RESPOSTAS DE CLONES DE
Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla
A DOSES DE POTÁSSIO *in vitro*

Maria Lucia Lima
Engenheira Química

Orientador: Prof. Dr. **Antonio Natal Gonçalves**

.....
Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Mestre em
Recursos Florestais, com opção em Silvicultura e
Manejo Florestal.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo – Brasil
Agosto – 2004

Errata

Lima, Maria Lúcia. Respostas de clones de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* a doses de potássio *in vitro*.

p.	Item	linha	onde se lê	leia-se
iv	Agradecimentos	décima quarta	Às técnicas do Laboratório de Cultura de Tecidos da Votora Celulose e Papel AS...	Às técnicas do Laboratório de Cultura de Tecidos da Votorantim Celulose e Papel S/A...
viii	Resumo	nona	...usando como fonte de potássio os sais KH_2PO_4 , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e KCl.	...usando como fonte de potássio os sais KH_2PO_4 , KNO_3 e KCl.
x	Summary	oitava	...using KH_2PO_4 , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e KCl as source potassium.	...using KH_2PO_4 , KNO_3 and KCl as source potassium.
05	2.21	vigéssima segunda	 <i>in vitro</i> de S. allagophylla em função objetivando avaliar mecanismos de adaptação....	 <i>in vitro</i> de S. allagophylla em relação a fatores nutricionais tais como valores de pH e composição do meio, objetivando...
19	3.3	quarta	potássio os sais KH_2PO_4 , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e KCl (Tabela 7).	...potássio os sais KH_2PO_4 , KNO_3 e KCl (Tabela 7).
25	4.1	primeira	Figura 3 - Clone C de ...	Figura 3 - Clone B de ...
26	4.1	primeira	Figura 3 - Clone C de ...	Figura 4 - Clone C de
27	4.2	vigéssima nona	O clone B foi 38% mais produtivo em relação ao clone C, o qual....	O clone B foi 38% mais produtivo em relação ao clone A, o qual....

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Lima, Maria Lucia

Respostas de clones de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* a doses de potássio *in vitro* / Maria Lucia Lima. - - Piracicaba, 2004.
73 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004.
Bibliografia.

1. Clonagem 2. Cultura de tecidos 3. Eucalipto 4. Matéria seca 5. Micropropagação vegetal 6. Potássio 7. Técnicas in vitro I. Título

CDD 634.9734

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

*Dedico este trabalho aos meus pais Dedé e Lúcia,
aos meus irmãos Preta e Dodinha, e ao meu querido
Junior, pelo amor e apoio incondicionais.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antonio Natal Gonçalves pela orientação, liberdade e confiança.

Ao Biólogo Edson Higashi Namita, pelo apoio, amizade, orientação e auxílio na finalização desse trabalho.

Ao Dr. Ronaldo Luiz Vaz de Arruda Silveira pelo apoio e orientação técnica.

Ao Departamento de Recursos Florestais da ESALQ/USP pela oportunidade.

À Diva, pela amizade, sinceridade e apoio.

A Votarantim Celulose e Papel S.A. pelo fornecimento de material e infra-estrutura para a execução do trabalho.

À Eng. Florestal Celina Ferraz do Vale, pela confiança, encorajamento e amizade.

Às técnicas do Laboratório de Cultura de Tecidos da Votora Celulose e Papel AS, Ana Cecília, Daniela, Elida, Joana e Grazieli , colaboraram na execução da etapa experimental do trabalho.

Aos amigos da Alellyx S.A., Flávia, Fernanda, Marcelo, Adriana Capella, Luciane, Patrícia, Tiago (Fiotão) e Carlão pela amizade, compreensão e auxílio constante no trabalho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	viii
SUMMARY	x
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1.O gênero <i>Eucalyptus</i>	03
2.2 Cultura de tecidos	04
2.2.1 Seleção <i>in vitro</i>	05
2.3. O potássio	06
2.3.1 Interação entre o potássio e outros nutrientes	10
2.3.2 Exigência nutricional de <i>Eucalyptus</i> em relação a potássio	11
2.4 Nutrição <i>in vitro</i>	14
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Material vegetal	18
3.2 Explantes.....	18
3.3 Tratamentos	19
3.4 Avaliações	21
3.5. Análises químicas dos brotos <i>in vitro</i>	21
3.6.Conteúdo de K	21
3.7. Cálculo de eficiência de utilização de K (EUK).....	21
3.8. Análise estatística	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Avaliação visual.....	23
4.2 Produção de matéria seca.....	27

4.3 Avaliação do estado nutricional.....	30
4.3.1 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de nitrogênio....	30
4.3.2 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de fósforo.....	33
4.3.3 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de potássio	34
4.3.4 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de cálcio	36
4.3.5 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de magnésio	37
4.3.6 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de enxofre.....	39
4.3.7 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de boro	40
4.3.8 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de cobre.....	42
4.3.9 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de ferro	43
4.3.10 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de manganês.	44
4.3.11 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de zinco	45
4.4 Conteúdos totais de macronutrientes em função das doses de potássio.....	46
4.4.1 Conteúdo total de nitrogênio	46
4.4.2 Conteúdo total de fósforo	47
4.4.3 Conteúdo total de potássio.....	50
4.4.4 Conteúdo total de cálcio	50
4.4.5 Conteúdo total de magnésio.....	51
4.4.6 Conteúdo total de enxofre	52
4.5 Conteúdos totais de micronutrientes em função das doses de potássio.....	53
4.5.1 Conteúdo total de boro	54
4.5.2 Conteúdo total de cobre	55
4.5.3 Conteúdo total de ferro.....	56
4.5.2 Conteúdo total de manganês	56
4.5.6..Conteúdo total de zinco.....	57
4.5 Eficiência de utilização de potássio	58
4.6 Considerações finais	61
5 CONCLUSÕES	62

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
----------------------------------	----

RESPOSTAS DE CLONES DE e
Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla
A DOSES DE POTASSIO *in vitro*

Autora: MARIA LUCIA LIMA

Orientador: Prof. Dr. ANTONIO NATAL GONCALVES

RESUMO

O estudo teve como objetivo avaliar o efeito do potássio na sintomatologia visual, produção de matéria seca, no teor e conteúdo de nutrientes de três clones de *Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro*. Foram utilizados como explantes-padrão tufos de brotos com aproximadamente 10 mg de matéria seca. O experimento foi realizado na fase de multiplicação. Os explantes foram cultivados no meio JADS (Correia, 1993) modificado com doses de potássio, suplementado com 0,5 mg.L⁻¹ de BAP, 0,1 mg. L⁻¹ de AIA, 3% de sacarose e 0,5 % de agar, usando como fonte de potássio os sais KH₂PO₄, NH₄H₂PO₄ e KCl. A cada 10 dias foram avaliados os aspectos visuais dos explantes e após 21 dias de cultivo realizou-se a análise química. Na dose de 1,375 mM de potássio no meio de cultura houve o aparecimento de clorose nas extremidades das folhas mais velhas no clone A.

As doses de 1,375 mM, 2,75 mM e 5,5 mM de K ocasionaram o aparecimento de um avermelhamento nas folhas e no caule no clone B e folhas cloróticas com avermelhamento marginal no clone C. O clone B de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* foi o material genético que respondeu ao aumento de potássio no meio de cultura em relação a produção de matéria seca. Em todos os clones os teores foliares de nitrogênio e fósforo foram afetados negativamente com o fornecimento de potássio no meio de cultura. Os teores de magnésio e zinco decresceram com o fornecimento de K no meio de cultura. Os conteúdos totais de nitrogênio, enxofre e do zinco também sofreram um efeito negativo com o aumento das doses de K no meio de cultura. Nos três clones a maior eficiência de utilização do potássio foi no fornecimento de 1,375 mM de K no meio de cultura.

ANSWERS FROM
***Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla* CLONES**
TO POTASSIUM DOSES *in vitro*

Author: MARIA LUCIA LIMA
Adviser: Prof. Dr. ANTONIO NATAL GONÇALVES

SUMMARY

The aim of this study was evaluate the effect of potassium in the visual symptomatology, production of dry matter, in the nutrient contents of three clones *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivated *in vitro*. Shoots with about 10 mg of dry matter were used as source of explants. The experiments were carried out in the multiplication phase. The explants were cultivated in modified JADS-based medium (CORREIA, 1993) with different doses of potassium, supplemented with 0.5 mg.L⁻¹ BAP, 0.1 mg.L⁻¹ IAA, 3 % (w/v) sucrose and 0.5 (w/v) agar, using KH₂PO₄, NH₄H₂PO₄ e KCl as source of potassium. The visual aspects of explants were evaluated at 10 days each and the chemical analysis after 21 days. Dose of 1.375 mM of potassium in the culture medium chlorosis appered at the extremities of the oldest leaves of the clone A. Doses 1.375 mM, 2.75 mM and 5.5 mM of potassium in the culture medium caused redness appearance in the leaves and stem in clone B and leaves clorotic and redness appearance at the marginal leaves the clone C. The

clone B of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* was the genetic material that responded to the potassium increasing in the culture medium in relation the dry material production. In all clones the N and P contents in the leaves negatively affected with potassium supply in the culture medium. The contents of Mg and Z decreased with the K supply in the culture medium. The total content N, S and Z were also undergo a negative effect with of doses in the culture medium. In the three clones, the highest efficiency of potassium utilization was the dose 1.375 mM in the culture.

1 INTRODUÇÃO

As diferenças no comportamento nutricional entre as espécies de *Eucalyptus*, têm sido amplamente reconhecidas e constituem uma ferramenta importante no manejo florestal. Desta forma, informações básicas sobre nutrição mineral de eucaliptos são de fundamental importância.

O potássio é um dos principais nutrientes limitantes do crescimento de florestas de eucalipto no Brasil (Barros et al., 1996). A eficiência da adubação potássica nos solos utilizados no plantio de *Eucalyptus* é baixa, uma vez que esses são altamente lixiviáveis e com reduzida capacidade de troca iônica (Silveira & Malavolta, 2000).

Considerável esforço tem sido demandado na busca do entendimento da nutrição potássica das espécies de *Eucalyptus* visando estabelecer critérios que possibilitem a maximização da eficiência e o retorno do fornecimento deste nutriente à planta.

A seleção de genótipos tolerantes a baixa disponibilidade tem sido apontada como uma opção para o aumento de produtividade e redução no fornecimento de nutrientes via aplicação de adubos nos solos de baixa fertilidade (Gourley et al., 1994).

Em condições conhecidas de fertilidade de solo é possível por simples seleção obter genótipos superiores do ponto de vista nutricional. Entretanto, a alocação das espécies de forma adequada requer o acompanhamento dos experimentos durante vários anos quando se almeja um retorno seguro na seleção de genótipos estáveis.

A cultura de tecidos possibilita que a seleção de genótipos seja realizada em condições específicas, onde o controle de variáveis, como luz, temperatura e nutrientes sejam mais adequados, além de reduzir tempo e custos no processo de seleção (Mix, 1990). Vários estudos vêm sendo realizados objetivando estudar o efeito dos nutrientes na fisiologia, metabolismo e no desenvolvimento das espécies de eucalipto cultivadas *in vitro*. Dentro deste contexto, uma nova frente de estudos sobre nutrição mineral pode ser aberta utilizando-se a cultura de tecidos.

Esta dissertação teve como objetivo avaliar o efeito do potássio na sintomatologia visual, na produção de matéria seca, teor e conteúdo de nutrientes em três clones de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O gênero *Eucalyptus*

O gênero *Eucalyptus* é originário da Austrália e regiões próximas como Timor, Indonésia, Papua Guiné, Molucas, Irian Jaya e sul das Filipinas. Existem cerca de 700 espécies diferentes de eucaliptos em todo mundo, além de várias subespécies e híbridos naturais (Bertolucci et al., 1999).

O eucalipto é uma árvore de grande porte da família das *Myrtaceae*, cultivado em regiões de clima tropical e subtropical, entre as latitudes 40° N e 45°S, em altitudes que variam de 30 a 1000 metros.

O seu ciclo de corte é curto (5 a 7 anos) mas pode variar de acordo com a utilização da madeira. A produtividade média da cultura de eucalipto é de 28 m³.ha⁻¹.ano na primeira rotação, 21 m³.ha⁻¹.ano na segunda rotação e 17,5 m³.ha⁻¹.ano na terceira rotação (Silveira et al., 1995).

O Brasil é o maior produtor mundial de eucalipto, com aproximadamente 3 milhões de hectares de área cultivada, seguido pela Índia, África do Sul, Portugal, Angola, Espanha e China (SBS Silvicultura, 2000). Os principais estados produtores de eucalipto do Brasil são: São Paulo, Paraná, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Amapá, Rio Grande do Sul e Pará. Essa diversidade geográfica das plantações pressupõe o efeito de diferentes condições fisiográficas, edáficas e climáticas no crescimento do eucalipto. Como consequência, a produtividade de plantações no país varia de 15 a 107 m³. há⁻¹.ano (Santana, 2002)

O extensivo uso do eucalipto nos reflorestamentos comerciais ocorreu pelo seu rápido crescimento, fácil adaptação a diferentes condições de clima e

solo, alta produtividade e características físico-mecânicas que permitem inúmeras utilizações como matéria prima para produção de papel e celulose, marcenaria, lenha e carvão vegetal, estruturas para construção civil e na indústria química e farmacêutica (Gonzalez, 2002).

A importância econômica das plantações comerciais de eucalipto resultou no desenvolvimento de programas de melhoramento genético adequados às necessidades de cada região. O Brasil possui hoje um dos mais importantes bancos de germoplasma do gênero *Eucalyptus*, com elevada produtividade e adaptabilidade às suas regiões produtoras (Andrade, 2001)

O *Eucalyptus grandis* e seus híbridos são os principais materiais genéticos utilizadas no reflorestamento brasileiro devido a suas características silviculturais, propriedades superiores da madeira e importância econômica (Barrueto et al., 1999).

2.2 Cultura de tecidos vegetais

A cultura de tecidos vegetais pode ser definida como um conjunto de métodos para o crescimento de um grande número de células em um ambiente controlado e estéril (Raven et al., 2002).

As técnicas de cultura de tecidos *in vitro* vêm sendo amplamente utilizadas no desenvolvimento de plantas superiores. Dentre as aplicações da cultura de tecidos vegetais a micropropagação é a de maior impacto. Esta se baseia no princípio da totipotencialidade da célula: a partir de uma única célula são produzidos indivíduos idênticos. É evidente que esta capacidade se expressa sob especiais condições de estímulo (Kerbaudy, 1999).

A propagação de plantas *in vitro* pode ser realizada utilizando-se cultura de calos, órgãos, células e protoplastos. Em espécies arbóreas, a cultura de órgãos tem demonstrado resultados promissores e empregada extensivamente na propagação clonal (Higashi et al., 2000).

2.2.1 Seleção *in vitro*

A seleção de genótipos *in vitro* é muito utilizada em tecidos e células através da cultura de calos (indução a mutação), crescimento em condições de estresse e regeneração de plantas (Menck, 1996). Entretanto, um dos fatores limitantes do uso dessa técnica é a regeneração da planta inteira. O sucesso da seleção *in vitro* depende de um sistema eficiente de regeneração e propagação clonal (Predieri, 2001).

As principais características selecionadas *in vitro* são: tolerância a calor, frio e injúria ao congelamento; tolerância salina; resistência a fungo e bactéria; tolerância à seca; resistência a antibióticos e herbicidas; tolerância à toxicidade de metais (alumínio, cobre, zinco e chumbo) e baixos níveis de NPK.(Lemos, 2003).

A cultura de tecidos possibilita que a seleção de genótipos seja realizada em condições específicas onde o controle de variáveis como luz, temperatura e nutrientes sejam mais adequados, além de reduzir tempo e custos no processo de seleção (Mix, 1990).

Todavia são escassos os trabalhos de seleção *in vitro* que utilizam a variabilidade natural de “seedlings” e gemas. Souza (1997) utilizou gemas de seis progênies de *Eucalyptus camaldulensis* na avaliação do crescimento sob condições de deficiência hídrica *in vitro* e concluiu que a eficiente resposta à deficiência hídrica no meio nutritivo faz da técnica de cultura de tecidos um instrumento eficaz para a pré seleção de plantas *in vitro*.

Gomes et al. (2000), estudaram o comportamento *in vitro* de *S. allagophylla* em função objetivando avaliar os mecanismos de adaptação e definição de um protocolo de micropropagação. Os autores reproduziram *in vitro* condições encontradas no solo onde crescem plantas dessa espécie e os resultados obtidos foram concordantes com os encontrados nas análises químicas das folhas cultivadas *ex vitro* e do solo.

Menck (1996) propôs uma metodologia para seleção precoce de progênies quanto a estabilidade fenotípica de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden correlacionando resultados obtidos *in vitro* com aqueles obtidos para o mesmo material genético cultivado no campo. A classificação de estabilidade fenotípica *in vitro* foi 66% semelhante a variáveis de campo analisadas.

2.3 Potássio

O potássio é encontrado nas plantas como o cátion K^+ . Ele desempenha um importante papel na fisiologia das plantas não apenas pela sua presença nos tecidos, mas também por suas funções fisiológicas e bioquímicas (Mengel & Kirkby, 1987). Entretanto, não faz parte de nenhum composto orgânico (Malavolta et al., 1997).

Uma das principais características do potássio é sua elevada taxa de absorção pelos tecidos vegetais. A rápida absorção do potássio é atribuída à alta permeabilidade da membrana da planta ao íon (Mengel & Kirkby, 1987). Esta característica, é provavelmente, muito importante para vários processos fisiológicos influenciados pelo potássio como a regulação do potencial osmótico das células vegetais, ativação de enzimas envolvidas na respiração e na fotossíntese (Taiz & Zeiger, 1998).

A absorção do potássio se dá pelo processo de difusão. Na década de 60, Epstein e colaboradores observaram o funcionamento de uma cinética de absorção bifásica para o K^+ e sugeriram a presença de dois mecanismos de absorção trabalhando paralelamente na membrana plasmática. Um mecanismo de absorção passiva e a existência de um carreador de potássio (Epstein et al., 1963). Na década de 90, o que era assumido como carreador de K^+ foi identificado como um sistema de alta afinidade simporte K^+/H^+ .

Atualmente, tem-se o conhecimento de um canal envolvido no transporte de K^+ . O transporte ativo é realizado por carregadores e bombas, enquanto o

transporte passivo, por canais. Entretanto, o transporte por canais pode ser conduzido pela H^+ -ATPase (bomba de prótons) pois a difusão de K^+ necessita de um potencial de membrana negativo mantido pela H^+ -ATPase (Peres, 2000).

Dentre os fatores que podem influenciar a absorção do potássio podemos citar: a disponibilidade do macroelemento; temperatura; umidade; a velocidade de transpiração; número de centros para troca catiônica; idade e velocidade de crescimento e intensidade respiratória (Malavolta & Crocomo, 1982).

O potássio é absorvido pelas raízes na forma iônica K^+ . Setenta por cento desse macroelemento é encontrado dessa forma e pode ser retirado pela água. Os 30% restantes estão adsorvidos à proteínas que podem ser facilmente liberadas (Zaidan et al., 1999). O potássio absorvido pela raiz é conduzido a parte aérea pelo xilema e também pelo floema. A forma iônica solúvel do potássio facilita a sua redistribuição pelo floema. O elemento se dirige da folhas ou órgãos mais velhos para os mais novos ou para os frutos em crescimento (Malavolta et al., 1982).

A raiz contém aproximadamente 16% do potássio total da planta. A concentração do potássio vacuolar nas células das raízes é 1/10-1/5 da encontrada no citoplasma. Nas folhas, a concentração de potássio no citoplasma, núcleo e nos cloroplastos é equivalente ao dobro da encontrada no vacúolo (Malavolta et al., 1997).

O potássio ativa enzimas envolvidas na fotossíntese e na respiração. Aproximadamente, 40 enzimas são dependentes ou estimuladas pelo potássio (Taiz & Zeiger, 1998). Acredita-se que essas enzimas sejam ativadas através de mudanças conformacionais provocadas pelo potássio nas proteínas (Malavolta et al., 1997).

Elevadas concentrações de potássio são importantes para a neutralização de ânions macromoleculares no citoplasma que possui poucos cátions orgânicos (Clarkson, 1980). O acúmulo de potássio nas células é

necessário para a estabilização do pH no citoplasma e para o aumento do potencial osmótico nos vacúolos (Marschener, 1995).

Os hormônios vegetais envolvidos no crescimento dos tecidos meristemáticos aumentam sob efeito do potássio. A ação da citocinina no crescimento de cotilédones de pepino foi potencializada através do potássio (Mengel et al., 1987).

Chen et al. (2001), observaram no cultivo de trigo *in vitro* que a adição de potássio ao meio de cultivo estimulou o alongamento do primeiro entrenó na ausência de GA₃ exógeno. O alongamento foi estimulado pela interação do íon com GA endógenos. Os mesmos autores também um efeito sinérgico entre o potássio e o ácido indolacético no alongamento de caules de girassóis.

O potássio atua no controle osmótico das células. Mengel & Arneke (1982) observaram que redução do turgor e o tamanho das células em folhas expandidas de feijão com deficiência de potássio foram significativamente maiores do que nas folhas suplementadas com potássio.

A abertura e fechamento dos estômatos é um efeito específico do potássio ativado pela luz (Malavolta et al., 1997). Por exemplo, protoplastos de células guarda de cebola (*Allium cepa*) aumentam o volume na presença de potássio quando iluminados com luz azul. O pigmento que absorve a luz promove a captação de K pelas células-guardas. A resposta à luz azul esta relacionada a abertura dos estômatos no início da manhã (Raven et al., 2002). Em plantas deficientes em potássio a abertura e fechamento dos estômatos ocorrem de forma irregular. Em condições de estresse hídrico, plantas bem nutridas com potássio são mais rápidas no fechamento de seus estômatos, evitando a perda excessiva de água. Em contrapartida, se a quantidade de água na planta é satisfatória os estômatos se abrem aumentando a assimilação de CO₂ (IPIPostash.org, 2003).

O potássio é essencial para o processo de osmorregulação das células vegetais no ajuste as condições ambientais, melhorando a tolerância das

plantas a várias situações de estresse como a seca, geadas e salinidade (IPIPostash.org, 2003).

O cloroplasto contém aproximadamente metade do potássio foliar (Malavolta, 1997). A deficiência de potássio reduz a taxa fotossintética e aumenta a taxa de respiração, fatores que podem provocar a redução das reservas de carboidratos da planta (Pretty, 1982).

O potássio atua no metabolismo e no transporte de carboidratos (Marschner, 1995). No metabolismo de células deficientes de potássio tem sido relatado um aumento na redução de açúcares juntamente com uma alteração dos carboidratos totais. O aumento na redução de açúcares pode ser consequência da intensificação da atividade invertase (Pirson, 1955).

O potássio desempenha importante papel no carregamento de sacarose e no transporte de fotossintetizados. O elevado pH nos tubos crivados é mantido pelo potássio, facilitando assim o transporte de sacarose (Marschner, 1995).

Um grande número de doenças e pragas das plantas é atenuado pelo uso de potássio. O potássio atua como regulador da atividade celular promovendo a síntese de carboidratos e proteínas possibilitando um que as células tenham paredes mais grossas e, conseqüentemente, tecidos mais firmes que dificilmente entram em colapso. Plantas deficientes apresentam tecidos menos enrijecidos com menor espessura da cutícula e parede celular, menor formação de tecidos esclerenquimatosos, menor lignificação e suberização (Perrenoud, 1990).

O primeiro sintoma de deficiência de potássio é a redução na taxa de crescimento e, posteriormente, clorose e necrose das folhas. Como o potássio pode ser remobilizado para as folhas mais jovens, esses sintomas aparecem inicialmente nas folhas mais maduras da base da planta (Taiz & Zeiger, 1998). Com a evolução dos sintomas, a clorose e a necrose ocorrem até nas folhas mais novas e as folhas mais velhas enrolam e secam (Silveira, 2000).

As plantas com deficiência de potássio apresentam um decréscimo no turgor, estresse hídrico e tornam-se facilmente flácidas. Conseqüentemente, ficam mais suscetíveis aos danos causados pela seca, geadas e a condições salinas (Mengel et al, 1987).

2.3.1 Interação entre potássio e outros nutrientes

A eficiência das plantas para obter quantidades suficientes de um íon nutriente, não depende apenas da disponibilidade do íon no meio nutritivo, mas também de fatores ambientais que afetam sua absorção. Dentre os fatores ambientais podemos destacar as interações do íon com outros elementos. Essas interações podem limitar ou aumentar a absorção, transporte e utilização dos nutrientes (Carmelo, 1989).

Os efeitos da interação entre K, Ca e Mg ocorrem na forma de inibição competitiva, normalmente ao nível de membrana celular (Epstein, 1975). O antagonismo entre o K e o Ca é resultado de uma competição iônica na solução do solo (Malavolta, 1976). O Ca em baixa concentração pode produzir um efeito estimulante na absorção de K. Todavia, quando a concentração de Ca aumenta o estímulo diminui causando redução na absorção de K nas plantas (Soares et al., 1983). Do mesmo modo, altas concentrações K reduzem a absorção de Ca e Mg, chegando a provocar a deficiência desses dois nutrientes com queda na produção (Kurihara, 1991).

Em algumas espécies, o Na pode substituir parte do K, com ganho de crescimento. A extensão da ocorrência dessa substituição depende do potencial de absorção de Na da cultura. O efeito positivo do Na pode ser particularmente observado no crescimento de plantas mal nutridas em potássio (Marschner, 1995).

2.3.2 Exigência nutricional de *Eucalyptus* em relação a potássio

O baixo teor de nutrientes disponíveis às plantas e a pequena reserva nutricional são características comumente encontradas nos solos mais utilizados para o plantio de eucalipto (Silveira et al., 2001).

O potássio é um dos elementos mais deficientes nas florestas plantadas de *Eucalyptus*. Os solos utilizados para o plantio de eucalipto são altamente ácidos e lixiviáveis o que dificulta o acúmulo de potássio de forma significativa como acontece com o fósforo. Conseqüentemente, é um nutriente do qual não se espera respostas residuais por períodos muito longos (Novais et al., 1990). Dentro desse contexto, a seleção de genótipos mais eficientes na absorção e utilização de potássio, bem como, a determinação da fertilização adequada do nutriente são medidas importantes para manutenção e aumento da produtividade de eucalipto (Silveira & Malavolta, 2000).

As exigências nutricionais do eucalipto variam entre espécies (Barros et al., 1990) e dentro de uma mesma espécie, entre procedências (Novais et al., 1990). Segundo Silveira (2000) essas variações podem ocorrer também em função da idade, fertilidade do solo, produtividade e condição de cultivo (Tabela 1).

Tabela 1. Produção de matéria seca total, conteúdo e eficiência de utilização de potássio em mudas de *Eucalyptus grandis* (Silveira, 2000)

<i>E. grandis</i>	Idade (dias)	Local	K na planta mg/planta				MST g/planta	EKT mg MST mg ⁻¹ de K	Referência
			Folhas	Caule	Raízes	Total			
Clone- Procedência Chisengu ¹	62	casa-de- vegetação	88,1 (56) ²	30,9 (19)	39,4 (25)	158,4	11,4	72,0	Souza (1994)
Clone- Procedência Mechec ¹	62	casa-de- vegetação	92,9 (54)	38,2 (22)	41,6 (24)	172,7	13,7	79,3	Souza (1994)
Clone- Procedência Penhalonga ¹	62	casa-de- vegetação	94,9 (49)	46,9 (24)	52,6 (27)	194,4	14,7	75,6	Souza (1994)
Clone- Procedência Tilbury ³	62	casa-de- vegetação	109,1 (60)	39,6 (22)	33,7 (18)	182,4	13,9	76,2	Souza (1994)
Semente Procedência Bofete	97	viveiro	7,0 (47)	5,0 (33)	3,0 (20)	15,0	2,1	140,0	Silveira et al (1995)
Clone A7	90	viveiro	3,4 (45)	2,9 (39)	1,2 (16)	7,5	0,86	114,7	Camargo(1997)
Clone C4	90	viveiro	3,7 (38)	4,3 (44)	1,7 (18)	9,7	0,88	90,7	Camargo (1997)
Clone D19	90	viveiro	4,1 (42)	4,1 (42) A	1,6 (16)	9,8	0,86	87,7	Camargo (1997)
Clone F40	90	viveiro	3,7 (52)	2,5 (35)	0,9 (13)	7,1	0,66	92,9	Camargo (1997)

MST – matéria seca total; EKT – eficiência de utilização de potássio; 1- media de vários clones; 2- percentual em relação ao conteúdo total de potássio.

A eficiência nutricional pode ser definida pela habilidade que determinado material genético tem de absorver nutrientes do solo ou por sua maior habilidade de converter os nutrientes absorvidos em produção. A habilidade de uso e absorção de um ou de outro nutriente varia de acordo com o genótipo de *Eucalyptus* (Barros, 1998).

A literatura é vasta no tocante a diferenças entre genótipos quanto a eficiência de absorção e utilização de potássio (Texeira et al., 1987, Leite et al. 1998, Morais et al., 1990, Bellote, 1979).

O teor de potássio associado a altas produtividades de *E. grandis* por Malavolta et al.(1997) foi de 9 a 10 g kg⁻¹. Na Tabela 2 são apresentadas as faixas adequadas de concentrações de potássio para a interpretação de análise foliar de varias espécies de *Eucalyptus*.

Tabela 2. Faixas adequadas de concentrações de potássio para a interpretação de análise foliar de *Eucalyptus*, sugeridas por diferentes autores

Malavolta et al. (1997) ¹	Dell et al. (1995) ¹	Bordmam et al., (1997) ¹	Gonçalves (1995) ²	Higashi et al., (2002) ³
g kg ⁻¹				
9-10	9-18	6-18	9-13	15-30

1- Dados referentes a *Eucalyptus grandis*; 2- dados referentes a *Eucalyptus ssp.*; 3- dados referentes a *Eucalyptus ssp* cultivados em minijardim clonal.

O nível crítico de um nutriente pode ser expresso como a concentração mínima de um dado elemento essencial na planta que corresponde ao crescimento máximo desta planta. Segundo Novais et al. (1990), o nível crítico de potássio para o desenvolvimento de mudas de *E. grandis* foi menor que 9 µg g⁻¹. Para *E. cloenziana* variam entre 11 e 31 µg g⁻¹.

A necessidade de potássio aumenta com a idade do *Eucalyptus*. Níveis de K em torno de 0,51 mmol_c são satisfatórios para o crescimento inicial das mudas (Barros et al., 1990). De acordo com Galo (1993), Barros et al. (1990, 1996) e Gava (1997), o *Eucalyptus* apresenta resposta a aplicação de K em solos com teor de 0,2 até 1,0 mmol_c de K dm⁻³ de solo.

Barros et al. (1992) estudou o efeito da aplicação de doses de K (0,60, 120, 180 e 240 kg K₂O ha⁻¹) sobre a produção de biomassa de *E. grandis*

cultivado em solo com $0,54 \text{ mmol}_c \text{ de K dm}^{-3}$. Os autores verificaram um aumento de 63% na produtividade quando comparou-se a dose de $180 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$ com a ausência de K na adubação. Galo (1993) verificou que para a obtenção de 90% da produção máxima de madeira de *E.grandis* em solo com $0,59 \text{ mmol}_c \text{ de K dm}^{-3}$, aos 6,5 anos de idade foi de $108 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$. Os ganhos de produtividade com a aplicação K nesse estudo foram de 92% quando comparou-se a dose de $200 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$ com a testemunha.

Os sintomas visuais de deficiência de potássio em *Eucalyptus* são caracterizados pelo avermelhamento nas bordas das que progridem em direção ao centro das folhas, nesta fase pode ocorrer um secamento das pontas das folhas (Silveira, 2000b).

2.4 Nutrição *in vitro*

As primeiras tentativas de se cultivar tecidos de plantas *in vitro* foram realizadas de forma empírica. Soluções nutritivas consideradas prósperas eram adotadas indistintamente para o cultivo de plantas inteiras ou órgãos isolados.

O grande avanço nos meios nutritivos ocorreu a partir do artigo de Murashige & Skoog (1962). A combinação de sais minerais proposta pelos autores passou a ser empregada no desenvolvimento *in vitro* de muitas espécies de plantas. Estima-se que os sais de Murashige & Skoog (MS) sejam usados em 50 a 75% nas plantas produzidas através da micropropagação (Debergh et al., 1994). Entretanto, é improvável que a combinação dos nutrientes minerais do meio MS seja ótima para o desenvolvimento de todas as espécies (Gribble et al., 2002).

A maioria dos meios nutritivos baseia-se na exigência nutricional de plantas cultivadas *ex vitro* com algumas modificações, uma vez que as mesmas vias bioquímicas e metabólicas básicas que funcionam nas plantas são mantidas nas células cultivadas *in vitro* (Caldas et al., 1998). Entretanto, as

taxas de crescimento, desenvolvimento e várias características fisiológicas e morfológicas das plantas *in vitro* são influenciadas pelo microambiente do frasco de cultura (Cañal et al., 2001).

A análise química de tecidos vegetais de plantas saudáveis *ex vitro* é geralmente utilizada para a determinação do fertilizante mais adequado à cultura e analogamente pode servir de referência na formulação de meios para cultura de tecidos (Gribble et al., 2002).

Estudos relacionados à absorção e interação entre os minerais *in vitro* podem esclarecer os mecanismos envolvidos nesses processos, possibilitando o desenvolvimento de novos sistemas para a formulação de meios de cultura *in vitro* (Gribble et al., 2002).

Modificações do meio MS (Murashige & Skoog, 1962) são muito utilizadas para o cultivo *in vitro* de eucalipto. Os meios JADS (Correia, 1993) e Gonçalves (Gonçalves, 1980) foram desenvolvidos especificamente para o cultivo de *Eucalyptus in vitro*.

Higashi & Gonçalves (2001) relacionaram os teores foliares e as concentrações no meio de cultura de macro e micronutrientes mais adequadas para o cultivo *in vitro* de *Eucalyptus* (Tabelas 3 e 4). De acordo com os autores, a concentração dos nutrientes no meio de cultura e o tempo de subcultivo são fatores que afetam a produção de matéria seca.

Tabela 3. Teores foliares de macro e micronutrientes considerados adequados em *Eucalyptus* cultivados *in vitro* aos 21 dias de idade

N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
Teores Foliares										
g kg ⁻¹						mg kg ⁻¹				
30-45	2-6	15-35	7,5-15	2-4	2-2,5	25-50	8-15	100-350	100-300	40-80

Tabela 4. Concentrações mais adequadas dos nutrientes no meio de cultura para o cultivo de *Eucalyptus in vitro*

N	P	K	Ca	Mg	S
mM					
25-30	2-3	10-15	5-7	2,5-3	2,5 –3
B	Cu	Fé	Mn	Zn	
mM					
0,05-0,1	0,005-0001	0,1-0,2	0,05-0,1	0,05-0,015	

Higashi (1996) realizou um estudo avaliando os sintomas de deficiência de nutrientes minerais em híbridos de *Eucalyptus* cultivados *in vitro*. De modo geral, a ausência de micronutrientes no meio de cultura não ocasionou sintomas de deficiências marcantes. Na ausência dos macronutrientes, todos os híbridos apresentaram sintomas de deficiência (Tabela 5). Alguns sintomas de deficiência de *Eucalyptus in vitro* foram também observados em experimentos realizados *ex vitro*.

Tabela 5. Sintomas de deficiência de macroelementos e ferro para os híbridos *Eucalyptus grandis* x *E. tereticornis*, *E. grandis* x *E. urophylla* e *Europhylla* x *E. grandis* cultivados em meio de cultura JADS durante 21 dias de idade.

Elemento	Sintomas de deficiência
Nitrogênio	Inibição de gemas laterais; clorose nas folhas mais velhas; redução no numero de folhas; redução de área foliar.
Fósforo	Clorose no ápice das folhas mais novas; redução no número de folhas; inibição das gemas laterais; formação de calo na base do caule.
Potássio	Clorose na lâmina, margem e na nervura central das folhas mais velhas.
Cálcio	Deformação nas folhas
Magnésio	Deformações nas folhas
Enxofre	Clorose generalizada nas folhas mais velhas; redução da área foliar e do número de folhas.
Ferro	Coloração verde clara das folhas, redução da brotação e estiolamento dos brotos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Cultura de Tecidos da empresa Votorantim Celulose e Papel S/A, localizada em Luiz Antonio, SP.

3.1 Material vegetal

Foram selecionados três clones comerciais de *Eucalyptus grandis* x *E.urophylla*, com base nos resultados obtidos em experimentos de adubação realizados em condições de casa de vegetação.

3.2 Explantes

Todos os explantes foram oriundos de gemas axilares de segmentos nodais retirados de plantas adultas e cultivados *in vitro* por aproximadamente 25 subcultivos (18 meses) no meio JADS (Correia, 1993), suplementado com 0,5 mg.L⁻¹ de BAP, 0,1 mg. L⁻¹ de AIA, 3% de sacarose e 0,5 % de agar. Como explantes–padrão (Figura 1) foram utilizados “tufos” de brotos com cerca de 10 mg de matéria seca. O experimento foi realizado na fase de multiplicação pois para análise química do teor de nutrientes é necessário uma quantidade mínima de matéria seca para que os resultados sejam efetivos.

Figura 1- Explante-padrão: brotos de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* com aproximadamente 10 mg de matéria seca, cultivados *in vitro*

3.3 Tratamentos

Os tratamentos consistiram no meio básico JADS (Correia, 1993) com cinco doses de potássio (Tabela 6) suplementado com $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP, $0,1 \text{ mg. L}^{-1}$ de AIA, 3% de sacarose e 0,5 % de agar usando como fonte de potássio os sais KH_2PO_4 , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e KCl (Tabela7). O tratamento quatro corresponde a dose de K (11mM) do meio original do JADS.

Foram utilizados frascos com capacidade de 250 ml, contendo 40 ml de meio de cultura e quatro explantes-padrão. As condições ambientais para o crescimento das brotações foram temperatura de $25^\circ \pm 2^\circ \text{ C}$ sob 16 h de fotoperíodo e luminosidade aproximadamente de 2000 lux.

Tabela 6. Doses de potássio nos meio de cultura básico JADS

Tratamento	Concentração de K (mg.L ⁻¹)	Concentração de K (mM)
T1	53,625	1,375
T2	107,250	2,750
T3	214,500	5,500
T4	429,000	11,000
T5	858,000	22,000

Tabela 7. Meio de cultura básico JADS com diferentes doses de K

Componentes mg.L ⁻¹	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4	Tratamento 5
NH ₄ NO ₃	465,00	410,00	420,00	324,00	240,00
KNO ₃	139,00	278,00	253,00	809,00	1010,00
KH ₂ PO ₄	136,09	-----	-----	408,00	408,00
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	1181,00	1181,00	1181,00	1181,00	1181,00
MgSO ₄ .7H ₂ O	739,50	739,50	739,50	739,50	739,50
NH ₄ H ₂ PO ₄	342,00	342,00	342,00	-----	-----
KCl	-----	-----	-----	-----	670,50
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	74,50	74,50	74,50	74,50	74,50
FeSO ₄ .7H ₂ O	55,60	55,60	55,60	55,60	55,60
NaMoO ₄ .2H ₂ O	4,32	4,32	4,32	4,32	4,32
MnSO ₄ .7H ₂ O	16,90	16,90	16,90	16,90	16,90
CuSO ₄ .5H ₂ O	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
H ₃ BO ₃	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10

3.4 Avaliações

A cada 10 dias foram avaliados os aspectos visuais dos explantes. Após 21 dias de cultivo os explantes foram lavados em água destilada, colocados individualmente em sacos de papel e secos em estufa com circulação de ar a 65°C, até peso constante. Posteriormente determinou-se o peso de matéria seca e as concentrações de macro e micronutrientes do tecido vegetal através de análises químicas.

3.5 Análise química dos brotos *in vitro*

As análises químicas para determinação dos macro e micronutrientes foram realizadas no Laboratório Florestal de Análise da Votorantim Celulose e Papel S/A.

As amostras foram moídas e digeridas em ácido nítrico- perclórico (P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn , Zn) e sulfúrico (N). Os extratos obtidos foram utilizados para a determinação dos macro e micronutrientes, segundo a metodologia descrita por Malavolta et al (1997). O P foi quantificado pelo método da colorimetria de molibdato-vanadato; K, Ca, Mg, Cu, Fé e Mn por espectrofotometria de absorção atômica, S por colorimetria de turbidimetria de sulfato de bário; B por colorimetria de azometina H. As determinações de nitrogênio foram realizadas através do método micro Kjeldahl.

3.6 Conteúdo de K

O conteúdo total de K no explante foi calculado com base nos teores e nas produções de matéria seca.

3.7 Cálculo da eficiência de utilização de nutricional

Calculou-se a eficiência nutricional de potássio (EUK), para a produção de matéria seca dos explantes pela razão entre a biomassa seca e o conteúdo de K acumulado no tecido (Barros et al., 1986).

3.8 Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3^5 (três clones de *Eucalyptus grandis* x *urophylla* x cinco doses de potássio), com 4 repetições. A análise estatística dos resultados foi efetuada através do sistema SAS®. Foram feitos testes de comparação de médias (Tukey a 5%), correlações e regressões entre: doses de K no meio de cultura x produção de matéria seca; doses de K no meio de cultura x teor de macro e micronutrientes; teor de K no material vegetal x teor de macro e micronutrientes; doses de K no meio de cultura x conteúdo macro e micronutrientes; doses de K no meio de cultura x eficiência nutricional.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação dos sintomas visuais

Nos primeiros 10 dias de avaliação não se verificou alteração nos sintomas visuais nas brotações de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. Os sintomas visuais tornaram-se mais evidentes após 21 dias de cultivo.

Os sintomas observados no presente estudo assemelham-se aos descritos por Higashi (1996) como característicos de deficiência de potássio encontrados no cultivo *in vitro* de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* por 21 dias no meio de cultura JADS (1993) na ausência de potássio.

No clone A (Figura 2) observou-se clorose na extremidade das folhas mais velhas na dose de 1,375 Mm de K. Nas doses entre 1,375 a 5,5 mM de K verificou-se no clone B (Figura 3) um avermelhamento das folhas e no caule e no clone C (Figura 4), o aparecimento de folhas cloróticas com avermelhamento marginal.

De modo geral, uma maior proliferação de brotos foi verificada no clone B. Nos clones A e C observou-se a presença de brotos mais alongados.

Figura 2- Clone A de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivado por 21 dias no meio JADS, sob diferentes doses de potássio. T1-1,375 mM de K, T2- 2,75 mM de K, T3- 5,5 mM de K ,T4-11 mM de K e T5- 22 mM de K

Figura 3- Clone C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivado por 21 dias no meio JADS, sob diferentes doses de potássio. T1-1,375 mM de K, T2- 2,75 mM de K, T3- 5,5 mM de K, T4-11 mM de K e T5- 22 mM de K

Figura 3- Clone C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivado por 21 dias no meio JADS, sob diferentes doses de potássio. T1-1,375 mM de K, T2- 2,75 mM de K, T3- 5,5 mM de K ,T4-11 mM de K e T5- 22 mM de K

4.2 Produção de matéria seca

O efeito das diferentes doses de potássio no meio de cultura JADS modificado sobre a produção de matéria seca *in vitro* de três clones híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* pode ser observado na Tabela 8. A produção de matéria seca apresentou diferença entre os clones avaliados e as doses de potássio no meio de cultura. Verificou-se que independente do clone houve maior produção de matéria seca nas doses de 11mM de K (0,1359 g/explante) e 22 mM de K (0,1360 g/explante).

Tabela 8. Produção de matéria seca em clones de *Eucalyptus .grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* em função das doses de potássio

Clones	Doses de K (mM)					Médias
	1,375	2,75	5,5 g/explante	11	22	
A	0,1012 Bba	0,1076 Aba	0,1191 Ab	0,1007 Cb	0,1189 Ab	0,1095 C
B	0,1435 Bca	0,1577 Aba	0,1303 Ca	0,1613 Aa	0,1646 Aa	0,1515 A
C	0,1173 Aba	0,1142 Ba	0,1020 ABc	0,1458 Ba	0,1244 ABb	0,1207 B
Médias	0,1207 AB	0,1265 AB	0,1171 B	0,1359 A	0,1360 A	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Na dose de 5,5 mM de K houve diferença na produção de matéria seca entre nos clones. Observou-se uma menor produção de matéria seca nos clones A e C (Tabela 8). Na maior dose de potássio não houve diferença na produção de matéria seca entre os clones A (0,1189 g/ explante) e C (0,1244 g/explante).

De modo geral, as menores produções de matéria seca ocorreram nas doses de 1,375 e 2,75 mM de K, exceto para o clone A, onde a menor produção de matéria seca foi observada na dose de 11 mM de K (Tabela 8).

O clone B foi 38% mais produtivo em relação ao clone C, o qual apresentou menor produtividade (Tabela 8). Os clones A e C não apresentaram

diferenças em relação à produção de matéria seca na menor e na maior dose de potássio. Esse resultado difere dos relatados por Silveira et al. (2002)¹ no cultivo dos mesmos genótipos na fase de mudas, com 180 dias de idade, sob diferentes doses de potássio em condições de casa de vegetação. Na menor dose de K na solução nutritiva, as maiores produtividades para o peso seco de caule foram encontradas nos clones A e C. Entretanto, na maior dose de K, analogamente aos resultados desse estudo, não houve diferença entre os clones. Os mesmos autores classificaram o clone B como altamente responsivo ao fornecimento de potássio em condições de casa de vegetação, comportamento similar ao observado em condições cultivo *in vitro* deste estudo.

No geral, os clones obtiveram ganhos de produtividade com o aumento da dose de potássio no meio nutritivo. As maiores doses de K produziram 12,6 % mais de matéria seca em comparação com a dose de 1,375 mM de K. O clone B foi o único material genético que respondeu à dose de K (Figura 5). O aumento do teor foliar de K foi superior no clone B em relação à produção de matéria seca (Figura 5).

Estudos em condição de casa de vegetação (Silveira, 2000; Silveira et al., 2002) e condição de campo (Barros et al. 1981; Galo, 1993) também mostraram a resposta positiva do K na produtividade de *Eucalyptus*.

A produção de matéria seca *in vitro* em função das doses de K esta apresentada na Figura 6.

¹ SILVEIRA, R.L.V; HIGASHI, E.N; VALLE, C.F.; BONINE, C.A.V; TAKAHASHI, E.N.; SCARPINATT, E.A. **Exigência nutricional de clones de *Eucalyptus* em relação a boro e potássio nas condições de casa de vegetação**. Relatório Técnico, RR Agroflorestal, 2002. 41p. (trabalho não publicado)

Figura 5- Produção de matéria seca dos clones A,B, e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* no meio de cultura JADS por 21 dias em função do teor de potássio

Figura 6- Produção de matéria seca dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro*, no meio JADS por 21 dias, com diferentes dose de potássio

4.3 Avaliação do estado nutricional

Os resultados das análises químicas dos teores de macronutrientes e micronutrientes dos clones de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro*, aos 21 dias, encontram-se nas Tabelas 9 e 10.

4.3.1 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de nitrogênio

Os teores médios de N encontrados nas brotações produzidas nas doses de 1,375 mM a 11 mM de K estavam dentro da faixa considerada adequada para *Eucalyptus* cultivados *in vitro* conforme descritos por Higashi & Gonçalves (2001). Na dose de 22 mM de potássio, o teor de N estava abaixo do adequado (Tabela 9).

Para os clones A e C os teores de N encontravam-se abaixo da faixa adequada proposta por Higashi & Gonçalves (2001) apenas na concentração de 22 mM de K.

O clone B apresentou teores de N abaixo dos propostos como adequados por Higashi & Gonçalves (2001) nas doses de 5,5 mM (28,51 g kg⁻¹) a 22 mM de K (23,70 g kg⁻¹).

As doses de K no meio de cultura apresentaram um efeito negativo na absorção de nitrogênio em todos os clones (Figura 7).

Silveira (2000) cultivando por 10 meses mudas de quatro progênies de *Eucalyptus grandis* sob doses de potássio (0, 58,5, 175,5 e 526 mg.L⁻¹) em solução nutritiva, em condição de casa de vegetação, observou que a concentração de N nas folhas diagnóstico diminuía com o aumento de potássio. Esse resultado também foi verificado no experimento.

Na dose de 11 mM de K (a mesma do meio de cultura JADS), o teor médio de N (29,99 g kg⁻¹) foi semelhante ao encontrado por Higashi (1996) no cultivo de clones *E. grandis* x *E. urophylla* *in vitro* no meio de cultura JADS.

Figura 7- Teor de nitrogênio no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS com diferentes doses de potássio

Tabela 9. Teores de macronutrientes nos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro*, aos 21 dias de idade, sob diferentes doses de potássio

	Doses de K (mM)					Médias
	1,375	2.75	5,5	11	22	
N (g kg ⁻¹)						
A	45,26 Aa	40,45 Ba	39,74 Ba	36,71 Ba	26,19 Ca	37,67 A
B	30,47 Ab	30,83 Ab	28,51 Ab	23,17 Bc	23,70 Bb	27,33 C
C	34,93 Ab	36,61 Aa	39,36 Aa	30,10 BCb	28,01Ca	33,80 B
Médias	36,88 A	35,96 A	35,87 A	29,99 B	25,96 C	
P g (kg ⁻¹ .)						
A	3,55 Aab	3,46 Aa	3,35 Aab	3,01Ba	2,67 Cb	3,20 B
B	3,33 Aa	3,43 Aa	3,16 Ab	2,76 Bb	2,73 Bb	3,08 C
C	3,85 Aa	3,50 Ba	3,31 Ba	2,98 Ca	2,98 Ca	3,32 A
Médias	3,57 A	3,39 B	3,34 B	2,90 C	2,79 C	
K g (kg ⁻¹)						
A	12,62 Cb	15,99 Cb	15,47 Cb	55,26 Ba	75,72 Aa	35,01 A
B	12,04 Cb	14,825 Cb	15,66 Cb	40,05 Bb	56,36 Ab	27,78 C
C	19,39 Ea	22,18 Da	26,38 Ca	33,32 Bc	51,07 Ab	30,46 B
Médias	14,68 D	17,66 C	19,17 C	42,87 B	61,05 A	
Ca g (kg ⁻¹)						
A	7,72 Cb	8,99 Bca	8,28 Bab	8,73 Bb	10,25 Aa	8,79 B
B	9,21 BCb	8,40 Bca	8,95 Ca	10,6 Aa	10,25 Aba	9,48 A
C	10,96 Aa	8,91 Ca	7,27 Bb	8,90 Bb	9,01 Bb	9,01 B
Médias	9,29 AB	8,76 BC	8,16 C	9,41 AB	9,83 A	
Mg g (kg ⁻¹)						
A	4,90 Aa	5,02 ABa	4,77 Ab	4,49 Bb	4,44 Bb	4,72 B
B	4,44 ABb	4,61 Bb	4,08 Aa	4,32 ABb	4,22 ABb	4,33 C
C	5,23 Aa	5,09 Aa	5,19 Aa	5,06 Ac	5,15 Aa	5,14 A
Médias	4,85 A	4,94 A	4,64 B	4,62 B	4,60 B	
S g (kg ⁻¹)						
A	4,48 Aa	4,53 Aa	4,39 Aa	5,06 Aa	2,69 Bb	4,23 A
B	4,53 Aa	4,03 Aab	4,40 Aa	3,53 Aba	2,47 Bb	3,79 B
C	3,86Ba	3,66 Ba	3,57 Bb	3,43 Ba	3,36 Ba	3,57 C
Médias	4,29 A	4,04B	4,15 AB	4,00B	2,84 C	

Médias seguidas da mesma letra (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

4.3.2 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de fósforo

Segundo Higashi & Gonçalves (2001) a faixa considerada adequada de teor de fósforo para o cultivo de *Eucalyptus in vitro* varia entre 2 a 6 g kg⁻¹. Os teores médios encontrados nos brotos submetidos a doses de potássio estavam dentro da faixa sugerida como adequada pelos autores. Na média, o teor de P foi maior na dose de 1,375 mM de K (3,57g K⁻¹).

O aumento das doses de potássio no meio de cultura, como também observado para o nitrogênio, reduziu o teor de fósforo no tecido vegetal dos clones avaliados (Figura 8).

Figura 8- Teor de fósforo no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS com diferentes doses de potássio

4.3.3 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de potássio

O aumento das doses de K elevou o teor de potássio nas brotações avaliadas (Figura 9).

Nas doses de 2,75mM a 5,5 mM de K, os teores médios encontrados nas brotações permaneceram dentro da faixa sugerida como adequada para cultivo *in vitro* de *Eucalyptus ssp* por Higashi & Gonçalves (2001). Acima de 11 mM de K os teores encontravam-se acima da faixa adequada.

No clone A, os teores de K encontrados estavam dentro da faixa adequada proposta por Higashi & Gonçalves (2001) somente nas doses de 2,75 mM e 5,5 mM de K. No clone B, apenas na dose de 5,5 mM de K o teor de K encontrava-se dentro da faixa considerada adequada por Higashi & Gonçalves (2001). Nas doses inferiores a essa concentração os teores de K apresentaram-se abaixo da faixa considerada adequada (Tabela 9). No menor fornecimento de K no meio de cultura observou-se que o teor de potássio estava adequado somente no clone C. Neste material genético, observaram-se teores acima dos considerados adequados apenas na dose máxima de K no meio de cultura. Esses resultados confirmam uma forte correlação entre o fornecimento de K e a concentração do nutriente no material vegetal cultivado *in vitro*.

Zaidan (1999) no cultivo *in vitro* de dois cultivares de banana sob diferentes doses de potássio no meio de cultura (5, 10, 15, 20, 25 e 30 mM), verificou que o teor de K nos cultivares apresentou valores crescentes diretamente proporcionais ao aumento das concentrações de K no meio cultivo. Resultados similares foram encontrados neste estudo.

Higashi (1996) no cultivo de *E. grandis* x *E. urophylla* *in vitro*, aos 21 dias de idade no meio JADS (11 mM de K) encontrou o teor de 28,80 g kg⁻¹ de K e Basso (2000) relatou teores de 74,06 g kg⁻¹ de K no cultivo da espécie *in vitro* na respectiva concentração, por 20 dias.

Houve resposta positiva no teor foliar com o aumento de K no meio de cultivo para todos os clones avaliados.

Silveira (2000) no cultivo de mudas de quatro progênies de *Eucalyptus grandis* com 10 meses de idade, em condição de casa de vegetação, analogamente ao estudo observou um aumento das concentrações de K no tecido foliar em função do fornecimento de K na solução nutritiva em todas as progênies .

Figura 9- Teor de potássio no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS, com diferentes doses de potássio

4.3.4 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de cálcio

Para o cálcio o teor médio obtido em todas as doses de K estavam dentro da faixa considerada adequada por Higashi & Gonçalves (2001).

No clone A, observou-se um aumento no teor de cálcio na dose de 22 mM de K. O menor teor do nutriente foi verificado nesse clone na dose de 1,375 mM de K ($7,72 \text{ g kg}^{-1}$). Nas doses entre 2,75 e 11 mM de K não se observou diferenças significativas no teor de Ca no material vegetal (Tabela 9). Para o clone B constatou-se um acréscimo no teor de cálcio nas doses acima de 11 e 22 mM de K no meio de cultivo. No fornecimento de 2,75 mM de K foi encontrado o menor teor do nutriente ($8,40 \text{ g kg}^{-1}$), que não diferiu estatisticamente da dose de 1,375 mM de K. O clone C apresentou o maior teor de cálcio na dose de 1,375 mM de K ($10,96 \text{ g kg}^{-1}$) e o menor teor na dose de 5,5 mM de K ($7,27 \text{ g kg}^{-1}$). O fornecimento de potássio não afetou os teores de cálcio neste clone.

O teor médio ($9,41 \text{ g kg}^{-1}$) encontrado na dose de 11 mM estava um pouco abaixo dos verificados por Higashi (1996) no cultivo de *E.grandis* x *E.urophylla in vitro* por 21 dias na mesma dose, que foi de $9,80 \text{ g kg}^{-1}$.

O efeito antagônico entre K e Ca descrito por vários autores (Epstein, 1975, Malvolta et al., 1997, Soares et al., 1983), foi observado apenas no clone C.

Figura 10- Teor de cálcio no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 no meio nutritivo JADS com diferentes doses de potássio

4.3.5 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de magnésio

Em relação ao magnésio, os teores médios encontrados estavam acima da faixa adequada proposta por Higashi & Gonçalves (2000).

Nas doses de 11 mM (4,49 g kg⁻¹) e 22 mM de K (4,44 g kg⁻¹) observou-se no clone A uma diminuição no teor de magnésio (Tabela 9).

Verificou-se que na dose de 5,5 mM de K (4,08 g kg⁻¹) que o clone B apresentou teor de magnésio dentro da faixa considerada adequada por (Higashi & Gonçalves, 2001).

A interação entre o K e Mg em plantas com raízes ocorre na forma de inibição competitiva e foi descrita por vários autores (Epstein, 1975, Malavolta et al., 1997, Usherwood, 1982). Observou-se esta mesma interação no estudo somente para o clone A (Figura 11).

Os teores médios Mg encontrados na dose de 11 mM de K ($4,62 \text{ g kg}^{-1}$) no estudo diferem dos relatados por Basso (2000) e Higashi (1996) no cultivo *in vitro* de *E. grandis* x *E. urophylla*.

Figura 11- Teor de magnésio no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS com diferentes doses de potássio

4.3.6 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de enxofre

Em todas as dose de K, os teores médios de enxofre estavam acima da faixa adequada sugerida para o cultivo *in vitro* de *Eucalyptus* segundo Higashi & Gonçalves (2001).

Houve uma diminuição do teor médio de enxofre nas brotações no fornecimento de 22 mM de K ($2,84 \text{ g Kg}^{-1}$) no meio de cultura.

O clone B foi o único material genético que apresentou diferença significativa no teor de enxofre em função das doses de K no meio de cultura (Figura 12).

Figura 12- Teor de enxofre no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS, com diferentes doses de potássio

4.3.7 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de boro

O teor médio de boro ($52,75 \text{ mg kg}^{-1}$) estava dentro da faixa adequada descrita por Higashi & Gonçalves (2001) na dose de 11 mM de K.

O fornecimento de K proporcionou uma diminuição do teor de B nas brotações nos clones A e C (Figura 13). O clone A foi o material genético que apresentou os maiores teores de B onde os valores encontravam-se acima dos adequados, segundo Higashi & Gonçalves (2001).

Basso (2000) relatou o teor de $56,49 \text{ mg kg}^{-1}$ K no cultivo *in vitro* de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* no meio JADS cuja concentração de potássio é de 11 mM.

O boro não foi considerado elemento deficiente em nenhuma dose de K fornecida ao meio de cultura (Tabela 10).

Figura 13- Teor de boro no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS, com diferentes doses de potássio

Tabela 10. Teores de micronutrientes nos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *E.urophylla* cultivados *in vitro*, aos 21 dias de idade, sob diferentes dose de potássio

Clone	Doses					
	1,375	2,75	5,5	11	22	Médias
			B (mg Kg ⁻¹)			
A	110,75 Aa	107,50ABa	96,00 Aa	79,00 Ba	51,00 CAF	88,85 A
B	43,25 Ac	43,00 Bb	40,50 Bb	39,00 Bab	57,00 Ba	44,55 B
C	56,75 Ab	52,50 ABb	47,50 Ab	40,25 Bb	44,5 ABb	48,30 B
Médias	70,25 A	66,00 A	63,00 A	52,75 B	50,83 B	
			Cu(mg Kg ⁻¹)			
A	11,50 Aa	14,50 Aa	12,00 Aa	10,00 Aa	11,5 Aa	11,90 A
B	9,00Aa	8,40 Ab	8,00 Aa	5,50 Ab	10,00 Aa	8,18 B
C	12,5 Aa	12,00 Aa	11,75 Aab	10,25 Aa	10,00 Aa	11,30 A
Médias	11,00 A	11,55 A	10,60 AB	8,50 B	10,50 AB	
			Fe (mg Kg ⁻¹)			
A	367,5 Abb	378,00ABa	379,0 ABb	335,00 Bb	344,50ABb	360,80 B
B	477,50 Aa	478,00 Aa	484,50 Aa	543,00 Aa	494,00 Aa	495,50 A
C	354,50 Ab	308,50 Bc	318,25 Bc	310,25 Bb	302,25 Bb	318,75 C
Medias	399,83 A	390,67 A	391,42 A	396,08 A	380,42 A	
			Mn (mg Kg ⁻¹)			
A	169,50 Bb	209,50 Bb	173,50 Ab	159,50 Bb	166,50 Bab	175,70 B
B	255,00 Aa	259,00 Aba	246,00 Aa	198,50 BCa	181,00 Ca	227,90 A
C	198,50 Ab	156,50 Bb	175,75 CD	171,00Cab	145,50 Db	169,45 B
Médias	207, 66 AB	192,00 BC	214,75 A	176,33 CD	164,33 D	
			Zn(mg Kg ⁻¹)			
A	79,00 Aa	59,50 ABa	57,00 Aba	53,00 ABa	37,00 Aab	57,10 A
B	67,00 Aa	46,50 ABb	43,00 Abc	42,00 ABa	30,50 Bb	45,80 B
C	51,25 Aa	52,00 Ab	49,25 Ab	37,5 Ba	38,25 Ba	45,65 C
Médias	65,75 A	50,66 B	51,75 AB	44,16 BC	35,25 C	

Médias seguidas da mesma letra (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

4.3.8 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de cobre

Independente da dose de K no meio de cultivo, os teores médios de cobre mantiveram-se dentro da faixa de 8 a 15 mg kg⁻¹ sugerida como adequada para o cultivo de *Eucalyptus in vitro* por Higashi & Gonçalves (2001).

As doses de potássio não tiveram um efeito significativo nos teores foliares de cobre nos clones A e B, somente no clone C (Figura 14).

Não foi observado teor deficiente de cobre em nenhuma dose fornecida de K ao meio de cultura (Tabela 10).

Figura 14- Teor de cobre no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS, com diferentes doses de potássio

4.3.9 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de ferro

Todos os teores médios encontrados nos clones submetidos a doses de potássio estavam acima dos propostos como adequados por Higashi & Gonçalves (2001).

O clone B foi o que apresentou maior teor médio de Fe (Tabela 10). Não houve diferença no teor de Fe em função das doses de K fornecidas ao meio de cultura (Figura 15).

Basso (2000) e Higashi (1996) encontraram os teores de ferro de 610 mg kg^{-1} e 495 mg kg^{-1} , respectivamente no cultivo *in vitro* de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* na dose de 11 mM de K. Esses valores foram 54% e 24% mais elevados do que os teores encontrados no estudo.

Figura 15- Teor de ferro no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS com diferentes doses de potássio

4.3.10 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de manganês

Verificou-se que os teores médios de manganês dos clones de *E. grandis* x *E. urophylla* estavam dentro da faixa considerada adequada para a cultura *in vitro* de *Eucalyptus* conforme valores apresentados por Higashi & Gonçalves (2001). Houve um decréscimo dos teores de Mn nas brotações dos clones com o fornecimento de K no meio de cultura (Figura 16). O clone B apresentou maior teor de manganês em relação aos clones A e B (Tabela 10).

Higashi (1996), no cultivo de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* *in vitro* na dose de 11 mM de K, relatou um teor 47,45% maior do que observado no estudo na respectiva dose.

Figura 16- Teor de manganês no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS, com diferentes doses de potássio

4.3.11 Efeito das doses de potássio sobre os teores foliares de zinco

Segundo Higashi & Gonçalves (2001), a faixa adequada de zinco para o cultivo de *Eucalyptus in vitro* estaria entre 40 a 80 mg kg⁻¹. Os teores médios de zinco neste trabalho não ultrapassaram esses valores. Entretanto na maior dose de 22mM de K, o teor médio (35,25 mg kg⁻¹) foi abaixo do sugerido pelos autores.

Os clones apresentaram uma redução no teor de zinco em função do aumento das doses de K (Figura 17). O clone A apresentou o maior teor de zinco (57,10 mg kg⁻¹) em relação aos clones B (45,8 mg kg⁻¹) e C (45,68 mg kg⁻¹).

Figura 17- Teor de zinco no tecido vegetal dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS, com diferentes doses de potássio

4.4 Conteúdos totais de macronutrientes em função das doses de potássio

Os conteúdos totais de macronutrientes em função das doses de potássio estão apresentados na Tabela 11.

4.4.1 Conteúdo total de nitrogênio

No clone A observou-se o maior conteúdo total de N (4,73 mg/explante) na dose de 2,75 mM de K, que não diferiu estatisticamente do conteúdo total encontrado nas doses de 1,375 (4,45 mg/explante) e 5,5 mM de K (4,34 mg/explante). Para o clone B, o maior conteúdo total de N (4,49 mg/explante) foi verificado na dose de 1,375 mM de K, apesar de não diferir estatisticamente das doses de 1,375 (4,37 mg/explante) e 22 mM de K (3,89 mg/explante). No clone C o maior conteúdo total de nitrogênio (4,7 mg/explante) foi verificado na dose de 1,375 mM de K.

Os conteúdos totais de N em todos os clones decresceram em função do fornecimento de K no meio de cultura (Figura 18).

Figura 18- Conteúdo total de nitrogênio nos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, cultivados *in vitro* por 21 dias em meio nutritivo JADS com diferentes doses de potássio

4.4.2 Conteúdo total de fósforo

No clone A, o menor conteúdo de fósforo (0,29 mg/explante) foi obtido na dose de 11 mM de K, que não diferiu estatisticamente das doses de 1,375 e 22 mM de K (Tabela 11). No clone B, o maior conteúdo total de P (0,49 mg/explante) foi encontrado na dose de 2,75 mM, diferenciando-se das doses de 5,5 (0,44 mg/explante), 11 (0,44 mg/explante) e 22 mM de K (0,44 mg/explante). Em relação ao clone C, os conteúdos totais de fósforo nas doses de 2,75 (0,35 mg/explante) e 22 mM de K (0,44 mg/explante) foram estatisticamente diferentes do verificado na dose de 1,375 mM de K (0,52 mg/explante).

Figura 19- Conteúdo total de fósforo nos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, cultivados *in vitro* por 21 dias em meio nutritivo JADS , com diferentes doses de potássio

Tabela 11. Conteúdo total de macronutrientes nos clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS, com diferentes doses de potássio

Clone	Doses de K no meio de cultura (mM)				
	1,375	2,75	5,5	11	22
N (mg/explante)					
A	4,45 A	4,73 A	4,34 AB	3,69 BC	3,11 C
B	4,37AB	4,49 A	4,01 B	3,72 B	3,89 AB
C	4,70 A	3,99 AB	4,15 AB	4,52 Aa	3,46 B
P (mg/explante)					
A	0,35 ABC	0,39 A	0,36 AB	0,29 C	0,31 BC
B	0,47AB	0,49 A	0,44 B	0,44 B	0,44 B
C	0,52 A	0,35 B	0,37 AB	0,44 AB	0,36 B
K (mg/explante)					
A	1,26 C	1,84 C	1,71 C	5,56 B	8,99 A
B	1,72 C	2,46 C	1,93 C	6,45 B	9,28 A
C	2,65 C	2,67 C	2,52 C	5,01 B	6,35 A
Ca (mg/explante)					
A	0,77 C	0,98 B	0,96 B	0,87 BC	1,21 A
Ba	1,31 B	1,40 B	1,09 C	1,70 A	1,68 A
C	1,48 A	0,74 C	1,01 B	1,33 AB	1,12 AB
Mg (mg/explante)					
A	0,49 AB	0,56 A	0,53 A	0,44 B	0,52 AB
B	0,63 B	0,64 B	0,59 B	0,69 A	0,69 A
C	0,71 AB	0,51 B	0,59 AB	0,75 A	0,63 AB
S (mg/explante)					
A	0,44 A	0,51A	0,48 A	0,35 BC	0,31 C
B	0,65 A	0,68 A	0,52 AB	0,56 AB	0,40 B
C	0,52 A	0,67 A	0,40 A	0,51 A	0,41 A

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

4.4.3 Conteúdo total de potássio

Em todos os clones o maior conteúdo total de potássio foi encontrado na dose de 22 mM de K no meio de cultivo (Tabela 11).

Observou-se que as doses de potássio resultaram em incrementos no conteúdo total do nutriente nos clones de *Eucalyptus grandis* x *E.urophylla* (Figura 20).

Figura 20- Conteúdo total de potássio nos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, cultivados *in vitro* por 21 dias em meio nutritivo JADS em função do fornecimento de potássio

4.4.4 Conteúdo total de cálcio

Para o clone A verificou-se o menor conteúdo total de Ca (0,77 mg/explante) na dose de 1,375, que não diferiu estaticamente da dose de 11 mM de K (0,87 mg/explante). O maior conteúdo total de cálcio (1,21 mg/explante) foi observado na dose de 22 mM de K. A diferença entre o maior e menor conteúdo de cálcio no clone A foi de 57%. No clone B, o menor conteúdo de cálcio (1,09 mg/explante) foi observado no fornecimento de 5,5

mM de K no meio de cultura. O conteúdo total de cálcio no clone C variou de 0,74 a 1,48 mg/explante. Na dose de 2,75 mM de K foi observado o menor conteúdo total de Ca.

Figura 21- Conteúdo total de cálcio nos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias em meio nutritivo JADS em função do fornecimento de potássio

4.4.5 Conteúdo total de magnésio

Para o clone A, o menor conteúdo total de magnésio (0,44 mg/explante) foi encontrado na dose de 11 mM de K, que não diferiu estatisticamente das doses de 1,375 (0,49 mg/explante) e 22 mM de K (0,52 mg/explante). O clone B apresentou o maior conteúdo total de magnésio (0,69 mg/explante) nas doses de 11 e 22 mM respectivamente. Para o clone C, o maior conteúdo total de Mg (0,75 mg/explante) foi encontrado no fornecimento de 11 mM de K.

O conteúdo total de Mg em função das doses de K no meio de cultura não foi significativo para os clones A e C (Figura 22).

Figura 22- Conteúdo total de magnésio nos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, cultivados *in vitro* por 21 dias em meio nutritivo JADS, com diferentes doses de potássio

4.4.6 Conteúdo total de enxofre

No clone A o maior conteúdo total de S (0,51 mg/explante) foi verificado no fornecimento de 2,75 mM de K, que não apresentou diferença estatística das doses de 1,375 (0,44 mg/explante) e 5,5 mM de K (0,48 mg/explante).

Para o clone B o menor conteúdo total de enxofre (0,40 mg/explante) foi observado na maior concentração de K.

O conteúdo total de enxofre nos clones sofreu um decréscimo em função do aumento das doses de K no meio de cultivo nos clones A e C (Figura 23).

Figura 23- Conteúdo total de enxofre nos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, cultivados *in vitro* por 21 dias em meio nutritivo JADS, com diferentes doses de potássio

4.5 Conteúdos totais de micronutrientes em função das doses de potássio

Na Tabela 12 estão apresentados os conteúdos dos micronutrientes em função das doses de K no meio nutritivo.

Tabela 12. Conteúdos total de micronutrientes nos clones *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro* por 21 dias no meio nutritivo JADS com diferentes doses de potássio

Clone	Doses de K no meio de cultura (mM)				
	1,375	2,75	5,5	11	22
B (µg/explante)					
A	10,80 AB	11,43 A	11,50 A	7,94 BC	6,07C
B	6,21 B	6,36 B	5,59 B	6,28 B	9,40 A
C	7,80 A	5,32 A	5,38 A	6,06 A	5,52 A
Cu (µg/explante)					
A	1,14 AB	1,31 AB	1,55 A	1,00 B	1,36 AB
B	1,65 A	1,25 AB	1,10 AB	0,88 B	1,64 A
C	1,71 A	1,22 A	1,32 A	1,53 A	1,24 A
Fe (µg/explante)					
A	37,29 A	45,26 A	40,72 AB	33,72 B	41,05 AB
B	68,57 BC	76,41 ABC	62,31 C	87,84 A	81,37 AB
C	48,69 A	31,52 B	36,20 AB	46,65 A	37,61 AB
Mn (µg/explante)					
A	17,19 BC	20,70 A	22,55 A	16,05 C	19,84 ABC
B	35,45 AB	38,73 A	33,75 AB	31,93 B	29,71 B
C	26,98 A	15,96 AB	15,52 B	25,69 AB	18,10 AB
Zn (µg/explante)					
A	7,79 A	6,78 AB	6,40 AB	5,34 AB	4,41 B
B	9,47 A	6,76 AB	6,06 B	6,80 AB	5,00 B
C	7,00 A	5,30 AB	5,61 AB	5,63 AB	4,75 B

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

4.5.1 Conteúdo total de boro

No clone A, o menor conteúdo de boro (6,07 µg/explante) foi verificado na dose de 22 mM de K. Neste material genético se observou um efeito negativo do fornecimento de K no conteúdo total de boro (Figura 24). Para o clone B o maior conteúdo de B (9,40 µg/explante) foi observado com o

fornecimento de 22 mM de K no meio de cultura. Houve um aumento no conteúdo total de boro no clone B em função das doses de K no meio de cultivo (Figura 24). No clone C, não se verificou diferença no conteúdo total de boro com o aumento da dose de K no meio de cultivo (Figura 24).

Figura 24- Conteúdo total de boro nos clones A,B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, cultivados *in vitro* por 21 dias em meio nutritivo JADS com diferentes doses de potássio

4.5.2 Conteúdo total de cobre

No clone A observou-se o menor conteúdo total de cobre (1,00 µg/explante) na dose de 11 mM de K no meio de cultivo, que diferenciou-se estatisticamente do conteúdo total de Cu (1,55µg/explante) encontrado na dose de 5,5 mM de K. Para o clone B, o conteúdo total de Cu variou de 0,88 a 1,65 µg/explante. Para o clone C, não houve diferença estatística entre as doses de K no meio de cultivo.

4.5.2 Conteúdo de ferro

O clone A apresentou o menor conteúdo total de ferro (33,72 µg/explante) no fornecimento de 11 mM de K, que diferenciou estatisticamente das doses de 1,375 (37,29 µg/explante) e 2,75 mM de K (45,26 µg/explante). O menor conteúdo total de Fe no clone B foi observado com o fornecimento de 5,5 mM de K (62,31 µg/explante) no meio de cultivo. Para o clone C, o conteúdo total de ferro variou de 31,52 a 48,69 µg/explante.

4.5.4 Conteúdo total de manganês

No clone A o maior conteúdo total de Mn (22,55 µg/explante) foi obtido na dose de 5,5 mM de K, que não apresentou diferença estatística das doses de 2,75 (20,70 µg/explante) e 22 mM de K (19,84 µg/explante). Para o clone B verificou-se o maior conteúdo total de manganês (38,73 µg/explante) na dose de 2,75 mM. Esse material genético respondeu significativamente as doses de potássio no meio de cultura (Figura 25). Em relação ao clone C observou-se o maior conteúdo de manganê (26,98 µg/explante) na dose de 1,375 mM de K, que deferiu estatisticamente apenas da dose 5,5 mM de K (15,52 µg/explante).

Figura 25- Conteúdo total de manganês nos clones A,B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, cultivados *in vitro* por 21 dias em meio nutritivo JADS, com diferentes doses de potássio

4.5.3 Conteúdo total de zinco

Para o clone A observou-se diferença significativa do conteúdo total de zinco somente entre as doses de 1,375 (7,79 µg/explante) e 22 mM de K (4,41 µg/explante) no meio de cultivo (Tabela 5).

No clone B, o maior conteúdo total de Zn (9,47 µg/explante) foi encontrado na dose de 1,375 mM de K. Em relação ao clone C o menor conteúdo total de zinco (4,75 µg/explante) foi verificado na dose de 22 mM de K, que não apresentou diferença estatística das doses de 2,75, 5,5 e 11 mM de K. Nos clones A e B observaram-se um decréscimo no conteúdo total de zinco em função do fornecimento de K no meio de cultivo (Figura 26).

Figura 26- Conteúdo total de zinco nos clones A,B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, cultivados *in vitro* por 21 dias em meio nutritivo JADS com diferentes doses de potássio

4.6 Eficiência de utilização de potássio

A eficiência no uso de nutrientes pode ser definida como a relação entre produção e a concentração de nutrientes no tecido. Na tabela 13 estão apresentados os valores de eficiência de utilização de potássio (EUK) encontrados nos clones de *E. grandis* x *E. urophylla* cultivados por 21 dias sob diferentes doses do nutriente.

No clone A a eficiência de utilização de potássio (EUK) foi maior quando fornecida a dose de 1,375 mM (8,12 mg MS²/µg K) no meio de cultivo, apesar de não ser estatisticamente diferente das doses de 2,75 (7,72 mg MS²/µg K) e 5,5 mM de K (6,75 mg MS²/µg K).

Para o clone B, a maior EUK (12,02 MS²/µg K) foi obtida na menor dose de K. Nas concentrações de 2,75 e 5,5 mM de K no meio de cultivo, não houve diferença estatística entre os valores de eficiência nutricional de potássio.

No clone C, a menor EUK (2,42 MS²/µg K) foi verificada na dose de 22 mM de K e a maior (7,06 MS²/µg K) no fornecimento de 1,375 mM de K.

De modo geral, a eficiência de utilização de potássio decresceu com o aumento da dose de K no meio de cultivo (Figura 27).

Figura 27- Eficiência nutricional de potássio dos clones A, B e C de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* após 21 dias de cultivo *in vitro* nos meio JADS, com diferentes doses de potássio

Tabela13. Matéria seca, conteúdo total de potássio e EUK dos clones de *E. grandis* x *E. urophylla* após 21 dias de cultivo nomeio JADS com diferentes doses de potássio

Doses de K (Mm)	Matéria seca (g)	Conteúdo Total de K (mg)	EUK (mg MS ² /μg K)
Clone A			
1,375	0,1012 B	1,26 C	8,12 A
2,750	0,1076 AB	1,84 C	7,72 A
5,500	0,1191 A	1,71 C	6,75 A
11,000	0,1007 C	5,56 B	1,82 B
22,000	0,1189 A	8,99 A	1,57 B
Clone B			
1,375	0,1435 B	1,72 C	12,02 A
2,750	0,1577 AB	2,46 C	10,13 B
5,500	0,1303 C	1,93 C	8,80 B
11,000	0,1613 A	6,45 B	4,03 C
22,000	0,1646 A	9,28 A	2,92 C
Clone C			
1,375	0,1173 A	2,65 C	7,06 A
2,750	0,1142 B	2,67 C	3,90 BC
5,500	0,1020 AB	2,52 C	5,32 AB
11,000	0,1458 B	5,01 B	4,51 B
22,000	0,1244 AB	6,35 A	2,42 C

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.6 Considerações finais

Os mecanismos envolvidos na absorção e utilização *in vitro* de nutrientes em *Eucalyptus* são ainda muito pouco compreendidos e estudados.

As respostas no desenvolvimento e características fisiológicas das plantas cultivadas *in vitro* são influenciadas pelos nutrientes minerais e fitorreguladores do meio de cultivo e pelo ambiente.

Estudos realizados com os mesmos clones, em condição de casa de vegetação, mostraram respostas análogas às observadas no trabalho. Os resultados sugerem que a propagação *in vitro* pode ser uma ferramenta promissora na seleção preliminar de clones a exigência nutricional.

5 CONCLUSÕES

Na dose de 1,375 mM de potássio no meio de cultura houve o aparecimento de clorose nas extremidades das folhas mais velhas no clone A. Nas doses 1,375, 2,75 e 5,5 mM de K ocasionaram o aparecimento de um avermelhamento nas folhas e no caule no clone B e folhas cloróticas com avermelhamento marginal no clone C.

O clone B de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* foi o material genético que respondeu ao fornecimento de K no meio de cultura em relação à produção de matéria seca.

Houve resposta positiva do teor de potássio nas brotações com o aumento da dose de K no meio de cultura em todos os clones avaliados.

Em todos os clones, os teores foliares de nitrogênio e fósforo foram afetados negativamente com o fornecimento de potássio no meio de cultura.

Houve diminuição do teor de enxofre, no clone B, com o fornecimento de K no meio de cultura.

Os teores de boro no clone A foram afetados negativamente pelo aumento das doses de K no meio de cultura.

Houve um decréscimo nos teores de magnésio em função das doses de K no clone A.

Os teores de zinco foram afetados negativamente pelo fornecimento de K em todos os clones.

Os conteúdos totais de nitrogênio e enxofre sofreram um decréscimo em função do aumento de K no meio de cultura em todos os clones.

O conteúdo total de boro no clone A foi afetado negativamente pelo aumento da dose de K no meio de cultivo.

Houve um decréscimo do conteúdo total de zinco em função do fornecimento de K em todos os clones;

Nos três clones a maior eficiência de utilização de potáss fornecimento de 1,375 mM de K no meio de cultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, A. Avaliação dos parâmetros que influenciam a transformação genética do *Eucalyptus grandis* via *agrobacterium*. Piracicaba, 2001. 82 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. Eucalypt nutrition and fertilizer regimes in Brazil. In: ATTIWILL, P.M., ADAMS, M.A. (Ed). **Nutrition of *Eucalyptus***. Melbourne: CSIRO, 1996. p.335-355.
- BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L Fertilização e correção do solo para o plantio de eucalipto. In: BARROS, N.F;NOVAIS, R.F (Ed.). **Relação solo- eucalipto**. Viçosa: Folha de Viçosa , 1990. cap.3. p.25-98.
- BARROS, N.F.; LEAL, P.G.L.; NOVAIS, R.F. **Eficiência hídrica e nutricional em genótipos de eucalipto**. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 1998. 6p.
- BARROS, N.F.; CARMO, D.N.; CALAIS, D.; VIEIRA, F.S. Biomassa, absorção e utilização de nutrientes por clones de eucalipto na região norte do Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 20, Campinas,1985. **Programa e Resumos**. Campinas SBCS, 1985. p.109.
- BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L; LEAL, P.G.L.; Fertilizing eucalypt plantations on the Brazilian savannah soils. **South African Forestry Journal**, v.160, p.7-12, 1992.

- BARRUETO, C.L.P.; MACHADO, A.C.M.G.; CARVALHEIRA, S.B.R.C.; BRASILEIRO, A.C.M. Plant regeneration from seedling explants of *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.56, p.17-23, 1999.
- BASSO, L.H.M. Efeito do alumínio na fisiologia e bioquímica de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* cultivados *in vitro*. Piracicaba, 2000. 67p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- BELLOTE, A. F. J. Concentração, acumulação e exportação de nutrientes pelo *Eucalyptus grandis* (Hill ex maiden) em função da idade. Piracicaba, 1979. 129p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- BORDMAN, R.; CROMER, R.N.; LAMBERT, M.J; WEBB, M.J. Forest plantations. In: REUTER, D.J; ROBINSON, J.B. (Ed). **Plant analysis an interpretation manual**. Collingwood: CSIRO, 1997. p.55 –56.
- BERTOLUCCI, F.; REZENDE, G.; PENCHEL, R. Produção e utilização de híbridos de eucalipto. **Silvicultura**, v.51, p.12-16, 1995.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A (Ed). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas 1**. Brasília: Embrapa-SPI; Embrapa-CNPq, 1999. p.87-132.
- CAMARGO, M.A.F. Matéria seca, concentração e conteúdo de macronutrientes em mudas de clones de eucalipto, em função da idade. Piracicaba, 1997. 94p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

CAÑAL, M.J.; RODRIGUEZ, R.; FERNÁNDEZ, B.; SÁNCHEZ – TAMES, R.; MAJADA, J.P. Fisiologia Del cultivo *in vitro*. **Biotecnologia Vegetal**, v.1, p.3-9, 2001.

CARMELO, Q. A. C. Saturação por bases e relações entre K, Ca e Mg no solo na nutrição potássica do milho (*Zea mays* L.) cv Piranão. Piracicaba, 1989. 105 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

CHEN, L.; NISHIZAWA, T.; HIGASSHITANI, A.; SUGE, H.; WAKUI, H; TAKEDA, K; TAKAHASHI A variety of whet tolerant to deep-seeding conditions elongation of the first internode depends on the response to gibberelin and potassium. **Plant, Cell and Environment**, v.24, p.469-476, 2001.

CORREIA, D. Crescimento e desenvolvimento de gemas na multiplicação de *Eucalyptus spp. in vitro* em meio de cultura líquido e sólido Piracicaba, 1993. 113p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

CLARKSON, D.T.; HANSON, B. J. The mineral nutrition of higher plants . **Annual Review Plant of Physiology**, n.31, p.239 –298, 1980.

DEBERGH, P.; DE RIEK, J; MATTHYS Nutrient supply and growth of plants culture. In: LUMSDEN, P.J.; NICHOLAS, J.R., DAVIES, W.J (Ed). **Physiology, growth and development of plants in culture**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1994. p.58-68.

DELL, B.; MA;AJACZUK, N.; GROVE, T.S. **Nutrient disorders in plantation eucalypts**. Camberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1995. 104 p.

EPSTEIN, E, RAINS, D.W.; ELZAM, O. E. Resolution of dual mechanisms of potassium absorption by barley roots. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.49, p.684-692, 1963.

- EPSTEIN, E. **Nutrição mineral de plantas, princípios e perspectivas**. São Paulo: EDUSP, 1975. 341 p.
- EVANS, H.J ;WILDES, R. A. Potassium and its role in enzymes activation. In: POTASH INSTITUTE. **Potassium in biochemistry and physiology international**, Berna, 1971. p.239-245.
- FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; JONES, C.A. **Growth and mineral nutrition of fields crops**. New York: M. Dekker, 1991. 476p
- GALO, M.V. Resposta do eucalipto à aplicação de potássio em solo de cerrado. Viçosa, 1993.40p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.
- GAVA, J.L. Efeito da adubação potássica em plantios de *E.grandis* conduzidos em segunda rotação em solos com diferentes teores de potássio trocável. **SerieTécnica IPEF**, v.11, n.30, p84-94, 1997.
- GOMES, M.A.N; SHEPHERD, S.L.K Estudo de nutricao mineral *in vitro* relacionado à adaptação de *Sinningia allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae) as condições de cerrado. **Revista Brasil Botânica**, v.2, p.153-159, 2000
- GONÇALVES, J.L.M. Recomendações de adubação para *Eucalyptus*, *Pinus* e espécies típicas da Mata Atlântica. **Documentos Florestais**, n.15: p.1-23, 1995.
- GONZALEZ, E. R. Transformação genética de *Eucalyptus grandis* e do híbrido *E grandis* x *E.urophylla* via *agrocacterium*. Piracicaba, 2002. 93p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- GOURLEY, C.J.P.; ALLAN, D.L.; RUSSELI, M.P. Plant nutrient efficiency: a comparision of denitions and suggested improvement. **Plant and Soil**, v.158, n.1, p.29-37, 1994.

- GRIBBLE, K; CONROY, J.P.; HOLFORD, P.; MILHAM, P.J. *In vitro* uptake of minerals by *Gypsophila paniculata* and hybrid eucalypts and relevance to media mineral formulation. **Australian Journal of Botany**, v.50, p.713-723, 2002.
- HIGASHI, E.N. Diagnose de deficiência de nutrientes minerais em três híbridos de *Eucalyptus* spp cultivados *in vitro*. Piracicaba, 1996. 85 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- HIGASHI, E.N.; GONÇALVES, A.N. Avaliação Nutricional de Eucalyptus Cultivados *in vitro*. **IPEF Notícias**, n.154, p.6-8, jan/fev. 2001.
- HIGASHI, E.N.; SILVEIRA, R.L.V.A; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de Eucalyptus: princípios básicos e sua evolução no Brasil**. Piracicaba: IPEF, 2000. 14p. (Circular Técnica, 192)
- HIGASHI, E.N.; SILVEIRA, L.V.A.; GONÇALVES, A.N. **Nutrição e adubação em minijardim clonal hidropônico de *Eucalyptus***. Piracicaba: IPEF, n.194, 2002. 21p. (Circular Técnica, 194)
- INTERNATIONAL POTASH INSTITUTE. **Potassium in plant production**. <http://www.ipipotash.org> (20 mar. 2003).
- LANGER, M. Estudos e análise dos efeitos do cálcio sobre o crescimento inicial do híbrido *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis* cultivados *in vitro*. Piracicaba, 2000. 101 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- LEITE, F.P.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. FABRES, A.S. Acúmulo e distribuição de nutrientes em *Eucalyptus grandis* sob diferentes densidades populacionais. **Revista Brasileira de Ciência e Solo**, v.22, n.3, p.419-426, 2002.

- LEMOS, O.F. Mutagênese e tecnologia in vitro no melhoramento genético da pimenta do reino. Piracicaba. 2003. 159p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- KERBAUY, G.B. Competência e determinação celular em cultura de células e tecidos de plantas. In: TORRES, A.C; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A (Ed) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas 2**. Brasília: Embrapa-SPI; Embrapa-CNPq, 1999. p.87-132.
- KURIHARA, C.H. Nutrição mineral e crescimento de soja sob influência do equilíbrio entre Ca, Mg e K. Lavras, 1991. 95p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura de Lavras.
- MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 528 p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas princípios e aplicações**. 2.ed Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319p.
- MALAVOLTA, E.; CROCOMO, O.J. Funções do potássio na planta. In: YAMADA, T.; IGUE, K.; MUZILLI, O.; USHERWOOD, N.R. (Ed) **Potássio na agricultura brasileira**. Piracicaba: Instituto da Potassa e Fosfato, 1982. p.95-162
- MARSCHENER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. San Diego: Academic Press, 1995. 888p.
- MENCK, A. L. M. Crescimento e Atividade da Fosfatase Ácida de plântulas de progênies de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden em diferentes doses de fósforo in vitro. Piracicaba, 1996. 99p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- MENGEL, K.; ARNEKE, W.W. Effect of potassium on the water potential, the osmotic potential, and cell elongation in leaves of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, v.54, p.402-408, 1982.

- MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principle of plant nutrition**. 4.ed. Bern: International Potash Institute, 1987. 655p.
- MIX, G. Application of in vitro techniques for screen plant genetics variability. In: BASSAN, N.F. (Ed). **Genetics aspects of plant mineral nutrition**. Wageningen: Kluwer Academy, 1990. p. 339-343.
- MORAIS, E.J.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; BRANDI, R.M. Biomassa e eficiência nutricional de espécies de eucalipto em duas regiões bioclimáticas de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência e Solo**, v.14, n.3., p.353-362, 1990.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A revised medium for rapid growth and byossays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R.F., BARROS, N.F. Efeito do alumínio em solução nutritiva no crescimento e absorção de nutrientes por *Eucalyptus spp.* **Revista Árvore**, n.6, p. 1-16, 1982.
- NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F.; NEVES, J.C.L Nutrição Mineral de Eucalipto. In: BARROS, N.F., NOVAIS, R.F. **Relação solo- eucalipto**. Viçosa, Folha de Viçosa , 1990. p.25-98.
- PERES, L. E. P. Absorção e transporte de nutrientes pelas raízes. **Revista Universa**, v.1, p. 45-66, 2002.
- PERRENOUD, S. **Potassium and plant health**. 2.ed. Berne: International Potash Institute, 1990. 363p.
- PIRSON, A. Functions aspects in mineral nutrition of green plants. **Annual Review of plant physiology**, v.6, p. 71-114, 1955.
- PRETTY, K.M. O potássio na qualidade dos produtos agrícolas. In : IYAMADA, T.; IGUE, K.; MUZILLI, O.; USHERWOOD, N.R (Ed). **Potássio na agricultura brasileira**. Piracicaba: Instituto da Potassa e Fosfato, 1982. p. 177-194.

PREDIERI, S Mutation induction and tissue culture in improving fruits. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.64, p.185-210, 2001.

RAIJ, B van. Disponibilidade de potássio em solos do Brasil. In: Yamada,T.; IGUE, K.; MUZILLI, O.; USHERWOOD, N. R (Ed.) **Potássio na agricultura brasileira**. Piracicaba: Instituto da Potassa & Fosfato, 1982. p.67-76.

RAVEN, P.H;EVERT, R.F.;EICHHORN **Biologia Vegetal**, Rio de Janeiro: Guanabara, 2002. 906p.

SANTANA, R.C., NAIRAM, F.B.; NEVES, J.C.L. Eficiência de nutrientes e sustentabilidade da produção em procedências de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna* em sítios florestais do Estado de São Paulo. **Revista Árvore**, v.26, n.4, p.447-457, 2002.

SIDDIQI,M.Y; GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.4, p.289-302, 1981.

SILVEIRA, R.L.V.A. Efeito do potássio no crescimento, nas concentrações dos nutrientes e nas características da madeira juvenil das progênies de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden cultivadas em solução nutritiva. Piracicaba, 2000. 169p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

SILVEIRA, R.L.V.; MALAVOLTA, E. **Nutrição e adubação potássica em *Eucalyptus***. Piracicaba: POTOFOS, 2000. 9p. (Encarte Técnico, n.91).

SILVEIRA, R.L.V.A.; HIGASHI, E.N.; GONÇALVES, A.N.; MOREIRA, A. Avaliação do estado nutricional do *Eucalyptus*: diagnose visual, foliar e suas Interpretações. In: GONÇALVES, J.L.M; BENEDETTI. (Ed). **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, 2000.a. cap.3, p70-104.

SILVEIRA, R.L.V.A.; HIGASHI, E.N.; SGARBI, F.; MUNIZ, M.R.A. Seja o doutor do seu eucalipto, Piracicaba: **Potafos**, 2001. 32p.

- SILVEIRA, R.L.V.A.; TAKAHASHI, E.N; SGARBI, F.; CAMARGO, M. A.; Moreira, A. Crescimento e estado nutricional de brotações de *Eucalyptus citriodora* sob doses de boro em solução nutritiva. **Scientia Florestalis**, n.57, p.53-67, jun.2000.b.
- SOARES, C.R.F.S.; GRAZZIOTI, P.H.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Toxidez de zinco no crescimento e nutrição de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.2, p.339-348, fev. 2001.
- SOARES, E.; LIMA, L.A.; MISCHAN, M.M. Efeito da relação entre teores trocáveis de Ca e Mg do solo na absorção de K por plantas de centeio. **Revista Agricultura**, v. 58, n.4 , p.315-330, 1983.
- SOUZA, G. Influencia da deficiência hídrica no desenvolvimento morfogênético do *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. *in vitro*. Piracicaba, 1997. 69 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- SOUZA, M.E. Correlação adulto-juvenil para eficiência nutricional e comportamento de *Eucalyptus grandis* em dois níveis de fertilidade do solo. Viçosa, 1994. 49p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE SILVICULTURA. **Eucalipto no Brasil e no mundo**. <http://www.floresta.ipef.br> (20 ago. 2000).
- TAIZ, L; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2.ed. Massachusetts: Sinauer, 1998. 792p.
- TEIXEIRA, J.L; BARROS, N.F; COSTA, L.M.; CAMPOS, J.C.C.; LEAL, P.G.L. Biomassa e conteúdo de nutrientes de duas espécies de eucalipto em diferentes ambientes do médio Rio Doce, MG. **Revista Arvore**, v.13, n.1, p.34-50, 1987.

ZAIDAN, H.A.; OLIVEIRA, E.T.; GALLO, L.A.; CROCOMO, O. J. Comportamento fisiológico in vitro de bananeira (Musa sp., AAA e AAB) cvs. Nanica e prata anã: Influencia de diferentes níveis de potássio. **Scientia Agrícola**, v.56, n.2, p.1-16, 1999.

WHITE, P.R. A handbook of plant tissue culture. Lancaster: J. Cattell, 1943. 543p.