	n.s.
		12	1,938	0,4353	0,0247	0,203	n.s.
		16	1,557	-0,0379	0,0011	0,008	n.s.
	Inferior	05	0,468	0,4512	0,0923	0,813	n.s.
		14	0,272	0,2433	0,090	0,792	n.s.
		15	0,930	0,1533	0,0060	0,048	n.s.

Onde:

- AP1 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 1
- AP2 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 2
- AP3 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 3
- a = intercepto do modelo de regressão linear
- b = coeficiente de regressão (angular)
- R² (%) = coeficiente de correlação (variação explicada)
- n.s. = não significativo
- * = significativo a 5%
- As variáveis foram transformadas resultando um menor C.V. (%)
 $APs = (APs/10) + 0,5$

Tabela 24 - Análise de regressão linear por progênie de *E.grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro* para raiz

modelo: $y = a + b*(Dose\ P)$

Variável	Classe de Estabilidade	Progênie	Parâmetros de Regressão				
			a	b	R ² (%)	Teste F	
AP1	Superior	13	32,449	-1,476	0,064	0,551	n.s.
		20	27,657	-3,201	0,123	1,125	n.s.
		22	31,973	-8,707	0,345	4,208	n.s.
	Média	09	18,781	1,281	0,024	0,197	n.s.
		12	21,460	2,804	0,081	0,705	n.s.
		16	21,297	2,642	0,105	0,939	n.s.
	Inferior	05	24,058	-1,176	0,057	0,486	n.s.
		14	18,933	0,264	0,002	0,013	n.s.
		15	19,515	2,106	0,002	0,018	n.s.
AP2	Superior	13	0,834	1,476	0,064	0,551	n.s.
		20	5,676	3,201	0,123	1,125	n.s.
		22	3,108	0,952	0,024	0,197	n.s.
	Média	09	9,164	0,530	0,008	0,067	n.s.
		12	9,549	-2,180	0,090	0,788	n.s.
		16	9,513	-2,030	0,094	0,833	n.s.
	Inferior	05	7,772	0,140	0,003	0,022	n.s.
		14	10,533	0,190	0,002	0,013	n.s.
		15	14,079	-2,198	0,379	4,881	n.s.
AP3	Superior	13	0,000	0,000	0,000	-	-
		20	0,000	0,000	0,000	-	-
		22	1,270	-0,387	0,051	0,429	n.s.
	Média	09	9,388	-1,811	0,107	0,957	n.s.
		12	2,324	-0,624	0,042	0,353	n.s.
		16	2,524	-0,611	0,131	1,204	n.s.
	Inferior	05	1,503	1,036	0,106	0,953	n.s.
		14	3,867	-0,454	0,023	0,187	n.s.
		15	3,110	0,014	0,000	0,000	n.s.

Onde:

- AP1 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 1
- AP2 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 2
- AP3 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 3
- a = intercepto do modelo de regressão linear
- b = coeficiente de regressão (angular)
- R² (%) = coeficiente de correlação (variação explicada)
- n.s. = não significativo
- * = significativo a 5%
- As variáveis foram transformadas resultando um menor C.V. (%)
 $APs = (APs/10) + 0,5$

Utilizando-se o método proposto por Eberhart & Russel (1966), cuja regressão é baseada em Índice Ambiental (Figura 11), pode-se observar que os valores de b são maiores (Tabela 25 e 26) que os das tabelas anteriores (Tabela 23 e 24). As variâncias dos desvios (Vdi) são próximas a zero, dando maior confiabilidade aos resultados do experimento (Tabela 27).

Analizando a Figura 11, nota-se que há uma tendência, para folha, das doses de P serem baixas para AP1 e AP2 e altas para AP3, já para raiz, estas mesmas doses são médias a intermediárias para AP1, baixas e altas para AP2 e baixas para AP3. Isto pode indicar que os picos de atividade (AP(s)) e o tipo de explante (folha ou raiz) apresentam melhor resolução do gel a diferentes doses de P.

Tabela 25 - Dados médios das variáveis do crescimento de *E.grandis* em campo(teste analisado aos 4.3 anos) e bioquímicos(APs) e respectivos valores de b nos 5 doses de P por progênie para folha.

Progênie	DAP		Altura		AP1		AP2		AP3	
	Média	b	Média	b	Média	b	Média	b	Média	b
13	12,6	0,6961	19,2	0,7852	6,2510	-1,0840	1,3694	2,5456	0,5462	-
20	11,9	0,6379	18,5	0,8875	6,2152	0,1934	1,2985	-2,7874	0,6528	-
22	11,8	0,6090	18,2	0,8908	6,4496	1,8082	0,9891	-0,3155	0,7278	-
09	12,3	1,1385	19,1	1,0488	3,6473	6,6183	1,0193	0,1285	0,5000	-
12	12,2	1,0229	19,1	0,9955	5,6990	0,4862	0,9050	-0,0073	0,5250	-
16	12,2	0,9647	19,0	0,9237	6,2855	-0,1021	1,2825	3,7154	0,5985	-
05	12,7	1,1710	19,5	1,0245	3,3741	0,1894	0,9590	3,0314	0,5000	-
14	11,9	1,4237	18,7	1,2280	6,1379	1,0835	1,4236	6,0884	0,6050	-
15	12,1	1,3356	19,4	1,2156	6,2392	-0,1938	1,3453	4,0317	0,5821	-

Observações : Variáveis de campo:

- DAP (cm)
- ALTURA (m)

Variáveis bioquímicas :

- AP1 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 1
- AP2 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 2
- AP3 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 3

- Não houve a presença de b devido aos baixos valores de AP3
 - As variáveis foram transformadas resultando um menor C.V. (%)
- $$Aps = (APs/10) + 0,5$$

Tabela 26 - Dados médios das variáveis do crescimento de *E.grandis* em campo (teste analisado aos 4.3 anos) e bioquímicos (APs) e respectivos valores de b nas 5 doses de P por progênie, para raiz.

Progênie	DAP		Altura		AP1		AP2		AP3	
	Média	b	Média	b	Média	b	Média	b	Média	b
13	12,6	0,6961	19,2	0,7852	2,4138	0,3420	1,5681	2,3862	0,8513	-
20	11,9	0,6379	18,5	0,8875	2,8357	-0,5392	1,2928	0,1497	0,7047	-
22	11,8	0,6090	18,2	0,8908	2,8647	-0,6339	1,2848	2,4743	0,6837	-
09	12,3	1,1385	19,1	1,0488	3,0160	1,0756	1,3171	11,0224	0,5000	-
12	12,2	1,0229	19,1	0,9955	3,0181	7,3491	0,8850	0,3450	0,5968	-
16	12,2	0,9647	19,0	0,9237	2,4780	-0,5702	1,4577	-2,4657	0,8975	-
05	12,7	1,1710	19,5	1,0245	3,6347	-0,9922	0,6985	-9,4123	0,5000	-
14	11,9	1,4237	18,7	1,2280	2,4514	1,6420	1,7363	8,0445	0,8120	-
15	12,1	1,3356	19,4	1,2156	2,8140	1,3260	1,2882	-3,5441	0,7310	-

Observações : Variáveis de campo:

•DAP (cm)

•ALTURA (m)

Variáveis bioquímicas :

- AP1 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 1
 - AP2 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 2
 - AP3 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 3
 - Não houve a presença de b devido aos baixos valores de AP3
 - As variáveis foram transformadas resultando um menor C.V. (%)
- $$APs = (APs/10) + 0,5$$

Tabela 27 - Dados de Vdi das variáveis do crescimento de *E.grandis* em campo e *in vitro* nas 5 doses de P por progênie.

Progênie	Variância dos desvios da regressão (Vdi)							
	DAP	ALTURA	Folha			Raiz		
			AP1	AP2	AP3	AP1	AP2	AP3
13	0,048557	-0,045767	-86,129921	-4,644515	-	-13,549383	-6,791601	-
20	-0,066378	0,067203	-86,157104	-4,696900	-	-13,491541	-6,772254	-
22	0,132034	0,045492	-86,161766	-4,682923	-	-13,498201	-6,773879	-
09	-0,033726	-0,159985	-86,076149	-4,698395	-	-13,376453	-6,687833	-
12	0,156769	0,616144	-86,177010	-4,707434	-	-13,456919	-6,800898	-
16	-0,039756	-0,215106	-86,160912	-4,702860	-	-13,520628	-6,796987	-
05	0,670643	1,178732	-86,172630	-4,709746	-	-13,482821	-6,776919	-
14	-0,133096	-0,212203	-86,148308	-4,698133	-	-13,513502	-6,768826	-
15	0,224564	0,619611	-86,163391	-4,705786	-	-13,531178	-6,794075	-

Observações : Variáveis de campo:

•DAP (cm)

•ALTURA (m)

Variáveis bioquímicas :

- AP1 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 1
- AP2 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 2
- AP3 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 3
- Não houve a presença de *b* devido aos baixos valores de AP3
- As variáveis foram transformadas resultando um menor C.V. (%)
 $APs = (APs/10) + 0,5$

Figura 11 - Índice Ambiental das APs para folha e raiz de plântulas de progênies de *E. grandis* cultivado *in vitro* em diferentes doses de P aos 60 dias.

Raiz (AP1) **Raiz (AP2)** **Raiz (AP3)**

5.2.4.1 - Correlações de variáveis bioquímicas das plântulas *in vitro* com variáveis de crescimento em campo.

Analisando-se a Tabela 28 com base nos valores de *b*, pode-se observar que as classes de estabilidade das progênies selecionadas em campo são as mesmas de algumas testadas *in vitro* para determinadas variáveis. A progênie 13 se apresentou de classe idêntica para as variáveis AP1 de folha e raiz; a progênie 20 para as variáveis AP1 e AP2 de folha e raiz. A progênie 22 para AP2 de folha e AP1 de raiz. Isto indica que a progênie 20 foi bem caracterizada na classe superior de estabilidade. A progênie 09 só para AP1 de raiz e as demais progênies da mesma classe se apresentaram diferentes das selecionadas em campo. Isto confirma o obtido pelas variáveis morfológicas, que a classe média apresenta valores intermediários (às vezes alto, às vezes baixo) não sendo confiável para seleção *in vitro*. Para a classe de estabilidade baixa a progênie 5, se apresentou idêntica as selecionadas apenas para AP2 de folha, a 14 para AP2 de folha e AP1 e AP2 de raiz, a 15 para AP2 de folha e AP1 de raiz. Analisando as bandas, nota-se que, de um modo geral, as progênies mais típicas foram 13, 22 e 15 (50%), 14 (66%) e 20 (100% das bandas analisadas) e as variáveis de análise mais adequadas foram a AP2 para folha e o AP1 para raiz. Na mesma análise morfológica apenas as progênies 13, 22 e 15 coincidem na tipicidade.

Tabela 28 - Classes de estabilidade fenotípica das progênes de *E.grandis* estudadas.

Progênes			Folha		Raiz	
	DAP	ALTURA	AP1	AP2	AP1	AP2
13	I	I	I	III	I	III
20	I	I	I	I	I	I
22	I	I	III	I	I	III
09	II	II	III	I	II	III
12	II	II	I	I	III	I
16	II	II	I	III	I	I
05	III	III	I	III	I	I
14	III	III	II	III	III	III
15	III	III	I	III	III	I

Observações : I, II e III - estabilidade superior, média e inferior, respectivamente.

Variáveis de campo:

- DAP (cm)
- ALTURA (m)

Variáveis bioquímicas :

- AP1 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 1
- AP2 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 2

Verifica-se que o coeficiente de correlação do modelo (R^2 %) de todas características analisadas, aos 60 dias para as progênes estudadas (Tabela 29), são superiores pelo método de Eberhart & Russel (1966) quando comparados ao método da Regressão Linear simples.

Tabela 29 - R^2 (%) para todas variáveis analisadas (bandas) aos 60 dias de Cultura *in vitro* por progênie de *E.grandis* pelo método Eberhart & Russel (1966)

Progênies			Folha			Raiz		
	DAP	ALTURA	AP1	AP2	AP3	AP1	AP2	AP3
13	74,92	93,31	21,9662	7,1128	-	25,7346	16,6052	-
20	83,00	93,19	1,8720	29,6604	-	6,0542	0,0368	-
22	62,82	93,52	67,3871	0,2752	-	9,0650	9,5202	-
09	92,45	97,29	83,6669	0,0999	-	8,2798	37,5752	-
12	81,56	89,00	40,8975	0,0011	-	88,5108	0,9021	-
16	90,15	97,24	0,6272	55,8903	-	11,8757	23,6722	-
05	69,95	84,73	4,8915	80,7366	-	16,0731	62,5202	-
14	98,18	98,40	30,4819	68,7267	-	47,9464	49,2740	-
15	86,31	92,32	2,5251	69,3103	-	51,5681	33,9223	-

Observações : Variáveis de campo:

•DAP (cm)

•ALTURA (m)

Variáveis bioquímicas :

• AP1 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 1

• AP2 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 2

• AP3 (%) = Atividade da Enzima Fosfatase Ácida na banda 3

• (Não houve a presença de *b* devido aos baixos valores de AP3)

• As variáveis foram transformadas resultando um menor C.V. (%)

$$APs = (APs/10) + 0,5$$

6- CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos com *Eucalyptus grandis*, pode-se concluir que:

a) Pode-se selecionar as progênies por classe de estabilidade fenotípica, no campo , aos 4.3 anos, tipicamente representadas pelos $b(s)$ determinados pelo método proposto por Eberhart & Russel (1966).

b) Houve variação do teor de P nas sementes das diferentes progênies dentro de uma mesma classe de tamanho. Isto correspondeu a 1,03% de P em 66% das progênies de estabilidades superior e média, respectivamente, e a 0,70-0,80 % de P em 100% das progênies de estabilidade baixa.

c) Da análise do comportamento morfológico das progênies *in vitro*, a coleta de dados aos 30 dias não foi adequada. As variáveis mais adequadas, aos 60 dias, foram Altura da Parte Aérea, Comprimento das Raízes e Número de Par de Folhas das plântulas estudadas.

d) Dos métodos de análise estatística estudados tanto no comportamento morfológico e bioquímico das progênies *in vitro* o proposto por Eberhart & Russel (1966) foi o mais adequado que o de Regressão Linear Simples, destacados pelos valores superiores de b e R^2 (%).

e) As correlações de variáveis de crescimento *in vitro* com variáveis de crescimento em campo, quanto à classificação de estabilidade fenotípica, mostram ser 66% semelhantes ao *b* das variáveis de campo DAP e Altura com as variáveis morfológicas de Altura, Comprimento de Raiz e Número de Par de Folhas para os genótipos de estabilidades superior e inferior .

f) Houve uma tendência de a banda de atividade da enzima Fosfatase Ácida AP2 caracterizar melhor as progênies para folha e AP1 para raiz. O AP1 de raiz apresentou comportamento que se espera da enzima , isto é, maior atividade nas progênies de estabilidade superior.

g) Apesar da complexidade do método bioquímico , o método morfológico se apresentou mais adequado na seleção precoce *in vitro* caracterizando melhor as progênies por classe de estabilidade.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, F. Interactions of phosphorus with other elements in soil and in plants. In: THE ROLE OF PHOSPHORUS IN AGRICULTURE SYMPOSIUM, Muscle Shoals, 1976. **Proceedings**. Madison : ASA/CSSA/SSSA, 1980. p. 655-680.
- ALMEIDA, C.M.C.V. de. Correlações entre caracteres no estágio adulto e possibilidade de seleção precoce de híbridos de cacau (*Theobroma cacao*). Piracicaba, 1991. 186 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- BALARD, R. Phosphorus nutrition and fertilization of forest trees. In : THE ROLE OF PHOSPHORUS IN AGRICULTURE SYMPOSIUM, Muscle Shoals, 1976. **Proceedings**. Madison : ASA/CSSA/SSSA, 1980. p. 655-680.
- BARLASS, M.; SKENE, K.G.M. *In vitro* propagation of grapevine (*Vitis vinifera* L) from fragmented shoot apices. **Vitis**, v.17, p. 335 - 340, 1978.
- BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L. Níveis críticos de fósforo no solo para eucalipto. **Informe Agropecuário**, v.12, n.141, p. 15 - 19, 1986.
- BARROW, N.J. Phosphorus uptake and utilization by tree seedlings. **American Journal of Botany**, v.25, p. 571 -584, 1981.
- BECKER. Correlations among some statistical measures of phenotypic stability. *Euphytica*, v.30, p. 840 - 853, 1981.

- BIELESKI, R.L. Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 24, p. 225-252, 1973.
- BIELESKI, R.L.; FERGUSON, I.B. Physiology and metabolism of phosphate and its compounds. In: LAUCHLI, A.; BIELESKI, R.L. **Inorganic plant nutrition**. Berlin : Springer-Verlag, 1983. v.1, p. 422 - 499.
- BRENDEMUEHEL, R.H. The phosphorus placement problem in forest fertilization. In : NORTH AMERICAN, AMERICAN FOREST SOIL CONFERENCE, Raleigh, 1968. **Tree growth and forest soils: proceedings**. Oregon : Oregon State University Press, 1968. p.43 - 50.
- CALDAS, L.S.; PADDMAJA; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília : ABCTP/EMBRAPA, CNPH, 1990. p.1990.
- DAVIDE, A.C. Estabilidade fenotípica em espécies florestais. **Circular Técnica IPEF**, n. 173, p. 1 - 6, 1990.
- DUFF, S.M.G.; PLAXTON, W. C.; LEFEBVRE, D.D. Phosphate starvation response in plant cells: *De Novo* synthesis and degradation of acid phosphatases. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 88, p. 9538 - 9542, 1991.
- DUFF, S.M.G.; SARATH, G.; PLAXTON, W.C. The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism **Physiologia Plantarum**, v. 90, p. 791-800, 1994.
- EBERHART, S.A.; RUSSEL, W.A. Stability parameters for comparing varieties. **Crop Science**, v. 6, p. 36-40, 1966.
- EPSTEIN, E. **Nutrição mineral das plantas : princípios e perspectivas**. São Paulo: EDUSP, 1975. 341 p.

- FAGERIA, N.K.; BARBOSA FILHO, M.P. Avaliação de cultivares de arroz para maior eficiência na absorção de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 16, n.6, p. 777 - 782, 1981.
- FINLAY, K.W.; WILKINSON, G.N. The analysis of adaptation in a breeding programme. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 14, p. 742-754, 1963.
- FURLANI, A.M.C.; CLARK, R.B.; MARANVILLE, J.W. ; ROSS, W.M. Root phosphatase activity of sorghum genotypes grown with organic and inorganic sources of phosphorus. **Journal of Plant Nutrition**, v.77, n. 11, p.1583-1595, 1984.
- FURLANI, P.R.; FURLANI, A.M.C. Estresse nutricional: técnicas de seleção de plantas em apoio ao melhoramento genético. In : REUNIÃO BRASILEIRA DE FISIOLOGIA VEGETAL, 2., Anais. Piracicaba : ESALQ, 1989. p. 93 - 99.
- GONÇALVES, A.N. Reversão a juvenilidade e clonagem de *Eucalyptus urophylla*, S.T. BLAKE *in vitro*. Piracicaba, 1982. 97p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- GONÇALVES, A.N. Reversion to juvenility and cloning of *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake in cell and tissue culture systems. In : FAST GROWING TREES IUFRO SYMPOSIUM, Águas de São Pedro, 1980. **Silvicultura**, n. 32, p. 786 - 787, 1983
- GOURLEY, C.J.P.; ALLAN, D.L.; RUSSELLE, M.P. Plant nutrient efficiency: A comparison of definitions and suggested improvement. **Plant and Soil**, v. 158, p. 29-37, 1994.

- GRAY, D.J.; AMERSON, H.V. *In vitro* colonization and resistance of loblolly pine embryos infected with fusiform rust fungus. Tissue culture in forestry and agriculture. In : TENNESSEE SYMPOSIUM ON PLANT CELL AND TISSUE CULTURE, Knoxville, 1984. **Proceedings**. New York : Plenum Press, 1985. p. 257-270.
- GROSE, M.J. Phosphorus nutrition of seedlings of Waratah, *Tilopea speciosissima* (Sm) r. Br (proteaceae). **Australian Journal of Botany**, v. 37, p. 313 - 320, 1989.
- HALDANE, J.B.S. The status of evolution. In: HUXLEY, J.A.C.; HARELY, E.B.; FORD, (Ed). **Evolution as a process**. London : Allen & Unwin, 1954. p.121-190.
- HELAL, H.M. Varietal differences in root phosphatase activity as related to the utilization of organic phosphates. **Plant and Soil**, v. 123, p. 161 - 163, 1990.
- HEVITT, E.J.; TATHAN, P. Interaction of mineral deficiency and nitrogen source on acid phosphatase activity in leaf extrats. **Journal of Experimental Botany**, v.11, p. 375-376, 1960.
- JAHROMI, S.T.; SMITH, W.H.; GODDARD. Genotype x fertilizer interactions in slash pine : variation in phosphate (^{33}P) incorporation. **Forest Science**, v.22, n.1, p. 21 - 32, 1976.
- JANSEN, A. Hessische Forstliche Versuchsanstalt, Hann. Munden, Germany. Resistance testing of poplar using elarly in vitro tests with bacterial canker. **Holzzucht**, v.44, n. 3 / 4, p. 17-23, 1990.

- JANSEN, A. Development of early-test methods in the in vitro phase for testing the resistance of poplar clones to the poplar canker pathogen *Xanthomonas populi* subsp. *populi*. **Schriften-des-Forschungsinstitutes-fur-Schnellwachsende-Baumarten**, n. 7, p. 1 - 48, 1991.
- JAYASEKERA, N.E.M. A basis for selecting Hevea clones stable to unpredictable agro-climatic variability. **Silvae Genetica**, v.32, n. 5/6, p. 181-184, 1983.
- KALIL FILHO, A.N. A estabilidade genotípica como uma medida de adaptação nas espécies florestais. **Brasil Florestal**, v. 53, p. 53-57, 1983.
- KUCEY, R.M.N.; JANZEN H.H.; LEGGETT, M.E. Microbiology mediated increases in plant : available phosphorus. **Advances in Agronomy**, v. 42, p. 199 - 228, 1989.
- LEI, B.J.; LAPEYRIE, F.; MALAJCZUK, N.; DEXHEIMER J. Infectivity of pine and eucalypt isolates of *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch on roots of Eucalyptus urophylla S.T. Blake in vitro. **New Phytologist**, v. 116, p. 115-122, 1990.
- LIN, C.S.; BINNS, M.R.; LEFKOVITCH, L.P. Stability Analysis : where do we stand? **Crop Science**, v.26, n.5, p.894-899. 1986.
- MCLACHLAN, K.D. Comparative phosphorus responses in plants to a range of available phosphorus situations. **Australian Journal of Agriculture Research**, v. 27, p. 323-341, 1976.
- MATEZIRIS, D.I.; ZOBEL, V.J. The effect of fertilization on growth and quality characteristics of loblolly pines. **Forest Ecology and Management**, v. 1, p. 21-30, 1976.

- MEZZETTI, B.; ROSATI, P.; CASALICCHIO, G. *Actinidia deliciosa* C.F. Liang in vitro. I. Growth and mineral uptake by explants. **Plant Cell. Tissue and Organ Culture**, v. 25, p. 91-98, 1991.
- MIX, G. Application of *in vitro* techniques for screen plant genetics variability. In: BASSAN, N.F. et al. (Eds.) **Genetics aspects of plant mineral nutrition**. Wageningen : Kluwer Academy, 1990. p. 339 - 343.
- MORABITO, D.; MILLS, D.; DIZENGREMEL, P. Response of clones of *Eucalyptus microtheca* to NaCl in vitro. **Tree-Physiology**, v.14, n. 2, p. 201-210, 1994.
- MORAN, G.F.; BELL, Eucalyptus. In: TANKSLEY, S.D.; OSTON, T.J (Ed.). **Isozymes in plant genetics and breeding**. Amsterdam : Elsevier, 1983. pt.B., p.423-441.
- MORA, A.L. Interação com espaçamento e locais em clones de *Eucalyptus* spp no norte do Estado da Bahia, Piracicaba. 1986. 101 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- MORI, E.S.; SANTOS, P.E.T. do. Programa Cooperativo Interação genótipos x ambientes. **IPEF - Série Técnica**, v. 6 n. 21, p. 1-34, 1983.
- NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F.; MUNIZ, A.S. Níveis críticos de fósforo em diferentes solos e extratores químicos para crescimento de mudas de eucalipto. **Acta Forestalia Braziliensis**, v.2, p. 63 - 79, 1987.
- NEWTON, R.J.; SEN, S.; PURYEAR, J.D. Solute contributions to osmotic potential in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) callus. **Journal-of-Plant-Physiology**, v. 134, n. 6, p. 746-750, 1989.

- NOVAES, R.F.; BARROS, N.F.; NEVES, J.C.L.; COUTO, C. Níveis críticos de fósforo no solo para eucalipto. **Revista Árvore**, v. 6, n. 1, p. 29-37, 1982.
- O'CONNELL, A.M.; GROVE, T.S. Acid Phosphatase Activity in karri (*Eucalyptus diversicolor* F.Muell) in Relation to Soil Phosphate and Nitrogen Supply. **Journal of Experimental Botany**, v. 36, n. 170, p. 1359 - 1372, 1985.
- OLIVEIRA, I.P. de; THUNG, M.; KLUTHCOUSKI, J.; AIDAR, H.; CARVALHO, J.R.P. Avaliação de cultivares de feijão quanto à eficiência no uso de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 22, n.1, p. 39-45, 1987.
- PEREIRA, A.P.; BARROS, N.F. de; ANDRADE, D.C. Concentração e distribuição de nutrientes de *Eucalyptus grandis* em função da idade, cultivado em solo de cerrado. In : CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, Curitiba, 1983. Anais. Curitiba : SBCS, 1983.
- RODRIGUES, L.C. Relação entre parâmetros silviculturais e concentração de P, K, Ca e Mg em árvores de *Eucalyptus saligna* Smith em Brotas - São Paulo. Piracicaba, 1986. 57p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- SCHWARTZ, D.; LAUGER, W.J. A molecular basis for heterosis. **Science**, v. 166, p. 626-627, 1969.
- SMITH, W.H.; GODDARD, E. Effects of genotype on the response to fertilizer p. 155-68. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FOREST FERTILIZATION, Paris, 1973. Rome: FAO/ IUFRO, 1973. p.155 - 168.

- SILVA, H.D. da. Biomassa e aspectos nutricionais de cinco espécies do gênero *Eucalyptus*, plantadas em solo de baixa fertilidade. Piracicaba, 1983. 91p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo.
- SOARES; BORGES, A.C.; BARROS, N.F.; NEVES, J.C.; BELLEI, M.M. Teor de fósforo no solo influenciando o desenvolvimento de ectomicorrizas e nutrição e crescimento de mudas de eucalipto. **Revista Árvore**, v.13, p. 140-149, 1989.
- TAL, M. Selection for stress tolerance. In: EVANS, D. A. (Ed.). **Handbook of plant cell culture** : tecnicas of propagation and breeding. New York : Macmillan, 1982. cap. 12, p. 461-488.
- TYNKER, P.B.. Root distribution and nutrient uptake. In: RUSSEL, R.S.; IGUE, K.; MEHTA, Y.R. (Ed). **The soil root system in relation to Brazilian Agriculture**. Londrina : IAPAR, 1980. p.115-136.
- UEKI, K.; SATO, S. Regulation of phosphatase synthesis by orthophosphate in cultured tobacco cells. **Plant Cell Physiology**, v.18, p.1253-1263, 1977.
- VALE, F.R. Efeito do alumínio sobre o cinética de absorção de nitrato, amônio e fosfato em milho (*Zea mays L.*) e em clone de eucalipto (*Eucalyptus alba*). Viçosa, 1982. 71p. Dissertação (M.S.) - Universidade Federal de Viçosa.
- VETTORAZZO, S.C. Efeito de fatores do solo e de genótipos no crescimento, nutrição e fosfatase ácida em clones de *Eucalyptus grandis*. Hill ex Maiden. Piracicaba, 1989. 115p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- WARING, H.D.; SNOWDON, P. Early growth responses by *Pinus radiata* to three mixed fertilizer. **Australian Forest Research**, v.16, n. 1, p. 91-95, 1986.

WILLIAMS, R.R. Mineral nutrition *in vitro* - a mechanistic approach. **Australian Journal of Botany**, v.41, p.237 - 251, 1993.

Worthington Enzyme Manual - enzymes, enzymes reagents: related biochemicals. (Ed.) Lilian A. Decker. Freehold, New Jersey, USA, 1977. p. 145 - 146.

ZAINI, Z.; MERCADO, B.T. Phosphorus nutrition and phosphatase activity of young rice plants grown in culture solution. I-Level of phosphorus and phosphatase activity of the roots. **Phillipine Agriculturist**, v. 68, p. 211-216, 1985a.

ZAINI, Z.; MERCADO, B.T. Phosphorus nutrition and phosphatase activity of young rice plants grown in culture solution. II - Phosphorus Aluminium interaction and phosphatase activity of the roots. **Phillipine Agriculturist**, v. 68, p. 217-224, 1985b.

ZAINI, Z.; MERCADO, B.T. Phosphorus nutrition and phosphatase activity of young rice plants grown in culture solution. III- Calcium Aluminium-Manganese interaction and phosphatase activity of the root. **Phillipine Agriculturist**, . 68, p. 225-236, 1985c.

Apêndice 1 - Estabilidade fenotípica das progênes de *E.grandis* de acordo com os respectivos valores de b para volume

Apêndice 02 - Frutos das nove matrizes de *E. grandis* por classe de estabilidade fenotípica.

ESTABILIDADE SUPERIOR

ESTABILIDADE MÉDIA

ESTABILIDADE INFERIOR

Apêndice 3 - Índice Ambiental de *E.grandis* aos 4,3 anos de idade para as variáveis Altura e DAP

**Apêndice 4 - Análise química de solos dos locais dos testes de progênes de
E. grandis.**

Gleba	Talhão	Prof. (cm)	pH CaCl ₂	M.O (%)	P (ppm)	K	Ca	Mg	H+Al meq / 100 cm ³	Al	SB	CTC	V (%)	m (%)
1	043	0 - 15	4,0	1,5	3	0,01	0,1	0,1	5,2	1,8	0,21	5,41	3,88	89,55
		15 - 39	4,1	0,9	3	0,01	0,1	0,1	4,7	1,7	0,21	4,91	4,28	89,01
		39 - 70	4,0	0,9	1	0,01	0,1	0,1	4,2	1,7	0,21	4,41	4,76	89,01
		70 - 114	4,1	0,8	1	0,01	0,1	0,1	4,2	1,6	0,21	4,41	4,76	88,40
		114 - 200	4,1	0,5	1	0,01	0,1	0,1	3,4	1,5	0,21	3,61	5,82	87,72
2	002	0 - 21	3,9	2,9	5	0,01	0,1	0,1	8,0	1,8	0,21	8,21	2,56	89,55
		21 - 45	4,0	2,0	1	0,01	0,2	0,1	4,7	1,6	0,31	5,01	6,19	83,77
		45 - 72	3,9	1,9	2	0,01	0,1	0,1	5,8	1,3	0,21	6,01	3,49	86,09
		72 - 92	4,0	1,6	1	0,01	0,2	0,1	4,2	1,1	0,31	4,51	6,87	78,01
		92 - 115	4,1	1,4	1	0,01	0,1	0,1	3,8	0,9	0,21	4,01	5,24	81,08
3	040	115 - 200	4,5	0,9	1	0,01	0,1	0,1	2,2	0,2	0,21	2,41	8,71	48,78
		0 - 23	4,0	5,5	2	0,03	0,1	0,1	9,8	2,2	0,23	10,03	2,29	90,53
		23 - 57	4,1	4,1	1	0,01	0,1	0,1	7,2	1,4	0,21	7,41	2,83	86,96
		57 - 91	4,2	2,0	1	0,01	0,1	0,1	5,8	1,2	0,21	6,01	3,49	85,11
		91 - 142	4,3	1,5	1	0,01	0,1	0,1	4,7	0,8	0,21	4,91	4,28	79,21
4	080	142 - 200	4,3	1,1	1	0,01	0,1	0,1	3,8	0,7	0,21	4,01	5,24	76,92
		0 - 35	4,0	0,9	2	0,03	0,1	0,1	2,2	0,9	0,23	2,43	9,47	79,65
		35 - 60	4,1	0,7	1	0,01	0,1	0,1	1,6	0,7	0,21	1,81	11,60	76,92
		60 - 88	4,1	0,6	1	0,01	0,1	0,1	1,6	0,7	0,21	1,81	11,60	76,92
		88 - 130	4,1	0,7	1	0,01	0,2	0,1	1,8	0,8	0,31	2,11	14,69	72,07
5	001	130 - 200	4,1	0,7	1	0,01	0,1	0,1	1,6	0,7	0,21	1,81	11,60	76,92
		0 - 22	3,8	2,0	4	0,01	0,1	0,1	5,8	1,3	0,21	6,01	3,49	86,09
		22 - 57	3,8	1,1	4	0,01	0,3	0,1	3,8	1,0	0,41	4,21	9,74	70,92
		57 - 110	4,0	0,9	2	0,01	0,2	0,1	2,8	0,8	0,31	3,11	9,97	72,07
		110 - 200	4,0	0,5	1	0,01	0,1	0,1	1,8	0,7	0,21	2,01	10,45	76,92

(continua)

Apêndice 4 - Análise química de solos dos locais dos testes de progênes de *E.grandis*. (continuação)

Local	Talhão	Prof. (cm)	Cu	Fe	Zn	Mn	B	S SO4	Argila	Arcia Grossa	Arcia Fina	Silte
			mg dm ⁻³						(%)			
1	043	0 - 15	0,4	60	0,15	0,7	0,49	9	18,5	32,1	39,4	10,0
		15 - 39	0,2	38	0,20	0,3	0,35	9	18,5	34,2	40,8	6,5
		39 - 70	0,2	22	0,15	0,3	0,32	10	20,3	43,3	30,2	6,2
		70 - 114	0,3	16	0,35	0,3	0,32	15	22,7	33,7	31,9	11,7
		114 - 200	0,2	11	0,30	0,2	0,29	9	24,7	34,0	32,0	9,3
2	002	0 - 21	1,2	136	0,65	0,5	0,37	19	32,2	5,7	50,4	11,7
		21 - 45	0,5	68	0,35	0,2	0,32	18	35,9	5,1	49,0	10,0
		45 - 72	0,3	28	0,25	0,1	0,29	27	38,2	5,9	46,7	9,2
		72 - 92	0,2	19	0,90	0,1	0,26	46	35,4	4,9	47,3	12,4
		92 - 115	0,2	11	0,10	0,1	0,24	55	37,7	5,5	46,3	10,5
3	040	115 - 200	0,1	9	0,10	0,1	0,21	31	34,8	4,7	48,1	12,4
		0 - 23	0,2	230	0,80	0,6	0,32	29	38,9	24,5	13,1	23,5
		23 - 57	0,1	70	0,20	0,4	0,26	46	48,9	19,8	12,3	19,0
		57 - 91	0,1	40	0,10	0,1	0,32	68	53,7	21,2	11,7	13,4
		91 - 142	0,1	27	0,10	0,1	0,24	64	59,0	19,7	12,4	8,9
4	080	142 - 200	0,1	17	0,10	0,1	0,26	78	62,2	21,4	11,7	4,7
		0 - 35	0,2	36	0,70	0,3	0,21	17	10,1	41,5	48,3	0,1
		35 - 60	0,2	27	0,35	0,2	0,24	20	10,6	21,8	57,2	0,4
		60 - 88	0,2	18	0,65	0,2	0,26	17	11,9	35,7	52,2	0,2
		88 - 130	0,3	16	0,65	0,3	0,24	11	12,4	42,5	44,2	0,9
5	001	130 - 200	0,3	13	0,50	0,6	0,24	20	15,7	32,2	51,3	0,8
		0 - 22	0,2	230	0,55	0,7	0,26	6	7,0	30,3	62,6	0,1
		22 - 57	0,1	97	0,20	0,4	0,26	7	7,5	31,2	60,8	0,5
		57 - 110	0,1	46	0,05	0,2	0,24	11	8,7	29,0	61,3	1,0
		110 - 200	0,1	28	0,15	0,3	0,26	13	9,3	26,2	63,6	0,9

Apêndice 5 - Meio de cultura G.M. (Gonçalves 1980 modificado)

Macro e Microelementos	P.M.	mg/l
NH_4NO_3	80,04	800,5
KNO_3	101,10	1011,1
KH_2PO_4	136,09	170,0
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236,16	236,16
$\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246,50	246,5
H^3BO_3	61,84	6,2
$\text{Fe SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	278,03	27,8
$\text{Na}_2\text{ EDTA}$	372,25	37,3
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	237,97	0,25
$\text{Mn SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	169,01	1,7
$\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	249,69	0,025
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	241,98	0,241
KI	166,00	0,8
$\text{Zn SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	287,56	3,0

Vitaminas e Aminoácidos	P.M.	mg/l
Inositol	180,16	100,0
Ácido Nicotínico	123,11	0,5
Piridoxina.HCl	208,64	0,5
Tiamina.HCl	337,28	5,0
Pantotenato de Cálcio	476,56	1,0

Apêndice 6 - Análise química do agar em relação aos teores de nutrientes minerais

ESALQ - USP

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FLORESTAIS

LABORATÓRIO DE HIDROLOGIA, ECOLOGIA E NUTRIÇÃO FLORESTAL

Data : 23.11.95

Material : Ágar

AMOSTRA	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Mn	Fe	Zn	Na
	%						ppm				
1	0,07	0,03	0,01	0,56	0,06	0,55	25	10	15	15	4950

Apêndice 7 - Índice Ambiental morfológico para a variável altura média (cm) das plântulas de *E.grandis* (ALT) aos 30 e aos 60 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P.

Apêndice 8 - Média dos pares de folhas das plântulas de progênies de *E.grandis* por dose de P e classe de estabilidade fenotípica aos 30 dias de cultura *in vitro*

Estabilidade superior

Estabilidade média

Estabilidade inferior

Apêndice 9 - Média do tipo de raiz das plântulas de progênes de *E.grandis* por dose de P e classe de estabilidade fenotípica aos 30 dias de cultura *in vitro*.

Apêndice 10 - Média do peso da matéria seca da parte aérea das plântulas de progênies de *E.grandis* por dose de P e classe de estabilidade fenotípica aos 60 dias de cultura *in vitro*.

Estabilidade superior

Estabilidade média

Estabilidade inferior

Apêndice 11 - Média do peso da matéria seca do sistema radicular das plântulas de progênes de *E.grandis* por dose de P e classe de estabilidade fenotípica aos 60 dias de cultura *in vitro*.

Estabilidade superior

Estabilidade média

Estabilidade inferior

Apêndice 12 - Atividade da fosfatase ácida por grama de matéria fresca para folha (Bloco 1) de plântulas de progênes de *E. grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P.

FOLHA	Pr	TRAT.	P1	P2	P3	Peso (g)	Somatória picos	Y=P1/SOM.	Z=P2/SOM.	W=P3/SOM.	AP1	AP2	AP3	Somatória	Ganho
B1	13	1	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	7,0
B1	13	2	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	7,0
B1	13	3	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	7,0
B1	13	4	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	7,0
B1	13	5	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	7,0
B1	20	6	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	7,0
B1	20	7	39,375	0,000	0,000	0,030	39,375	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B1	20	8	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	7,0
B1	20	9	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	7,0
B1	20	10	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	7,0
B1	22	11	35,000	0,000	0,000	0,030	35,000	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B1	22	12	0,625	0,000	0,000	0,030	0,625	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B1	22	13	28,750	0,000	0,000	0,030	28,750	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B1	22	14	1,250	0,000	0,000	0,030	1,250	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B1	22	15	8,750	0,000	0,000	0,030	8,750	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B1	14	16	480,000	55,000	0,000	0,015	535,000	0,150	0,103	0,000	59,813	6,854	0,000	66,667	0,0
B1	14	17	565,000	80,000	0,000	0,015	645,000	0,136	0,124	0,000	58,397	8,269	0,000	66,666	2,0
B1	14	18	465,000	87,500	0,000	0,015	552,500	0,842	0,158	0,000	56,109	10,558	0,000	66,667	3,0
B1	14	19	310,000	45,000	0,000	0,015	355,000	0,873	0,127	0,000	58,216	8,451	0,000	66,667	0,0
B1	14	20	325,000	41,870	0,000	0,015	366,870	0,886	0,114	0,000	59,058	7,609	0,000	66,667	3,0
B1	15	21	415,000	65,000	0,000	0,015	480,000	0,865	0,135	0,000	57,639	9,028	0,000	66,667	3,0
B1	15	22	340,000	40,000	0,000	0,015	380,000	0,895	0,105	0,000	59,649	7,018	0,000	66,667	3,0
B1	15	23	435,000	76,870	0,000	0,015	511,870	0,850	0,150	0,000	56,655	10,012	0,000	66,667	3,0
B1	15	24	340,000	50,000	0,000	0,015	390,000	0,872	0,128	0,000	58,120	8,547	0,000	66,667	1,0
B1	15	25	365,000	45,000	0,000	0,015	410,000	0,890	0,110	0,000	59,350	7,317	0,000	66,667	3,0
B1	5	26	470,000	66,250	0,000	0,015	536,250	0,876	0,124	0,000	58,430	8,236	0,000	66,667	3,0
B1	5	27	425,000	70,000	0,000	0,015	495,000	0,859	0,141	0,000	57,239	9,428	0,000	66,667	3,0
B1	5	28	215,000	20,000	0,000	0,015	235,000	0,915	0,085	0,000	60,993	5,674	0,000	66,667	3,0
B1	5	29	257,500	37,500	0,000	0,015	295,000	0,873	0,127	0,000	58,192	8,475	0,000	66,667	4,0
B1	5	30	390,000	40,000	0,000	0,015	430,000	0,907	0,093	0,000	60,465	6,202	0,000	66,667	5,0

(Continua)

Apêndice 12 - Atividade da fosfatase ácida por grama de matéria fresca para folha (Bloco 1) de plântulas de progênes de *E. grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P. (Continuação)

B1	9	31	330,000	33,750	0,000	0,015	363,750	0,907	0,093	0,000	60,481	6,186	0,000	66,667	5,0
B1	9	32	390,000	60,000	0,000	0,015	450,000	0,867	0,133	0,000	57,778	8,889	0,000	66,667	5,0
B1	9	33	260,000	40,000	0,000	0,015	300,000	0,867	0,133	0,000	57,778	8,889	0,000	66,667	5,0
B1	9	34	371,870	33,870	0,000	0,015	405,740	0,917	0,083	0,000	61,102	5,565	0,000	66,667	6,0
B1	9	35	258,120	38,750	0,000	0,015	296,870	0,869	0,131	0,000	57,965	8,702	0,000	66,667	6,0
B1	16	36	450,000	53,100	20,620	0,015	523,720	0,859	0,101	0,039	57,283	6,759	2,625	66,667	3,0
B1	16	37	455,000	46,300	11,250	0,015	512,550	0,888	0,090	0,022	59,181	6,022	1,463	66,667	4,0
B1	16	38	410,000	23,700	6,250	0,015	439,950	0,932	0,054	0,014	62,128	3,591	0,947	66,667	4,0
B1	16	39	405,000	56,300	19,370	0,015	480,670	0,843	0,117	0,040	56,172	7,809	2,687	66,667	4,0
B1	16	40	310,000	55,000	13,120	0,015	378,120	0,820	0,145	0,035	54,656	9,697	2,313	66,667	4,0
B1	12	41	250,000	8,700	0,000	0,015	258,700	0,966	0,034	0,000	64,425	2,242	0,000	66,667	4,0
B1	12	42	360,000	1,800	0,000	0,015	361,800	0,995	0,005	0,000	66,335	0,332	0,000	66,667	4,0
B1	12	43	352,500	21,200	0,620	0,015	374,320	0,942	0,057	0,002	62,781	3,776	0,110	66,667	4,0
B1	12	44	360,000	36,800	12,490	0,015	409,290	0,880	0,090	0,031	58,638	5,994	2,034	66,667	4,0
B1	12	45	345,000	28,100	9,990	0,015	383,090	0,901	0,073	0,026	60,038	4,890	1,738	66,667	4,0

Apêndice 12- Atividade da fosfatase ácida por grama de matéria fresca para folha (Bloco 2) de plântulas de progênes de *E. grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P.

FOLHA	Pr	TRAT.	P1	P2	P3	Peso (g)	SOM. PICOS	Y=P1/SOM.	Z=P2/SOM.	W=P3/SOM.	AP1	AP2	AP3	Somatória	Ganho
B2	13	1	256,200	56,200	0,000	0,015	312,400	0,820	0,180	0,000	54,673	11,993	0,000	66,667	1,0
B2	13	2	465,000	75,000	0,000	0,015	540,000	0,861	0,139	0,000	57,407	9,259	0,000	66,667	3,0
B2	13	3	480,000	68,700	0,000	0,015	548,700	0,875	0,125	0,000	58,320	8,347	0,000	66,667	3,0
B2	13	4	500,000	67,500	0,000	0,015	567,500	0,881	0,119	0,000	58,737	7,930	0,000	66,667	3,0
B2	13	5	465,000	66,870	0,000	0,015	531,870	0,874	0,126	0,000	58,285	8,382	0,000	66,667	4,0
B2	20	6	480,000	88,100	0,000	0,015	568,100	0,845	0,155	0,000	56,328	10,339	0,000	66,667	4,0
B2	20	7	575,000	131,100	0,000	0,015	706,100	0,814	0,186	0,000	54,289	12,378	0,000	66,667	4,0
B2	20	8	610,000	121,800	0,000	0,015	731,800	0,834	0,166	0,000	55,571	11,096	0,000	66,667	4,0
B2	20	9	530,000	63,120	0,000	0,015	593,120	0,894	0,106	0,000	59,572	7,095	0,000	66,667	4,0
B2	20	10	530,000	105,000	0,000	0,015	635,000	0,835	0,165	0,000	55,643	11,024	0,000	66,667	4,0
B2	22	11	425,000	66,250	6,250	0,015	497,500	0,854	0,133	0,013	56,951	8,878	0,838	66,667	0,0
B2	22	12	375,000	45,000	0,000	0,015	420,000	0,893	0,107	0,000	59,524	7,143	0,000	66,667	1,0
B2	22	13	360,000	44,370	0,620	0,015	404,990	0,889	0,110	0,002	59,261	7,304	0,102	66,667	1,0
B2	22	14	310,000	40,000	3,750	0,015	353,750	0,876	0,113	0,011	58,422	7,538	0,707	66,667	2,0
B2	22	15	495,000	85,000	7,500	0,015	587,500	0,843	0,145	0,013	56,170	9,645	0,851	66,667	3,0
B2	14	16	385,000	67,500	3,120	0,015	455,620	0,845	0,148	0,007	56,333	9,877	0,457	66,667	3,0
B2	14	17	350,000	85,000	4,370	0,015	439,370	0,797	0,193	0,010	53,106	12,897	0,663	66,667	3,0
B2	14	18	470,000	90,000	9,370	0,015	569,370	0,825	0,158	0,016	55,032	10,538	1,097	66,667	3,0
B2	14	19	560,000	96,870	9,370	0,015	666,240	0,841	0,145	0,014	56,036	9,693	0,938	66,667	3,0
B2	14	20	430,000	15,000	10,000	0,015	455,000	0,945	0,033	0,022	63,004	2,198	1,465	66,667	0,0
B2	15	21	350,000	110,000	13,750	0,015	473,750	0,739	0,145	0,024	49,252	15,479	1,935	66,666	0,0
B2	15	22	385,000	68,700	11,250	0,015	464,950	0,828	0,151	0,025	55,203	9,850	1,613	66,666	1,0
B2	15	23	475,000	70,000	11,800	0,015	556,800	0,853	0,126	0,021	56,873	8,381	1,413	66,667	3,0
B2	15	24	390,000	65,000	30,000	0,015	485,000	0,804	0,134	0,062	53,608	8,935	4,124	66,667	3,0
B2	15	25	405,000	55,000	10,000	0,015	470,000	0,862	0,117	0,021	57,447	7,801	1,418	66,667	3,0
B2	5	26	420,000	85,000	3,750	0,015	508,750	0,826	0,167	0,007	55,037	11,138	0,491	66,667	1,0
B2	5	27	425,000	70,000	14,300	0,015	509,300	0,834	0,137	0,028	55,632	9,163	1,872	66,667	1,0
B2	5	28	415,000	55,000	8,750	0,015	478,750	0,867	0,115	0,018	57,789	7,659	1,218	66,667	1,0
B2	5	29	455,000	70,000	18,120	0,015	543,120	0,838	0,129	0,033	55,850	8,592	2,224	66,667	1,0
B2	5	30	480,000	88,100	21,240	0,015	589,340	0,814	0,149	0,036	54,298	9,966	2,403	66,667	1,0

(Continua)

Apêndice 12- Atividade da fosfatase ácida por grama de matéria fresca para folha (Bloco 2) de plântulas de progênies de *E. grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P. (Continuação)

B2	9	31	552,500	71,250	28,750	0,015	652,500	0,847	0,109	0,044	56,450	7,280	2,937	66,667	0,0
B2	9	32	490,000	54,300	13,120	0,015	557,420	0,879	0,097	0,024	58,603	6,494	1,569	66,667	4,0
B2	9	33	485,000	66,870	18,120	0,015	569,990	0,851	0,117	0,032	56,726	7,821	2,119	66,667	1,0
B2	9	34	400,000	55,000	8,750	0,015	463,750	0,863	0,119	0,019	57,502	7,907	1,258	66,667	1,0
B2	9	35	412,000	80,000	15,000	0,015	507,000	0,813	0,158	0,030	54,175	10,519	1,972	66,667	2,0
B2	16	36	400,000	42,500	12,500	0,015	455,000	0,879	0,093	0,027	58,608	6,227	1,832	66,667	4,0
B2	16	37	445,000	84,750	5,620	0,015	535,370	0,831	0,158	0,010	55,413	10,553	0,700	66,667	1,0
B2	16	38	520,000	95,000	7,500	0,015	622,500	0,835	0,153	0,012	55,689	10,174	0,803	66,667	1,0
B2	16	39	460,000	84,370	10,620	0,015	554,990	0,829	0,152	0,019	55,256	10,135	1,276	66,667	4,0
B2	16	40	450,000	70,000	5,000	0,015	525,000	0,857	0,133	0,010	57,143	8,889	0,635	66,667	0,0
B2	12	41	235,000	35,000	25,000	0,015	295,000	0,797	0,119	0,085	53,107	7,910	5,650	66,667	4,0
B2	12	42	385,000	40,000	17,500	0,015	442,500	0,870	0,090	0,040	58,004	6,026	2,637	66,667	2,0
B2	12	43	380,000	30,000	20,000	0,015	430,000	0,884	0,070	0,047	58,915	4,651	3,101	66,667	2,0
B2	12	44	295,000	45,000	20,000	0,015	360,000	0,819	0,125	0,056	54,630	8,333	3,704	66,667	2,0
B2	12	45	305,000	25,000	20,000	0,015	350,000	0,871	0,071	0,057	58,095	4,762	3,810	66,667	3,0

Apêndice 13 - Atividade da fosfatase ácida por grama de matéria fresca para raiz (Bloco I) de plântulas de progênes de *E. grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P.

RAIZ	Pr	TRAT.	P1	P2	P3	Peso (g)	Somatória picos	Y=P1/SOM.	Z=P2/SOM.	W=P3/SOM.	AP1	AP2	AP3	Somatória	Ganho
B1	13	1	21,875	0,000	0,000	0,030	21,875	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	9,0
B1	13	2	6,250	0,000	0,000	0,030	6,250	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	9,0
B1	13	3	3,750	0,625	0,000	0,030	4,375	0,857	0,143	0,000	28,571	4,762	0,000	33,333	9,0
B1	13	4	13,750	8,125	0,000	0,030	21,875	0,629	0,371	0,000	20,952	12,381	0,000	33,333	9,0
B1	13	5	18,750	1,250	0,000	0,030	20,000	0,938	0,062	0,000	31,250	2,083	0,000	33,333	9,0
B1	20	6	38,125	6,250	0,000	0,030	44,375	0,859	0,141	0,000	28,638	4,695	0,000	33,333	9,0
B1	20	7	48,125	50,000	0,000	0,030	98,125	0,491	0,509	0,000	16,348	16,985	0,000	33,333	9,0
B1	20	8	90,000	60,000	0,000	0,030	150,000	0,600	0,400	0,000	20,000	13,333	0,000	33,333	9,0
B1	20	9	56,875	35,000	0,000	0,030	91,875	0,619	0,381	0,000	20,635	12,698	0,000	33,333	9,0
B1	20	10	101,250	89,375	0,000	0,030	190,625	0,531	0,469	0,000	17,705	15,628	0,000	33,333	9,0
B1	22	11	3,750	0,000	0,000	0,030	3,750	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	5,0
B1	22	12	19,375	0,000	0,000	0,030	19,375	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	5,0
B1	22	13	0,625	0,000	0,000	0,030	0,625	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	5,0
B1	22	14	0,625	0,000	0,000	0,030	0,625	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	5,0
B1	22	15	0,000	0,000	0,000	0,030	0,000	0,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	5,0
B1	14	16	80,000	71,800	28,100	0,030	179,900	0,445	0,399	0,156	14,823	13,304	5,207	33,333	4,8
B1	14	17	140,000	145,000	55,000	0,030	340,000	0,412	0,426	0,162	13,725	14,216	5,392	33,333	7,0
B1	14	18	170,000	145,000	55,000	0,030	370,000	0,459	0,392	0,149	15,315	13,063	4,955	33,333	7,0
B1	14	19	145,000	80,000	40,000	0,030	265,000	0,547	0,302	0,151	18,239	10,063	5,031	33,333	7,5
B1	14	20	80,000	85,000	25,000	0,030	190,000	0,421	0,447	0,132	14,035	14,912	4,386	33,333	4,5
B1	15	21	121,200	121,800	36,800	0,030	279,800	0,433	0,435	0,132	14,439	14,510	4,384	33,333	4,5
B1	15	22	120,000	75,000	25,000	0,020	220,000	0,545	0,341	0,114	18,182	11,364	3,787	33,333	4,5
B1	15	23	125,000	77,500	27,500	0,030	230,000	0,543	0,337	0,120	18,116	11,232	3,986	33,333	4,5
B1	15	24	140,000	60,000	24,300	0,030	224,300	0,624	0,267	0,108	20,805	8,917	3,611	33,333	4,5
B1	15	25	97,500	71,500	28,100	0,030	197,100	0,495	0,363	0,143	16,489	12,092	4,752	33,333	4,5
B1	5	26	115,000	50,000	25,000	0,030	190,000	0,605	0,263	0,132	20,175	8,772	4,386	33,333	5,5
B1	5	27	145,000	33,750	16,250	0,030	195,000	0,744	0,173	0,083	24,786	5,769	2,778	33,333	7,0
B1	5	28	95,000	32,500	17,500	0,030	145,000	0,655	0,224	0,121	21,839	7,471	4,023	33,333	7,0
B1	5	29	92,500	57,500	20,000	0,030	170,000	0,544	0,338	0,116	18,137	11,275	3,922	33,333	7,0
B1	5	30	80,000	38,120	23,740	0,030	141,860	0,564	0,269	0,167	18,798	8,957	5,578	33,333	7,0

(Continua)

Apêndice 13 - Atividade da fosfatase ácida por grama de matéria fresca para raiz (Bloco 1) de plântulas de
progenies de *E. grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P. (Continuação)

B1	9	31	80,000	65,000	68,120	0,030	213,120	0,375	0,305	0,320	12,513	10,166	10,654	33,333	7,0
B1	9	32	78,750	27,500	33,750	0,030	140,000	0,563	0,196	0,241	18,750	6,548	8,036	33,333	7,0
B1	9	33	70,000	70,000	1,870	0,030	141,870	0,493	0,493	0,013	16,447	16,447	0,439	33,333	7,0
B1	9	34	33,120	35,000	22,500	0,030	90,620	0,365	0,386	0,248	12,183	12,874	8,276	33,333	7,0
B1	9	35	83,300	75,000	12,500	0,030	170,800	0,488	0,439	0,073	16,257	14,637	2,440	33,333	7,0
B1	16	36	285,000	195,000	65,000	0,030	545,000	0,523	0,358	0,119	17,431	11,927	3,976	33,333	6,0
B1	16	37	285,000	160,000	40,000	0,030	485,000	0,588	0,330	0,082	19,588	10,997	2,749	33,333	6,0
B1	16	38	275,000	156,870	34,370	0,030	466,240	0,590	0,336	0,074	19,661	11,215	2,457	33,333	6,0
B1	16	39	205,000	130,000	33,120	0,030	368,120	0,557	0,353	0,090	18,563	11,772	2,999	33,333	6,0
B1	16	40	160,000	103,120	21,870	0,030	284,990	0,561	0,362	0,077	18,714	12,061	2,558	33,333	6,0
B1	12	41	250,000	165,000	75,000	0,030	490,000	0,510	0,337	0,153	17,007	11,224	5,102	33,333	5,5
B1	12	42	240,000	172,500	62,500	0,030	475,000	0,505	0,363	0,132	16,842	12,105	4,386	33,333	6,0
B1	12	43	262,500	162,500	40,000	0,030	465,000	0,565	0,349	0,086	18,817	11,649	2,867	33,333	6,0
B1	12	44	225,000	150,000	45,000	0,030	420,000	0,536	0,357	0,107	17,857	11,905	3,571	33,333	6,0
B1	12	45	210,000	145,000	28,120	0,030	383,120	0,548	0,378	0,073	18,271	12,616	2,447	33,333	6,0

Apêndice 13 - Atividade da fosfatase ácida por grama de matéria fresca para raiz (Bloco 2) de plântulas de progênes de *E. grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P.

RAIZ	Pr	TRAT.	P1	P2	P3	Peso (g)	Somatória picos	Y=P1/SOM.	Z=P2/SOM.	W=P3/SOM.	AP1	AP2	AP3	Somatória	Ganho
B2	13	1	3,750	0,000	0,000	0,030	3,750	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B2	13	2	32,500	0,625	0,000	0,030	33,125	0,981	0,019	0,000	32,704	0,629	0,000	33,333	7,0
B2	13	3	22,500	0,000	0,000	0,030	22,500	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B2	13	4	40,625	0,000	0,000	0,030	40,625	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B2	13	5	25,000	0,000	0,000	0,030	25,000	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B2	20	6	48,125	0,000	0,000	0,030	48,125	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	7,0
B2	20	7	141,250	15,625	0,000	0,030	156,875	0,900	0,100	0,000	30,013	3,320	0,000	33,333	7,0
B2	20	8	94,375	20,625	0,000	0,030	115,000	0,821	0,179	0,000	27,355	5,978	0,000	33,333	7,0
B2	20	9	42,500	0,625	0,000	0,030	43,125	0,986	0,014	0,000	32,850	0,483	0,000	33,333	7,0
B2	20	10	28,750	10,000	0,000	0,030	38,750	0,742	0,258	0,000	24,731	8,602	0,000	33,333	7,0
B2	22	11	143,100	40,500	21,200	0,030	204,800	0,699	0,198	0,104	23,291	6,592	3,451	33,333	4,0
B2	22	12	135,000	31,800	8,120	0,030	174,920	0,772	0,182	0,046	25,726	6,060	1,547	33,333	4,0
B2	22	13	135,000	46,200	9,320	0,030	190,520	0,709	0,242	0,049	23,620	8,083	1,631	33,333	4,0
B2	22	14	170,000	55,000	11,870	0,030	236,870	0,718	0,232	0,050	23,923	7,740	1,670	33,333	4,0
B2	22	15	118,700	54,300	7,490	0,030	180,490	0,658	0,301	0,041	21,922	10,028	1,363	33,333	4,0
B2	14	16	86,800	41,800	3,750	0,030	132,350	0,656	0,316	0,028	21,861	10,528	0,944	33,333	4,0
B2	14	17	140,000	36,800	7,490	0,030	184,290	0,760	0,200	0,041	25,322	6,656	1,355	33,333	4,0
B2	14	18	135,000	32,500	32,500	0,030	200,000	0,675	0,163	0,163	22,500	5,417	5,417	33,333	4,0
B2	14	19	130,600	56,800	10,620	0,030	198,020	0,660	0,287	0,054	21,984	9,561	1,788	33,333	4,0
B2	14	20	111,800	43,100	3,120	0,030	158,020	0,708	0,273	0,020	23,584	9,092	0,658	33,333	4,0
B2	15	21	95,000	65,000	10,000	0,030	170,000	0,559	0,382	0,059	18,627	12,745	1,961	33,333	4,0
B2	15	22	60,000	55,600	12,500	0,030	128,100	0,468	0,434	0,098	15,613	14,468	3,253	33,333	4,0
B2	15	23	71,800	39,900	0,000	0,030	111,700	0,643	0,357	0,000	21,426	11,907	0,000	33,333	4,0
B2	15	24	95,000	39,300	0,000	0,030	134,300	0,707	0,293	0,000	23,579	9,754	0,000	33,333	4,0
B2	15	25	95,000	55,500	18,100	0,030	168,600	0,563	0,329	0,107	18,782	10,973	3,578	33,333	4,0
B2	5	26	48,700	21,200	0,000	0,030	69,900	0,697	0,303	0,000	23,224	10,110	0,000	33,333	4,0
B2	5	27	67,500	16,200	0,000	0,030	83,700	0,806	0,194	0,000	26,882	6,452	0,000	33,333	4,0
B2	5	28	38,700	10,000	0,000	0,030	48,700	0,795	0,205	0,000	26,489	6,845	0,000	33,333	4,0
B2	5	29	34,300	7,400	0,000	0,030	41,700	0,823	0,177	0,000	27,418	5,915	0,000	33,333	4,0
B2	5	30	128,100	39,300	13,100	0,030	180,500	0,710	0,218	0,073	23,657	7,258	2,419	33,333	4,0

(Continua)

Apêndice 13 - Atividade da fosfatase ácida por grama de matéria fresca para raiz (Bloco 2) de plântulas de progênes de *E. grandis* aos 60 dias de cultura *in vitro* em diferentes doses de P. (Continuação)

B2	9	31	115,000	40,000	5,600	0,030	160,600	0,716	0,249	0,035	23,869	8,302	1,162	33,333	6,0
B2	9	32	142,500	72,500	40,000	0,030	255,000	0,559	0,284	0,157	18,627	9,477	5,229	33,333	4,0
B2	9	33	155,000	31,200	4,300	0,030	190,500	0,814	0,164	0,023	27,122	5,459	0,752	33,333	4,0
B2	9	34	155,000	42,500	5,600	0,030	203,100	0,763	0,209	0,028	25,439	6,975	0,919	33,333	4,0
B2	9	35	142,500	26,200	9,900	0,030	178,600	0,798	0,147	0,055	26,596	4,890	1,848	33,333	4,0
B2	16	36	62,500	22,500	6,800	0,030	91,800	0,681	0,245	0,074	22,694	8,170	2,469	33,333	4,0
B2	16	37	53,100	16,100	2,400	0,030	71,600	0,742	0,225	0,034	24,721	7,495	1,117	33,333	4,0
B2	16	38	69,300	6,200	1,800	0,030	77,300	0,897	0,080	0,023	29,884	2,674	0,776	33,333	4,0
B2	16	39	91,200	8,700	1,800	0,030	101,700	0,897	0,086	0,018	29,892	2,852	0,590	33,333	4,0
B2	16	40	154,000	0,600	3,700	0,030	158,300	0,973	0,004	0,023	32,428	0,126	0,779	33,333	2,0
B2	12	41	52,500	17,500	0,000	0,030	70,000	0,750	0,250	0,000	25,000	8,333	0,000	33,333	5,0
B2	12	42	37,500	8,750	0,000	0,030	46,250	0,811	0,189	0,000	27,027	6,306	0,000	33,333	5,0
B2	12	43	87,500	13,125	0,000	0,030	100,625	0,870	0,130	0,000	28,985	4,348	0,000	33,333	5,0
B2	12	44	48,750	0,000	0,000	0,030	48,750	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	5,0
B2	12	45	49,375	0,000	0,000	0,030	49,375	1,000	0,000	0,000	33,333	0,000	0,000	33,333	5,0