

**NITROGÊNIO, FÓSFORO, POTÁSSIO, CÁLCIO E O CRESCIMENTO DE
PLÂNTULAS DE *Aechmea blanchetiana* (BAKER) L.B. SMITH *IN VITRO***

SHOEY KANASHIRO

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de
Queiroz”, Universidade de São Paulo, para obtenção do
título de Doutor em Agronomia, Área de concentração:
Fitotecnia

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Fevereiro – 2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**NITROGÊNIO, FÓSFORO, POTÁSSIO, CÁLCIO E O CRESCIMENTO DE
PLÂNTULAS DE *Aechmea blanchetiana* (BAKER) L.B. SMITH *IN VITRO***

SHOEY KANASHIRO

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **ROBERVAL DE CÁSSIA SALVADOR RIBEIRO**

Co-orientador: Prof. Dr. **ANTONIO NATAL GONÇALVES**

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de
Queiroz”, Universidade de São Paulo, para obtenção do
título de Doutor em Agronomia, Área de concentração:
Fitotecnia

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Fevereiro – 2005

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

Kanashiro, Shoey

Nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e o crescimento de plântulas de *Aechmea blanchetiana* (Baker) L. B. Smith *in vitro* / Shoey Kanashiro. - - Piracicaba, 2005.
187 p.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005.
Bibliografia.

1. Bromélia 2. Cálcio 3. Crescimento vegetal 4. Fósforo 5. Nitrogênio 6.
Nutrição vegetal 7. Potássio 8. Propagação vegetal I. Título

CDD 635.93422

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

**À minha esposa Teresa e
Aos meus filhos Marta e Renato,
dedico.**

**Aos meus pais Seiichi e Masa
e à Dona Ana,
ofereço.**

AGRADECIMENTOS

A Deus;

Ao Professor Dr. Roberval de Cássia Salvador Ribeiro pela orientação, amizade e apoio e pela oportunidade de ingressar no curso de pós-graduação;

Ao Professor Dr. Antonio Natal Gonçalves, pela orientação, amizade, apoio e por permitir a utilização das instalações do seu laboratório de fisiologia para a condução dos experimentos do presente trabalho;

Ao Professor Dr. Valdemar Antonio Demétrio pela amizade, apoio e orientação;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela oportunidade de aperfeiçoamento;

Ao Instituto de Botânica por permitir o afastamento para frequentar o curso de pós-graduação;

À Teresa Jocys, minha esposa, pela colaboração na condução e coleta dos dados dos experimentos, compreensão e apoio nos momentos mais críticos;

Aos colegas Diva Correia, Edson Namita Higashi, Alice Noemi Aranda Peres, Juliana, Saulo de Tarso e Carlos Vera pela amizade, colaboração e sugestões durante o curso;

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia Luciane Aparecida Lopes Toledo pela ajuda inestimável e ao funcionário do Departamento de Ciências Florestais José Roberto Romanini pelos trabalhos no laboratório;

À Eng^a. Agr^a. MS Adriana Alice Francisco, Biol. Yoshimi Nagatani e Biol. Yuna Cuema Rodrigues das Neves e aos estagiários Camila C. Castilho, Renata F. Giacometti, Fernando de C. Jacinavicius e Cláudio T. Hidalgo pela colaboração na condução e coleta de dados dos experimentos;

Aos pesquisadores científicos da Seção de Ornamentais do Instituto de Botânica, pelo apoio e valiosas sugestões no decorrer do curso;

Aos funcionários da Seção de Ornamentais do Instituto de Botânica pela colaboração, especialmente à Maria da Conceição Maciel Oliveira, Ivo Aparecido Medina, Luzia Rodrigues Scarpeta, Helvecio de Oliveira e Cleonice R. de Campos;

Ao Professor Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias pelo auxílio na análise estatística dos dados;

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xx
RESUMO.....	xxiv
SUMMARY.....	xxvi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 A família Bromeliaceae.....	3
2.2 A espécie <i>Aechmea blanchetiana</i>	4
2.3 Propagação de bromélias.....	5
2.4 Nutrição mineral na família Bromeliaceae.....	7
2.5 Nutrição mineral <i>in vitro</i>	13
2.5.1 Meio de cultura e nutrientes minerais.....	13
2.5.2 Macronutrientes no meio de cultura.....	17
2.6 Interação entre íons.....	27
2.7 Funções dos nutrientes em bromeliácea.....	29

3 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1 Coleta de sementes.....	32
3.2 Assepsia do explante e inoculação <i>in vitro</i>	33
3.3 Delineamento experimental e análise estatística.....	33
3.4 Efeitos de diferentes concentrações de nitrogênio, fósforo, potássio e cálcio no crescimento <i>in vitro</i>	34
3.4.1 Efeitos de diferentes concentrações de nitrogênio no crescimento <i>in vitro</i>	35
3.4.2 Efeitos de diferentes concentrações de fósforo no crescimento <i>in vitro</i>	35
3.4.3 Efeitos de diferentes concentrações de potássio no crescimento <i>in vitro</i>	35
3.4.4 Efeitos de diferentes concentrações de cálcio no crescimento <i>in vitro</i>	36
3.5 Análises biométricas.....	36
3.6 Análises químicas.....	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1 Efeitos de diferentes concentrações de nitrogênio no crescimento de <i>A. blanchetiana in vitro</i>	44
4.1.1 Análise biométrica de dimensões.....	44
4.1.2 Análise biométrica de massas.....	55
4.1.3 Teor de macronutrientes nas folhas.....	64
4.1.4 Teor de micronutrientes nas folhas.....	72
4.2 Efeitos de diferentes concentrações de fósforo no crescimento de <i>A. blanchetiana in vitro</i>	79
4.2.1 Análise biométrica de medidas.....	79
4.2.2 Análise biométrica de massas.....	87

4.2.3 Teor de macronutrientes nas folhas.....	96
4.2.4 Teor de micronutrientes nas folhas.....	104
4.3 Efeitos de diferentes concentrações de potássio no crescimento de <i>A. blanchetiana in vitro</i>	110
4.3.1 Análise biométrica de dimensões.....	110
4.3.2 Análise biométrica de massas.....	117
4.3.3 Teor de macronutrientes nas folhas.....	127
4.3.4 Teor de micronutrientes nas folhas.....	136
4.4 Efeitos de diferentes concentrações de cálcio no crescimento de <i>A. blanchetiana in vitro</i>	143
4.4.1 Análise biométrica de medidas.....	143
4.4.2 Análise biométrica de massas.....	150
4.4.3 Teor de macronutrientes nas folhas.....	159
4.4.4 Teor de micronutrientes nas folhas.....	167
4.5 Considerações gerais.....	174
5 CONCLUSÕES.....	177
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	178

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Espécimes de <i>Aechmea blanchetiana</i> cultivadas na Seção de Ornamentais do Instituto de Botânica, São Paulo, SP.....	4
2 Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da plântula de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	52
3 Médias observadas e funções ajustadas para a variável folha com maior largura de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	52
4 Médias observadas e funções ajustadas para a variável diâmetro de caule de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio...	53
5 Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de folhas em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	53
6 Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da maior raiz em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	54

7	Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de raízes em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	54
8	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca das folhas em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	60
9	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca total em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	60
10	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das folhas em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	61
11	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca do caule em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	61
12	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca da parte aérea em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	62
13	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das raízes em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	62
14	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca total em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie <i>A.</i>	

<i>blanchetiana</i>	63
15 Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de nitrogênio nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	69
16 Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de fósforo nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	69
17 Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de potássio nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	70
18 Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cálcio nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	70
19 Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de magnésio nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	71
20 Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de enxofre nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	71
21 Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de boro nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	76

22	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cobre nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	76
23	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de ferro nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	77
24	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de manganês nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	77
25	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de zinco nas folhas de <i>A. blanchetiana</i> em função das diferentes concentrações de nitrogênio.....	78
26	Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da plântula em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	84
27	Médias observadas e funções ajustadas para a variável folha com maior largura em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i> .	84
28	Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de folhas em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	85
29	Médias observadas e funções ajustadas para a variável diâmetro de caule em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	85
30	Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de raízes	

	com maior largura em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	86
31	Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da maior raiz em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	86
32	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca das folhas em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	92
33	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca total em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	92
34	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das folhas em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	93
35	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca do caule em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	93
36	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca da parte aérea em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	94
37	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das raízes em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	94
38	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca total em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	95
39	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de nitrogênio em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	101

40	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de fósforo em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	101
41	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de potássio em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	102
42	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cálcio em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	102
43	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de magnésio em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	103
44	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de enxofre em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	103
45	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de boro em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	107
46	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cobre em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	107
47	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de ferro em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	108
48	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de manganês em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	108
49	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de zinco em função da concentração de fósforo na espécie <i>A. blanchetiana</i>	109

50	Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da planta em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i> ...	114
51	Médias observadas e funções ajustadas para a variável folha com maior largura em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i> .	114
52	Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de folhas em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	115
53	Médias observadas e funções ajustadas para a variável diâmetro do caule em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	115
54	Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da maior raiz em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	116
55	Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de raízes em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	116
56	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca das folhas em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i> ...	123
57	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca total em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	123
58	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das folhas em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i> ...	124
59	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca do caule em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	124

60	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das raízes em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i> ...	125
61	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca da parte aérea em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	125
62	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca total em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	126
63	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de nitrogênio em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	133
64	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de fósforo em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	133
65	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de potássio em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	134
66	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cálcio em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	134
67	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de magnésio em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	135
68	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de enxofre em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	135
69	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de boro em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	140

70	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cobre em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	140
71	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de ferro em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	141
72	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de manganês em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	141
73	Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de zinco em função da concentração de potássio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	142
74	Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da plântula em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i> ...	147
75	Médias observadas e funções ajustadas para a variável folha com maior largura em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	147
76	Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de folhas em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	148
77	Médias observadas e funções ajustadas para a variável diâmetro do caule em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	148
78	Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de raízes em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	149
79	Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da maior raiz em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	149

80	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca das folhas em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	155
81	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca total em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	155
82	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das folhas em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	156
83	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca do caule em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	156
84	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca da parte aérea em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	157
85	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das raízes em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	157
86	Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca total em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	158
87	Médias observadas e funções ajustadas para a variável nitrogênio em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	164
88	Médias observadas e funções ajustadas para a variável fósforo em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	164
89	Médias observadas e funções ajustadas para a variável potássio em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	165

90	Médias observadas e funções ajustadas para a variável cálcio em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	165
91	Médias observadas e funções ajustadas para a variável magnésio em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	166
92	Médias observadas e funções ajustadas para a variável enxofre em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	166
93	Médias observadas e funções ajustadas para a variável boro em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	171
94	Médias observadas e funções ajustadas para a variável cobre em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	171
95	Médias observadas e funções ajustadas para a variável ferro em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	172
96	Médias observadas e funções ajustadas para a variável manganês em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	172
97	Médias observadas e funções ajustadas para a variável zinco em função da concentração de cálcio na espécie <i>A. blanchetiana</i>	173

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Teor de nutrientes nas folhas de uma planta tipicamente eutrófica (cereal) e <i>Tillandsia paucifolia</i> em cipestre com estresse de nutrientes e bem nutrido em Florida.....	8
2 Composição química das folhas de Bromeliaceae em função das três formas de nutrição.....	9
3 Teores de nutrientes determinadas nas folhas em crescimento de <i>A. fasciata</i> e <i>A. comosus</i> cultivadas comercialmente em estufas e campo de produção, respectivamente.....	10
4 Exemplos de efeitos interiônicos, segundo Malavolta, 1980 e Malavolta et al., 1997.....	28
5 Esquema da análise de variância da regressão e do teste F para todas as variáveis analisados no crescimento de <i>A. blanchetiana</i>	34
6 Concentração de íons nos meios de cultura MS modificados com diferentes níveis de nitrogênio (7,5; 15; 30; 60 e 120 mM.L ⁻¹) no crescimento <i>in vitro</i> de <i>A. blanchetiana</i>	40

7	Concentração de íons nos meios de cultura MS modificados com níveis diferentes de fósforo (0,15; 0,30, 0,60; 1,25 e 2,50 mM.L ⁻¹) no crescimento <i>in vitro</i> de <i>A. blanchetiana</i>	41
8	Concentração de íons nos meios de cultura MS modificados com diferentes níveis de potássio (2,5; 5; 10; 20 e 40 mM.L ⁻¹) no crescimento <i>in vitro</i> de <i>A. blanchetiana</i>	42
9	Concentração de íons nos meios de cultura MS modificados com diferentes níveis de cálcio (1,5; 3; 4,5; 6 e 12 mM.L ⁻¹) no crescimento <i>in vitro</i> de <i>A. blanchetiana</i>	43
10	Médias das medidas biométricas de dimensões da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de nitrogênio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	45
11	Médias das medidas biométricas de massas por plântula da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de nitrogênio no meio de cultura e significância dos efeitos de regressão e teste F.....	55
12	Médias do teor de macronutrientes nas folhas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de nitrogênio no meio de cultura e significância dos efeitos de regressão e teste F.....	64
13	Médias do teor de micronutrientes nas folhas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de nitrogênio no meio de cultura e significância dos efeitos de regressão.....	72
14	Médias das medidas biométricas de medidas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de fósforo no meio de cultura,	

	significância dos efeitos de regressão e teste F.....	79
15	Médias das medidas biométricas de massas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de fósforo no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	87
16	Médias das medidas de teor de macronutrientes nas folhas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de fósforo no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	96
17	Médias das medidas biométricas de teor de micronutrientes nas folhas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de fósforo no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	104
18	Médias das medidas biométricas de dimensões da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de potássio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	110
19	Médias das medidas biométricas de massas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de potássio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	117
20	Médias dos teores de macronutrientes nas folhas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de potássio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	127
21	Médias do teor de micronutrientes encontrados nas folhas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de potássio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	136

22	Médias das medidas biométricas de mensurações da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de cálcio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	143
23	Médias das medidas biométricas de massas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de cálcio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	150
24	Médias dos teores de macronutrientes nas folhas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de cálcio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	159
25	Médias dos teores de micronutrientes nas folhas da espécie <i>A. blanchetiana</i> em função de diferentes concentrações de cálcio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F.....	167

NITROGÊNIO, FÓSFORO, POTÁSSIO, CÁLCIO E O CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Aechmea blanchetiana* (BAKER) L.B. SMITH *IN VITRO*

Autor: SHOEY KANASHIRO

Orientador: Prof. Dr. ROBERVAL DE CÁSSIA SALVADOR RIBEIRO

Co-orientador: Prof. Dr. ANTONIO NATAL GONÇALVES

RESUMO

Plântulas obtidas a partir de germinação de sementes *in vitro* da bromélia *Aechmea blanchetiana* foram cultivadas em meio líquido para o estudo do crescimento em diferentes concentrações de nitrogênio (7,5; 15; 30; 60 e 120 mM.L⁻¹), fósforo (0,15; 0,30; 0,60; 1,25 e 2,50 mM.L⁻¹), potássio (2,5; 5; 10; 20 e 40 mM.L⁻¹) e cálcio (1,5; 3; 4,5; 6 e 12 mM.L⁻¹). As plântulas foram cultivadas sob 93 μmol.m⁻².s⁻¹ de radiação fotossinteticamente ativa, sob fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C ± 1, durante 120 dias e subcultivos a cada 30 dias. As concentrações dos nutrientes foram formuladas com base no meio MS e foram subcultivadas a cada 30 dias, totalizando 4 meses de cultivo. Para observar tão somente a ação dos nutrientes no crescimento, não foram adicionados reguladores de crescimento ao meio. A concentração 7,5 mM.L⁻¹ de nitrogênio no meio MS modificado foi o nível ótimo para a produção de massa fresca e seca no cultivo *in vitro* das plântulas, enquanto que as concentrações maiores mostraram-se excessivas. A concentração 2,5 mM.L⁻¹ de fósforo no meio foi o valor que

proporcionou a maior produção de massa seca e fresca das plântulas. A concentração ótima de potássio no meio MS modificado foi de $32,6 \text{ mM.L}^{-1}$, em média, estimada a partir de massas dos diferentes órgãos das plântulas de *A. blanchetiana*, sendo que as maiores concentrações mostraram os efeitos do excesso de potássio. O cálcio promoveu o maior incremento na produção de massa fresca e seca na concentração $9,38 \text{ mM.L}^{-1}$, em média, e foi excessivo acima desse valor, sendo que o cloro, proveniente de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, foi excessivo ao crescimento da massa fresca e seca na concentração $3,35 \text{ mM.L}^{-1}$, em média.

**NITROGEN, PHOSPHORUS, POTASSIUM, CALCIUM AND THE IN VITRO
GROWTH OF *Aechmea blanchetiana* (BAKER) L.B. SMITH PLANTLETS**

Author: SHOEY KANASHIRO

Advisor: Prof. Dr. ROBERVAL DE CÁSSIA SALVADOR RIBEIRO

Co-advisor: Prof. Dr. ANTONIO NATAL GONÇALVES

SUMMARY

Seedlings of the bromeliad *Aechmea blanchetiana* were axenically cultured in liquid MS basal medium without growth regulators but supplemented with different concentrations of nitrogen (7.5; 15; 30; 60 or 120 mM.L⁻¹), phosphorus (0.15; 0.30; 0.60; 1.25 or 2.50 mM.L⁻¹), potassium (2.5; 5; 10; 20 or 40 mM.L⁻¹) or calcium (1.5; 3; 4.5; 6 or 12 mM.L⁻¹). The resulting plantlets were cultured under 93 μmol.m⁻².s⁻¹ illumination, 12 hour photoperiod regime and 25°C ± 1 for 120 days with subcultures to fresh identical media every 30 days. The highest fresh weight for plantlets cultured in medium supplemented with nitrogen was 7.5 mM.L⁻¹, whereas increased concentrations were shown to be excessive. For phosphorus (phosphate), 2.5 mM.L⁻¹ produced the highest fresh and dry mass, while the optimal concentrations of potassium was found to be 32.6 mM.L⁻¹ and higher concentrations were shown to be toxic. Calcium sustained the highest fresh and dry mass increase under 9.38 mM.L⁻¹ but were excessive above

that figure, especially due to the toxicity of chlorine from $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ over the concentration of 3.35 mM.L^{-1} .

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, as bromélias crescem em profusão, especialmente na Mata Atlântica. O cultivo de algumas espécies ganhou impulso nos últimos tempos entre os produtores rurais, sendo hoje uma atividade economicamente rentável e uma promissora opção no campo da floricultura.

O valor do mercado da floricultura brasileira em 2002 foi estimado por Kiyuna et al. (2004) em cerca de R\$ 500 milhões (produtor), R\$ 750 milhões (atacado) e R\$ 1,5 bilhão (varejo), com consumo per capita de R\$ 8,50, sendo que o Estado de São Paulo foi o responsável por 70% desse mercado. Em relação ao mercado internacional, Matsunaga (1995) ressaltou que o Brasil tem potencial para ampliar as exportações com a produção de plantas tropicais como helicônia, antúrio, orquídea e bromélia.

No que se refere à utilização das bromeliáceas no paisagismo, Melo (1996), arquiteto-paisagista, cita que a partir do fenômeno “Burle Max” o traçado dos projetos paisagísticos no Brasil, bem como as plantas neles especificadas, alterou-se profundamente e assim se consolidou. A formalidade e a simetria do estilo francês, no qual eram utilizados arbustos de clima temperado, coníferas, roseiras, grande variedade de flores anuais e espécies afins, cedeu definitivamente terreno para a sinuosidade de traçados e para o aspecto naturalista herdados dos jardins ingleses, cujas características foram realçadas em nosso país pela biodiversidade tropical. Espécies pertencentes às famílias Araceae, Musaceae, Palmae, Bromeliaceae e outras invadiram nossos jardins, parques e praças, definindo volumes, dando ritmo às composições paisagísticas e acrescentando uma gama infinita de novas texturas e cores. Usadas como forrações, utilizadas como arranjos, funcionando como adornos vivos aplicados a outros elementos

vegetais inseridos na paisagem, fixadas às rochas ou até mesmo em esculturas, as bromélias conquistaram definitivamente seu lugar, auxiliando o paisagista na recriação de ecossistemas nas áreas verdes projetadas.

Melo (1996) considerou ainda que as bromélias tenderiam a se popularizar cada vez mais, e que, de certa forma, poderiam acarretar uma maior pressão sobre as populações nativas. Porém, a crescente preocupação preservacionista, aliada às ações específicas para a conscientização da necessidade da proteção das espécies e seus ecossistemas, tem motivado empresários do setor da floricultura a investirem neste mercado em expansão. Produtores rurais especializados iniciaram suas atividades e já pode-se adquirir em nosso país, plantas de qualidade produzidas por meio de micropropagação. Segundo o autor, em breve, a demanda crescente imposta pelos paisagistas deverá ser plenamente atendida e a nossa paisagem urbana poderá ser enriquecida infinitamente pela abundância de opções e a correta utilização das bromélias.

Assim, em função da demanda cada vez mais crescente, deve-se considerar que o cultivo de bromeliáceas em grande escala pelos horticultores pode trazer vários benefícios, como a redução do custo de produção e preço final e principalmente a diminuição do extrativismo predatório de nossas bromélias nativas, permitindo a conservação destas no seu ambiente natural.

A produção de bromélias para fins comerciais é recente em nosso meio agrícola, carecendo de informações técnicas que possam promover o aumento da produtividade e qualidade. O cultivo comercial de *Alcantarea imperialis*, *Neoregelia marmorata* e *Aechmea blanchetiana* é ainda incipiente e as espécies comercializadas são obtidas principalmente através do extrativismo predatório.

Dessa forma, considerando-se os fatores acima mencionados, o presente trabalho teve como objetivo principal avaliar os efeitos de diferentes concentrações de nitrogênio, fósforo, potássio e cálcio no crescimento de plântulas de *A. blanchetiana* cultivadas *in vitro*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A família Bromeliaceae

A família Bromeliaceae apresenta aproximadamente 2.500 espécies, cuja ocorrência limita-se ao continente americano, estendendo-se desde o paralelo 38° N, nos Estados de Virgínia e Texas nos EUA, norte do México e Baixa Califórnia, até 44° S, no Chile e 44° 46' S na Argentina, com exceção apenas da espécie *Pitcairnia feliciana* que é originária da África (Reitz, 1983).

No Brasil, a região leste é a que apresenta maior ocorrência de bromélias, sendo que 81,8% ocorrem na Mata Atlântica, segundo Costa & Fontoura (1989).

Embora apresente um grande número de espécies com potencial ornamental, são aproveitadas economicamente pelos horticultores apenas as espécies *Guzmania minor*, *G. ligulata* e seus híbridos, *Neoregelia carolinae*, *Tillandsia lindenii*, *Vriesea splendens* e algumas *Vriesea* híbridas, destacando-se a *Aechmea fasciata*, conforme Zimmer (1985). Na cidade de São Paulo, *A. fasciata* é a bromélia mais comercializada, seguida por *Guzmania* (var. 'compacta', 'empire', 'magenta', 'cherry' e 'denise'), *Vriesea* sp. var. 'charlotte', *V. splendens* e *N. carolinae* como plantas de vaso para ambientes de interiores, e *Alcantarea imperialis* como espécie própria para utilização em paisagismo (Kanashiro, 1999). Segundo Andrade & Demattê (1999), as mais diversas bromélias são cultivadas, principalmente, dos gêneros *Aechmea*, *Neoregelia* e *Vriesea* nas regiões sul e sudeste do Brasil, sendo que no Estado de Rio de Janeiro, a tendência é o cultivo de plantas de grande porte, como *A. imperialis*, *N. marmorata*, *A. blanchetiana*, *V.*

fosteriana e *V. hieroglyphica*, para uso em paisagismo. As bromélias mais utilizadas pelos paisagistas, segundo Vitari (1994), são *A. regina*, *A. blanchetiana*, *N. compacta* e *A. imperialis*.

2.2 A espécie *Aechmea blanchetiana*

Segundo Leme & Marigo (1993), *A. blanchetiana* é mais comum nas restingas por ser heliófila, onde forma grandes touceiras, com folhagem de coloração amarelada, podendo invadir a mata onde vive como epífita, quando então perde a coloração amarelo-ouro que antes a caracterizava. Lorenzi & Souza (1998) e Lorenzi & Mello-Filho (2001) afirmaram que a *A. blanchetiana* é cultivada isoladamente ou em grupos formando maciços densos, a pleno sol ou a meia-sombra, em canteiros ricos em matéria orgânica mantidos umedecidos, podendo eventualmente ser cultivada em vasos. São plantas herbáceas epífitas, perenes, rizomatosas, robustas, de 60 a 90 cm de comprimento, de folhagem e florescimento decorativo e nativas do Brasil. Apresentam folhas longas, rijas, laminares, verde-claras, côncavas, basais e em roseta, sem espinhos nas margens, conforme pode ser observado na Figura 1.



Figura 1 - Espécimes da bromélia *Aechmea blanchetiana* cultivadas na Seção de Ornamentais do Instituto de Botânica, São Paulo, SP

2.3 Propagação de bromélias

A propagação pode ser tanto seminífera quanto vegetativa. Segundo Reitz (1983), o processo de autofecundação parece ser raro em bromeliáceas, uma vez que a maioria das flores estudadas é protândrica. A polinização é feita, principalmente, por morcegos, colibris, borboletas, além de insetos como abelhas e mamangavas. Em ambientes fechados, a polinização artificial deve ser realizada de preferência usando indivíduos diferentes, pois a auto-esterilidade ocorre com frequência. A disseminação das sementes contidas em frutos tipo baga (*A. blanchetiana*) é realizada por animais (zoocoria), ao passo que as sementes das cápsulas são disseminadas pelo vento (anemocoria).

Segundo Mercier & Kerbaux (1997), as bromélias ornamentais estão adquirindo importância econômica em muitos países. A cultura *in vitro* de plantas tem sido considerada uma grande promessa para agricultura. A utilização comercial da micropropagação é uma realidade em diversos países do mundo com destaque para a Europa Ocidental e os Estados Unidos, concentrando-se principalmente na limpeza clonal e na multiplicação de espécies ornamentais herbáceas e arbustivas. Entre as inúmeras vantagens da técnica, destacam-se a manutenção do genótipo e do fenótipo de híbridos, estudo de mutações ou variantes genéticas selecionadas e o excelente estado fitossanitário das plantas obtidas (Giacometti, 1990).

No caso da bromeliaceae mais estudada na cultura *in vitro*, o abacaxizeiro *Ananas comosus*, Pasqual et al. (1998) afirmaram que o meio nutritivo mais utilizado para micropropagação é o meio MS, suplementado com combinações de auxinas e citocininas, sendo os explantes mais utilizados as gemas laterais e apicais de coroas e filhotes.

O desenvolvimento de métodos de micropropagação permitiu exploração eficiente de várias espécies ornamentais, visto que a multiplicação vegetativa natural pode ser considerada muito lenta, produzindo poucos brotos por planta. Em bromélias ornamentais, a produção de plântulas tem sido feita com sucesso, por meio de

aproveitamento de gemas apicais de brotos, gemas axilares e folhas removidas de plantas adultas. Pode também ser realizado, através de sementes, que pode ser considerado de grande importância na conservação de germoplasmas de bromélias ameaçadas de extinção, assegurando a variabilidade natural dessas espécies. Porções basais das folhas removidas de plântulas cultivadas a partir de sementes alcançaram um grande número de gemas adventícias. As plântulas assim produzidas não apresentaram alterações na sua morfologia ou nos padrões de pigmentação. Além disso, não apresentaram dificuldades na aclimatização, quando transferidas para vasos (Mercier & Kerbauy, 1997).

Mercier & Nievola (2003) descreveram algumas estratégias de multiplicação *in vitro* de bromélias, já que os métodos naturais não são capazes de fornecer um grande número de plantas em curto espaço de tempo. Consideraram que a germinação de semente *in vitro* é uma ótima opção para se conseguir plantas assépticas e a partir delas se iniciar a cultura de explantes, como folhas, segmentos nodais, entre outras. Nos segmentos nodais, cada gema encontrada na axila foliar origina um novo eixo caulinar; já o cultivo de folhas inteiras ou de suas bases em meios contendo reguladores de crescimento, geralmente benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalacético (ANA), dá origem a um conjunto de gemas adventícias, as quais se desenvolvem formando novos eixos caulinares. Após o enraizamento em meio indutor apropriado, as novas plantas podem ser transferidas para a casa de vegetação ou podem servir como doadoras de novas folhas, continuando o processo de propagação *in vitro*. A uniformidade genética das plantas regeneradas depende do tipo e da concentração de reguladores de crescimento empregados, além do explante utilizado, isto é, quanto mais indiferenciado for o tecido doador de explante, menor será a produção de variantes somaclonais.

Outro aspecto a ser considerado é o da conservação, como foi ressaltado por Andrade & Demattê (1999). Atualmente, o uso ornamental de bromélias, iniciado com o paisagista Burle Marx, levou a outra forma de agressão às florestas nativas: grandes quantidades de plantas são coletadas para serem comercializadas no mercado interno e para exportação a colecionadores e produtores europeus e norte-americanos. A conscientização quanto à conservação da natureza, aliada à produção comercial de

bromélias poderia amenizar essa situação. Ressaltaram, também, que a crescente urbanização e os investimentos imobiliários destruíram extensas áreas de vegetação nativa e, com elas, muitas espécies de bromélias. Os mesmos autores observaram que no Estado de Rio de Janeiro há um claro direcionamento para o cultivo comercial de bromélias heliófilas nativas, usadas no paisagismo, como as dos gêneros *Alcantarea*, *Neoregelia* e *Aechmea*, cuja ação foi considerada muito importante, pois supre o crescente mercado para o paisagismo, abastecido por mateiros. Das espécies cultivadas, encontraram algumas em perigo de extinção, em vista do extrativismo, como *A. imperialis* e *A. blanchetiana*. Propuseram, ainda, a inclusão de novas espécies para cultivo a fim de aumentar a diversidade de espécies produzidas, e incluir aquelas em perigo de extinção, visando a sua propagação, abrindo novas alternativas no mercado de plantas ornamentais.

2.4 Nutrição mineral na família Bromeliaceae

As deficiências e os excessos nutricionais refletem-se principalmente nas folhas, que, por isso, são a parte da planta mais indicada como amostra para determinação de teores de nutrientes (Paula et al.,1998). Segundo Benzing (1990) e Benzing (2000), análises foliares indicaram que as bromeliáceas acumularam os 6 macronutrientes e nove micronutrientes normalmente encontrados nas plantas em geral na proporção usual, conforme a Tabela 1. Absorveram, também, íons adicionais que realizaram as mesmas funções nas plantas em geral, além de outras em diferentes órgãos, como o selênio que pode agir como enxofre repelindo os herbívoros e o silício que em gramíneas, diminuiu a palatabilidade aos vertebrados, endurecendo os ramos do *Equisetum*. Nas bromélias, os grânulos de silício presentes na epiderme das folhas contribuíram para refletir a luz excessiva do sol. Ainda, segundo Benzing (2000), as plantas eutróficas apresentaram várias características como o teor crítico de nitrogênio e fósforo nas folhas que tendeu a ser elevado. conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Teor de nutrientes nas folhas de uma planta tipicamente eutrófica (cereal) e *Tillandsia paucifolia* em cipestre com estresse de nutrientes e bem nutrido em Florida

nutriente	Requerimento mínimo de uma planta eutrófica (cereal)		<i>T. paucifolia</i> em cipestre com estresse de nutrientes		<i>T. paucifolia</i> em cipestre relativamente vigoroso	
	(g.kg ⁻¹)	(mg.kg ⁻¹)	(g.kg ⁻¹)	(mg.kg ⁻¹)	(g.kg ⁻¹)	(mg.kg ⁻¹)
N	15,0	-	3,6	-	3,5	-
P	1,0	-	0,7	-	0,9	-
K	10,0	-	3,3	-	5,4	-
Ca	5,0	-	6,6	-	9,8	-
Mg	2,0	-	1,7	-	2,3	-
S	1,0	-	0,5	-	1,0	-
Mn	-	50,0	-	27,5	-	22,5
Fe	-	100,0	-	154,8	-	195,8
B	-	20,0	-	15,2	-	18,3
Cl	-	100,0	-	-	-	-
Cu	-	6,0	-	9,2	-	10
Zn	-	20,0	-	35,5	-	41,8
Mo	-	0,1	-	1,43	-	1,6

Segundo Benzing (1990), os estudiosos de nutrição de plantas têm dispensado pouca atenção às epífitas, concentrando-se em plantas com sistema radicular crescendo no solo. Conseqüentemente, estudos sobre ciclagem de minerais em florestas tropicais tem raramente levado em consideração o potencial de impacto das plantas epífitas na vegetação arbórea. Epífitas são consideradas plantas que não só utilizam uma diversidade de fontes de nutrientes, como também são importantes na nutrição e economia de energia em muitas florestas tropicais. A habilidade das plantas em assegurar nutrientes suficientes depende do suprimento e da demanda, cujos parâmetros não são facilmente medidos, nem mesmo uniformes para todas as espécies, até mesmo entre os membros da mesma comunidade. Diversas plantas epífitas em uma única copa de árvore, por exemplo, utilizam diferentes fontes de nutrientes e empregam elementos chaves com características de eficiência mineral. A análise química das plantas como um índice de suficiência nutricional, eficiência de uso mineral e fertilidade do ambiente é menos segura para comparações entre as espécies do que dentro das espécies. Por exemplo, bromélias robustas, cujo vigor resultou da abundância de recursos nas cisternas

ou no solo, podem concentrar nitrogênio nas folhas, menor que as bromélias oligotróficas e atmosféricas, como as espécies de *Tillandsia* de crescimento lento, conforme Tabela 2.

Tabela 2. Composição química das folhas de Bromeliaceae em função das três formas de nutrição

hábito	espécie	N	P	K	Ca	Mg	Na
		(g.kg ⁻¹)				(mg.kg ⁻¹)	
terrestre	<i>Bromelia karatas</i>	6,7	0,7	24,8	11,9	1,4	640
terrestre	<i>Pitcairnia bromelifolia</i>	13,7	0,8	10,2	10,6	1,4	360
epífita com cisterna	<i>Catopsis floribunda</i>	13,6	0,9	15,9	11,5	1,8	3.200
epífita com cisterna	<i>Aechmea nudicaulis</i>	0,6	0,6	19,4	3,8	2,0	1.800
epífita com cisterna	<i>Guzmania lingulata</i>	8,8	0,6	15,9	4,4	2,5	1.900
atmosférico	<i>Tillandsia balbisiana</i>	3,6	0,4	3,4	8,3	1,4	4.100
atmosférico	<i>Tillandsia usneoides</i>	8,2	0,1	5,0	6,7	2,9	5.500

Endres et al. (2002) mostraram que há evidência de que o nível hormonal de *Vriesea gigantea* reagiu muito mais rapidamente ao status do nitrogênio no ambiente que *Ananas comosus*, refletindo um mecanismo mais eficiente de assimilação de N em *V. gigantea*. Esse resultado sugeriu um mecanismo eficiente de absorção de nutrientes, quando esses estão disponíveis no ambiente das epífitas. Por outro lado, *A. comosus*, bromélia terrestre, não necessitou reagir tão rapidamente ao status do nitrogênio no ambiente, porque o solo foi mais estável como fonte de nutrientes.

Em espécies de bromeliáceas cultivadas comercialmente, Mills & Jones (1996) e Jones et al. (1991) mostraram que *A. fasciata* produzida em estufas e *Ananas comosus* conduzida em condições de campo apresentaram os teores de nutrientes nas folhas apresentados na Tabela 3. A amostragem das folhas de *A. fasciata* foi feita em 15 folhas maduras em crescimento, de plantas adultas na fase vegetativa, enquanto que em *A. comosus* foram retiradas 20 folhas em crescimento, sem a base do limbo aclorofilado, no início do florescimento. Malavolta (1981)¹, citado por Paula et al. (1998), também,

¹ MALAVOLTA, E. **Nutrição e adubação do abacaxizeiro**. Piracicaba: ESALQ, 1981. Mimeografado.

determinou os teores de elementos adequados para o abacaxizeiro analisados nas folhas D, inteira, aos 4 meses de idade, conforme a Tabela 3.

Tabela 3. Teores de nutrientes determinadas nas folhas em crescimento de *A. fasciata* e *A. comosus* cultivadas comercialmente em estufas e campo de produção, respectivamente

nutriente	<i>Aechmea fasciata</i>		<i>Ananas comosus</i>	
	Mills & Jones (1996) e Jones et al. (1991)	Mills & Jones (1996) e Jones et al. (1991)	Mills & Jones (1996) e Jones et al. (1991)	Malavolta (1981)
macro (g.kg ⁻¹)	N	12,5 - 20,0	15 - 25	15 - 17
	P	1,6 - 7,0	1 - 3	2,3 - 2,5
	K	7,9 - 30,0	30 - 65	39 - 57
	Ca	5,0 - 19,1	4 - 12	5 - 7
	Mg	4,0 - 8,0	3 - 6	1,8 - 2,0
	S	1,6 - 2,5	1 - 3	-
micro (mg.kg ⁻¹)	Fe	35 - 300	75 - 200	600 - 1.000
	Mn	50 - 300	50 - 400	90 - 100
	B	25 - 58	30 - 75	-
	Cu	6 - 25	10 - 20	10 - 20
	Zn	25 - 200	20 - 120	17 - 39
	Mo	0,2	-	-
	Na	3.033	40 - 150	40 - 150

Poole & Conover (1976) mostraram que as aplicações de nitrogênio (50, 100, 150 mg de N/vaso/mês), fósforo (25, 50, 75 mg de P/vaso/mês) e potássio (50, 100, 150 mg de K/vaso/mês) na bromélia *A. fasciata*, influenciou na formação de bandas e na intensidade da coloração das folhas. O aumento da dose de nitrogênio promoveu o aumento da largura da banda e coloração das folhas, enquanto o fósforo e potássio não mostraram efeitos significativos na largura da banda. O potássio intensificou a coloração das folhas, enquanto que fósforo não influenciou a coloração das folhas. Com relação à altura da planta, a aplicação de doses crescentes de nitrogênio promoveu seu crescimento, enquanto que o potássio não mostrou diferença significativa.

Dalldorf (1993) mostrou que abacaxizeiro tratado com 600 e 900 kg de N/ha, em diferentes densidades de plantas, apresentou um aumento significativo no teor de nitrogênio em todas as densidades testadas, porém não houve influência no comprimento, massa seca e largura da folha D.

Selemat & Ramlah (1993) estudaram a resposta à aplicação de nitrogênio ($0 \leq N \leq 353$ kg de N/ha), fósforo ($0 \leq P \leq 12$ kg de P_2O_5 /ha) e potássio ($0 \leq K \leq 367,5$ kg de K_2O /ha) em abacaxizeiro cv. 'Gandul'. O aumento da dose de nitrogênio promoveu o crescimento em altura da planta e peso seco da folha D, enquanto que o incremento da dose de fósforo, mostrou aumento na altura da planta, peso seco da folha D e número de folhas, porém com o aumento da dose de potássio a altura da planta decresceu e não teve efeito na massa seca da folha, mostrando, ainda, que não houve interações entre os nutrientes estudados.

Grossi (2000) cultivou *in vitro* a bromélia *A. nudicaulis* nas concentrações $1,78$ $mM.L^{-1}$, $7,5$ $mM.L^{-1}$ e 30 $mM.L^{-1}$ de N, onde a concentração de $1,78$ $mM.L^{-1}$ favoreceu o crescimento do sistema radicular em detrimento do crescimento da parte aérea e a concentração 30 $mM.L^{-1}$ foi excessiva, não favorecendo o desenvolvimento das plântulas em relação à concentração intermediária de $7,5$ $mM.L^{-1}$. O tamanho da parte aérea foi a variável mais afetada pela concentração de nitrogênio no meio de cultura ao longo dos cinco meses de cultivo, mas, no quinto mês, com exceção da produção de matéria seca, todas as demais variáveis foram afetadas significativamente, indicando que a partir desse período a concentração de $1,78$ $mM.L^{-1}$ de N passou a ser crítica para o desenvolvimento das plântulas. A concentração intermediária de nitrogênio no meio de cultura ($7,5$ $mM.L^{-1}$) permitiu um crescimento mais equilibrado das plântulas, apresentando menor amplitude de variação nas taxas de crescimento em geral e na relação parte aérea:raiz, ao longo dos cinco meses de cultivo.

Souza et al. (2002) estudaram a adubação potássica em abacaxizeiro nas doses de 0, 4, 8, 12, 16 e 20 g de K_2O /planta, aplicados sob a forma de cloreto de potássio. Esses autores mostraram que a adubação potássica elevou o teor de potássio na folha D do abacaxizeiro, porém, reduziu, as concentrações de cálcio e magnésio, como consequência da competição no processo de absorção desses nutrientes. Os resultados evidenciaram, também, que as doses crescentes de potássio utilizadas na adubação, não interferiram na absorção/acúmulo de macronutrientes nitrogênio e fósforo e aos micronutrientes manganês, ferro, cobre e zinco. Conforme o esperado, as doses crescentes de potássio influenciaram no aumento de teor potássio nas folhas, permitindo

alcançar nas doses de 16 e 20 g de K_2O /planta, valores superiores a $28,0 \text{ g.kg}^{-1}$. O incremento das doses de potássio mostrou tendência ao decréscimo do teor de fósforo e aumento do teor de manganês e ferro nas folhas D.

A produção de massa fresca no cultivo de brotos de abacaxi em bioreatores de imersão temporária não mostrou efeito significativo, conforme as diferentes diluições dos sais inorgânicos presentes no meio MS ($0 \leq x \leq 200\%$), segundo os estudos conduzidos por Pérez et al. 2004. Os resultados mostraram, ainda, que os brotos utilizados continham uma grande quantidade de sais inorgânicos endógenos, o que permitiu o aumento da massa seca mesmo no meio sem nutrientes. Os brotos mostraram, também, tolerância ao aumento da pressão osmótica do meio, pois a produção de massa fresca permaneceu inalterada, mesmo com nutriente a 200% do meio MS original.

O efeito de doses crescentes de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700 \text{ kg de N/ha}$), aplicadas na cultura de abacaxizeiro, causou um incremento linear nos teores de nitrogênio e cálcio, e decréscimo linear nos teores de fósforo e potássio determinadas nas folhas D, enquanto que o teor de magnésio não foi significativo. Já, as doses crescentes de fósforo ($0 \leq P \leq 320 \text{ kg de } P_2O_5/\text{ha}$) causaram um incremento linear somente no teor de potássio presente nas folhas D, enquanto que o teor de outros macronutrientes não foram significativos. O efeito de doses crescentes de potássio ($0 \leq K \leq 700 \text{ kg de } K_2O/\text{ha}$) promoveu um incremento linear nos teores de nitrogênio, potássio, cálcio e magnésio determinadas nas folhas D, enquanto que o teor de fósforo não foi significativo. Com relação às doses crescentes de nitrogênio, fósforo e potássio, os micronutrientes não mostraram efeitos significativos, com exceção do teor de manganês nas folhas D, que cresceu linearmente com o aumento da dose de nitrogênio e do teor de cobre, que decresceu linearmente com a variação da dose de potássio (Spironello, 2004).

2.5 Nutrição mineral *in vitro*

2.5.1 Meio de cultura e nutrientes minerais

O suprimento de minerais no meio de cultura é uma parte essencial no sistema de cultura de tecido de plantas. Atualmente, os meios utilizados estão em grande parte baseado nas modificações empíricas de algumas formulações básicas. As exigências consideradas ideais variam amplamente entre os genótipos das plantas e sistemas de cultura. Há uma boa evidência de que a diferença de gradiente de concentração entre o meio e o tecido do explante tem a difusão como forma de absorção de minerais pelas plântulas cultivadas *in vitro*. A concentração dos elementos nos tecidos é freqüentemente proporcional à concentração inicial do meio de cultura. Porém, o teor de nutrientes nos tecidos pode ser mantido, embora os nutrientes do meio de cultura sofram depleção progressiva. Uma possível explicação é que a depleção de minerais no meio é equilibrada pela remoção de água, assim mantendo um gradiente de concentração. Um efeito que confunde o estudo de nutrição das plantas é a ocorrência concomitante de crescimento de planta e absorção de minerais. É difícil determinar a causa e o efeito. Existem algumas indicações de que a parada no crescimento pode ser precedida por uma redução na absorção. Uma quantidade total maior de minerais é absorvido do meio, assim como aumento de biomassa das plantas (Williams, 1991).

Gribble et al. (2002) mostraram que apesar da importância da nutrição mineral no crescimento de plântulas *in vitro*, poucos estudos abordaram a absorção ou a otimização dos meios usados na cultura *in vitro*. Como as plântulas *in vitro* crescem em condições anormais e podem não ter raízes, elas podem usar diferentes mecanismos de absorção mineral do que plantas crescendo em condições *in vivo*. Para examinar essa possibilidade, plântulas de *Gypsophila paniculata* foram cultivadas em meios de cultura nos quais se modificaram as concentrações de potássio ou cálcio. A análise química mostrou uma correlação linear entre a concentração de potássio ou cálcio no meio de

cultura e o tecido das plântulas. A forte correlação entre a concentração do meio e teor de nutrientes na plântula cultivada *in vitro* estava provavelmente relacionada à ausência de sistema radicular, sugerindo que a absorção é por difusão passiva. Entretanto, interações ocorreram entre a absorção de potássio, cálcio e magnésio, sugerindo que outros mecanismos provavelmente estão envolvidos na regulação da concentração mineral nos tecidos. O estudo, também, mostrou que a concentração crítica do mineral pode ser estimada usando sistema cultura de tecido, relacionando a concentração de potássio e cálcio *in vitro* com os dados da espécie em condições *in vivo*.

Segundo Ramage & Williams (2002) poucos estudos têm sido conduzidos para melhor esclarecer os efeitos da nutrição mineral no desenvolvimento de órgãos (brotos, raízes e flores) e toda a forma e estrutura da planta (morfogênese). É surpreendente, pois os minerais são os principais componentes dos meios de cultura de tecido com uma combinação particular para cada espécie, usualmente determinado por manipulação empírica de uma ou mais combinações de formulações publicadas. Frequentemente somente um tipo de meio é usado durante o cultivo, embora essa formulação possa não ser ótima para os diferentes estágios do crescimento e desenvolvimento do explante. Os mesmos autores concluíram que os minerais parecem exercer um importante papel na regulação da morfogênese de plantas e não apenas no crescimento. O contínuo fornecimento, absorção, transporte e metabolismo dos diferentes minerais parece variar entre os diferentes estágios de iniciação dos órgãos e do tecido meristemático e de crescimento. O balanço nutricional do nitrogênio, fósforo e cálcio é essencial para a morfogênese e o crescimento, enquanto íons como potássio, magnésio e enxofre parecem exercer papel de suporte. É visível a importância do estímulo de alguns micronutrientes, havendo uma clara necessidade de explorar seu papel morfogênico com mais detalhe. Para o conhecimento final do papel dos minerais e outros fatores na regulação do padrão do desenvolvimento e subsequente crescimento é necessário encontrar meios mais precisos para a determinação de quando o embrião e a indução do meristema ocorrem. O crescimento do uso de ferramentas da genética molecular para entendimento da inter-relação entre os genes durante o desenvolvimento das plantas está avançando rapidamente o nosso conhecimento desses processos.

Segundo Williams (1991), a absorção de nutrientes minerais *in vitro* foi afetada por fatores como a composição do meio de cultura, composição do tecido da planta e o ambiente de cultivo. Foi observado um padrão geral de absorção similar às plantas cultivadas *in vivo*, com exceção de cálcio, cujo teor absorvido foi menor *in vitro*. Considerou a definição desses fatores como o primeiro passo para o desenvolvimento de um modelo para estimar a composição de meios de cultura satisfatórios, baseada na análise de tecidos de planta com crescimento *in vivo*.

Segundo Monteiro et al. (2000), o sistema de cultura de tecido depende do equilíbrio de uma série de fatores como os reguladores de crescimento, luz, temperatura, pH e nutrientes, entre outros. O nutriente é responsável por funções específicas no metabolismo, como constituintes de proteínas, aminoácidos, características estruturais e também das reações enzimáticas, potencial osmótico, entre outras. A deficiência de minerais em plantas pode causar desordens metabólicas que são manifestadas como mudanças bioquímicas, fisiológicas e morfológicas de acordo com o nutriente e nível de deficiência. Assim, os autores trabalhando com *Passiflora edulis* fizeram diversas modificações na composição inorgânica do meio MS de acordo com deficiência mineral, principalmente do ferro e cálcio e possível fitotoxicidade do cloro, cuja concentrações do novo meio foi baseado na composição mineral de folhas de plantas jovens e sadias.

Segundo Amiri (2000), o fator limitante para a máxima absorção e crescimento ótimo foi que os minerais não estavam adequadamente disponíveis no meio de cultura. Com baixa disponibilidade de minerais, a depleção ocorreu rapidamente e a absorção e crescimento ficaram prejudicados. Os nutrientes minerais determinaram o crescimento e o desenvolvimento. Para testar a hipótese de que absorção mineral foi proporcional à concentração inicial dos minerais no meio, esses autores estudaram taxa de difusão dos minerais nos explantes de banana (*Musa acuminata* var. Dwarf Cavendish) *in vitro* adicionando ao meio MS os minerais inorgânicos P, S, K, Ca Mg e Na, nas concentrações 0 MS; 0,2 MS; 1 MS e 2 MS. Os resultados mostraram que o crescimento e a taxa de multiplicação eram associados à taxa de disponibilidade mineral e absorção. O crescimento dos explantes de banana foi relacionado à taxa de absorção mineral durante o cultivo, especialmente no primeiro mês. A absorção mineral pelos explantes

foi proporcional à disponibilidade dos nutrientes no meio de cultura. A difusão foi o processo dominante na disponibilidade mineral *in vitro*. Baixa taxa de difusão de minerais no meio solidificado com ágar foi a principal razão para a baixa absorção de nutrientes e aparecimento de sintomas de deficiência nos explantes *in vitro*.

Devido ao grande número de meios de cultura *in vitro* usado na micropropagação, Terrer (2001) propôs um método para otimizar e sistematizar a concentração de micronutrientes a ser usada em um determinado meio de cultura. Consistiu em formular meios com teores de macronutrientes determinados nas folhas coletadas no período de crescimento ativo. A multiplicação de seis cultivares de porta-enxerto de amendoeira e uma de ameixeira foi comparada em meio específico formulado a partir do teor de macronutrientes das folhas e os macronutrientes do meio MS, sendo que todas as formulações continham micronutrientes do meio MS. Os resultados sugeriram claramente que a formulação específica de macronutrientes influenciou positivamente a multiplicação dos diferentes porta-enxertos.

O crescimento de plantas, órgãos, tecidos e células *in vitro* depende do desenvolvimento de meios de cultura otimizados para a perfeita interação de componentes essenciais como fitorreguladores, fonte de carbono e nutrientes minerais. Os fatores que limitam o crescimento de órgãos ou tecido *in vitro* são similares a aqueles que limitam o crescimento *in vivo* (Amaral, 2003).

Leifert et al. (1995) mostraram que os dados sobre a depleção de nutrientes em meio de cultura superaram, finalmente, o conceito errôneo de que os nutrientes estão disponíveis em quantidade suficientes nas células das plântulas e no meio de cultura, não limitando o crescimento. Esse conceito estava claramente equivocado e os pesquisadores concluíram que certos nutrientes minerais e carboidratos poderiam sofrer depleção, limitando o crescimento *in vitro*, especialmente em sistemas de cultura de tecido comerciais, onde a relação plântula/meio é alta. Assim, os dados disponíveis indicaram que houve uma rápida absorção de alguns nutrientes, especialmente do fosfato, possivelmente alcançando o nível de luxúria. Dependendo da espécie, número de plântulas por frasco e intervalo de subcultivos, os nutrientes poderão alcançar a depleção no meio de cultura, limitando o crescimento. Entretanto, sem os dados do teor e valores

críticos de nutrientes nas plantas, não seria possível determinar o nível que um nutriente em particular alcançaria o seu limite. Portanto, devido à habilidade das plântulas em acumular nutrientes, o teor encontrado no tecido das plântulas deveria, também, ser monitorado para detecção do início da deficiência, ponto em que nutrientes armazenados nos tecidos foram esgotados e a taxa de crescimento estaria iniciando o decréscimo. Somente estudos sistemáticos na taxa de crescimento e concentração de nutrientes no meio e na plântula permitiriam a melhor compreensão das razões das diferentes deficiências nutricionais, tais como a ligação química, precipitação no meio, absorção limitada, depleção do meio e reserva de nutrientes nas plântulas. Tais estudos permitiriam a adoção da estratégia correta para resolver a redução de crescimento causada por deficiência nutricional, bem como permitirá o estudo da competição entre os nutriente e os seus efeitos na taxa de crescimento.

2.5.2. Macronutrientes no meio de cultura

2.5.2.1 Nitrogênio

Sriskandarajah et al. (1990) estudando os efeitos de alguns macronutrientes no desenvolvimento *in vitro* de raízes adventícias em enxerto de cultivares de maçã, mostraram que a redução da concentração de NH_4NO_3 para 1/4 do meio MS, aumentou significativamente o número de raízes das cultivares 'Gala' e 'Royal Gala', enquanto que a cultivar 'Jonagold' apresentou maior número de raízes na concentração zero. Na ausência de NH_4NO_3 no meio MS, o comprimento das raízes aumentou significativamente nas cultivares 'Royal Gala' e 'Jonagold', enquanto que na cultivar 'Gala' a melhor concentração foi 1/4 de NH_4NO_3 do meio MS.

Evans (1993) estudando nove cultivares de batata (*Solanum* spp.) em meio MS nas concentrações 20 mM.L^{-1} , 40 mM.L^{-1} e 60 mM.L^{-1} de N mostrou que os diferentes

genótipos diferiram em suas respostas ao nitrogênio. Com a redução da concentração de nitrogênio no meio MS produziram-se plantas mais compridas com longos internódios e brotos com folhas largas, porém contendo menos clorofila. Não houve mudanças na massa fresca ou no número de nós. A interação entre o genótipo e o nitrogênio foi significativa para o conteúdo de clorofila, comprimento do broto e comprimento dos internódios. O autor sugeriu que as modificações se devem mais ao nitrogênio total do que a mudança da relação amônio:nitrato.

García et al. (1994) estudaram os efeitos de diferentes fontes de nitrogênio como KNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NH_4NO_3 em combinação fatorial nas concentrações 5, 10, 20 e 30 mM.L^{-1} de nitrogênio inorgânico e a sua distribuição em diferentes frações (amoniacal, amínico, amídico e proteico) em plântulas de oliveira. O aumento da concentração das diferentes fontes de nitrogênio resultou em alto teor de N total nos tecidos, sendo moderado com KNO_3 , intermediário com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e máximo com NH_4NO_3 . Além disso, a utilização de amônio aumentou significativamente a fração de N-amínica e N-amoniacal. A incorporação de nitrogênio na forma de N-amídica não foi afetada significativamente por nenhum tratamento e somente a adição de KNO_3 e NH_4NO_3 mostrou aumento significativo na fração N-protéico.

Sarmiento et al. (1994) cultivaram *in vitro*, plântulas de oliveira, cv. Manzanilla, em diferentes meios, contendo KNO_3 , NH_4NO_3 e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, nas concentrações 0, 5, 10 e 20 mM.L^{-1} de nitrogênio. O melhor crescimento *in vitro* foi obtido com NH_4NO_3 nas concentrações 10 e 20 mM.L^{-1} de nitrogênio. O aumento da concentração de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ mostrou decréscimo direto no crescimento em altura, causando danos às plântulas e elevando o teor de enxofre nos tecidos. Em todos os tratamentos houve uma relação direta entre a concentração de nitrogênio no meio e no teor de nitrogênio nos tecidos da plântula; porém, com incrementos menores no KNO_3 e maiores em sais que continham amônio, especialmente NH_4NO_3 . Também, cultivaram em condições de casa de vegetação, a mesma cultivar, em diferentes meios nutritivos, contendo KNO_3 , NH_4NO_3 e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, nas concentrações 0, 2, 3 e 4 mM.L^{-1} de nitrogênio. Em condições de casa de vegetação, todos os tratamentos de nitrogênio aumentaram significativamente o crescimento em altura, quando comparados ao controle sem nitrogênio. Nenhuma

diferença significativa foi observada em resposta às diferentes fontes de nitrogênio, com exceção de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, na maior concentração a 4 mM.L^{-1} de nitrogênio, que mostrou o melhor crescimento em altura.

Sweby et al. (1994) conduziram experimento com brotos de fumo (*Nicotiana tabacum*) que cresceram *in vitro* em N-NO_3^- por 35 dias em meio MS modificado, utilizando-se KNO_3 ou $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ nas concentrações 0, 30, 60 e 120 mM.L^{-1} em combinação fatorial com NaCl nas concentrações 0, 45, 90, 135 e 180 mM.L^{-1} de NaCl. O crescimento dos brotos no tratamento controle foi inibido significativamente quando N-NH_4^+ foi a única fonte de nitrogênio. Na ausência de NaCl e na concentração de 30 mM.L^{-1} de N-NO_3^- , resultou em um aumento significativo no comprimento da maior raiz, número de raízes, massa seca do caule, quando comparadas com 0 mM.L^{-1} de N-NO_3^- . Esses parâmetros não se alteraram significativamente com o aumento da concentração de N-NO_3^- até 60 mM.L^{-1} , porém na concentração 120 mM.L^{-1} de N-NO_3^- inibiu o crescimento. A massa fresca das raízes não foi influenciada pelo aumento da concentração de N-NO_3^- no meio de cultivo.

Para estudar os efeitos de diferentes concentrações de nitrogênio no cultivo *in vitro* e axênico de plântulas de orquídeas obtidas a partir de sementes das espécies de *Dactylorhiza majalis*, *D. incarnata* e *D. praetermissa*, Dijk & Eck (1995b) formularam meios de cultura nas concentrações 0, 1, 2, 3, 6, e 12 mM.L^{-1} de nitrogênio, utilizando-se como fonte de nitrogênio NO_3NH_4 . Assim, *D. incarnata* apresentou um decréscimo na massa fresca com o aumento da concentração de nitrogênio no meio, enquanto que em *D. praetermissa*, a fitomassa cresceu conforme o aumento da concentração de nitrogênio no meio de cultura. Na espécie *D. majalis* a produção de massa fresca não foi significativa com o aumento da concentração. Diferenças significativas foram observadas entre as três espécies de orquídeas, sendo que a produção de *D. incarnata* foi melhor e *D. majalis* apresentou a menor produtividade. *D. praetermissa* ocupou a produtividade intermediária.

Zarrabeitia et al. (1997) mostraram que o meio de cultura contendo baixa concentração de nitrogênio (19 e 23 meq.L^{-1}) produziu ótimo resultado na

micropropagação, ao se analisar o número de nós, comprimento de internódios, conteúdo de clorofila e área foliar de quatro cultivares de *Solanum tuberosum* (batata). Com o decréscimo da concentração de nitrogênio, também cresceu o conteúdo de clorofila em todas as cultivares. O amônio nas menores concentrações não mostrou nenhum efeito na micropropagação. Em todas as cultivares, exceto Baraka, houve um efeito retardado da baixa concentração de nitrogênio no meio, influenciando a tuberação, sendo que nitrogênio na concentração 23 meq.L⁻¹ promoveu o início da tuberação.

Avila et al. (1998) estudando os efeitos de nitrogênio nas concentrações 30 e 60 mM.L⁻¹ e na relação NO₃⁻:NH₄⁺ com 30% e 50% de NH₄⁺ em *Solanum tuberosum*. Na variedade 'Spunta', tanto no meio líquido e sólido, as variáveis crescimento do broto, massa seca, número de nós e teor de nitrogênio foram observadas. O crescimento do broto foi melhor a 30 mM.L⁻¹ de nitrogênio, metade da concentração encontrada no meio MS e na relação com 30% de NH₄⁺, mas não mostrou efeito no número de nós, indicando que a planta apresentou longos internódios. Esse aumento no crescimento foi associado à redução da assimilação de nitrogênio, indicando claramente que a baixa concentração desse nutriente e a reduzida relação de NO₃⁻:NH₄⁺ aumentou a taxa de absorção de carbono, permitindo o aumento de massa seca e o aumento da relação massa seca:N.

Gomes & Shepherd (2000) realizaram estudos *in vitro*, a partir de sementes de *Sinningia allagophylla*, testando a adaptação dessa espécie às condições do cerrado, no meio básico de MS, variando-se as concentrações de KNO₃, nas proporções 1/4 KNO₃, 1/2 KNO₃ e 1 KNO₃, e o de Gamborg et al. (1968) com a composição nutricional em sua concentração total e reduzida pela metade (1/2 B5). Os resultados mostraram que esta espécie do cerrado não respondeu à diminuição da concentração de nitrato e à redução da composição nutricional do meio B5, não afetando o crescimento dos explantes. Dessa forma, os autores encontraram resultados consistentes com o conceito de uma planta bem adaptada em absorver nutrientes de solos ácidos de cerrado, pobres em nutrientes e alto teor de alumínio.

Russowski & Nicoloso (2003) trabalhando com *Pfaffia glomerata*, caracterizaram o efeito da variação isolada da concentração de nitrogênio do meio MS no crescimento de plantas cultivadas *in vitro*. Segmentos nodais de 1,0 cm de comprimento e sem folhas de plântulas já estabelecidas *in vitro*, foram cultivados em 0, 25, 50, 100 e 150% de nitrogênio em relação à concentração padrão do meio de cultura MS. Os demais nutrientes do meio de cultura permaneceram constantes na concentração original do meio de cultura MS. Aos 15 dias após a inoculação, o número de raízes e a porcentagem de enraizamento foram maiores na concentração de nitrogênio equivalente a 50% daquela do meio de cultura MS. Aos 40 dias de cultivo *in vitro*, o crescimento em altura das brotações, número de segmentos nodais, índice de área foliar, número de folhas, massa seca de raízes, da parte aérea e total das plântulas foi superior nas concentrações de nitrogênio e fósforo, em média, próxima a 80% daquela do meio de cultura MS.

Donato et al. (2003) cultivaram seis variedades de cana-de-açúcar (RB 732577, RB 83102, RB 75126, CB 45-3, Caiana e Co 997) *in vitro* em meio nutritivo básico MS com diferentes concentrações de nitrogênio (0; 0,49; 2,46; 4,92; 7,37 e 9,83 mM.L⁻¹), com o objetivo de avaliar a eficiência no processo de assimilação desse elemento. Após 45 dias de cultivo, foram determinados os ganhos de biomassa e os teores de amônio, aminoácidos e açúcares solúveis. A maioria das variedades apresentou ganho de massa seca, exceto a Co 997, que apresentou maior quantidade de nitrogênio incorporado em aminoácidos livres em relação às demais variedades, sugerindo maior eficiência no processo de assimilação. Os teores mais elevados de amônio foram observados nas variedades RB 83102 e RB 75126, quando cultivadas em meio desprovido de nitrogênio, mostrando serem menos eficientes no processo de assimilação, uma vez que apresentaram os menores valores de aminoácidos livres nas mesmas condições de cultivo.

2.5.2.2 Fósforo

Elliott et al. (1993) estabeleceram explantes de ápices de rizoma de *Alstroemeria* 'Parigo Pink' em meio de cultura MS adicionando fósforo na forma de KH_2PO_4 a 0; 0,01; 0,05; 0,25; 1,25 e 2,5 mM.L^{-1} . Explantes cultivados em 1,25 ou 2,5 mM.L^{-1} produziram maior quantidade de brotos e gemas, maior peso fresco de rizoma e brotos que aqueles cultivados com menor concentração de fósforo. O teor de fósforo nos brotos variou de 7 a 12,5 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca nos dois tratamentos com maior concentração de fósforo e cerca de 3 a 8 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca nos tratamentos com menor concentração. A faixa do teor de fósforo nos rizomas foram menores, variando de 7 a 12 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca nos dois tratamentos com maior concentração de fósforo e cerca de 4 a 11 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de massa fresca nos tratamentos com menor concentração, enquanto que a taxa de crescimento relativo da massa fresca de broto nas concentrações 1,25 e 2,5 mM.L^{-1} de fósforo foi cerca de 0,32/semana, mas variou de 0,14 a 0,22 semana⁻¹ nas concentrações menores. A taxa de crescimento relativo da massa fresca de rizoma nos tratamentos 1,25 e 2,5 mM.L^{-1} foi cerca de duas vezes maior do que aquelas observadas em concentrações menores de fósforo. Mostraram, ainda, que os explantes com as duas maiores concentrações de fósforo particionaram uma maior proporção de massa fresca e teor de fósforo para os brotos em detrimento dos rizomas, do que nos tratamentos com menor concentração.

Dijk & Eck (1995b) cultivaram *in vitro* *D. majalis*, *D. praetermissa*, *D. incarnata* e *D. maculata*. Foram testadas duas concentrações de nitrogênio, empregando-se NO_3NH_4 a 0 e 5 mM.L^{-1} de nitrogênio em combinação com KH_2PO_3 nas concentrações 0; 0,5 e 1,0 mM.L^{-1} de fósforo. *D. majalis* mostrou incremento na produção de massa fresca com o aumento da concentração de fósforo, diferente de *D. praetermissa* que diminuiu a produção de fitomassa. A tendência ao aumento linear da produção de massa fresca às altas concentrações de fósforo e nitrogênio no meio foi significativo somente para *D. majalis*, mostrando que a produção desta espécie tende a aumentar quando a concentração de fósforo e nitrogênio é alta em ambos. Diferenças

altamente significativas na produção de massa fresca foram encontradas entre as espécies de orquídeas estudadas, sendo que *D. incarnata* e *D. maculata* apresentaram menores massas frescas que a média, enquanto plântulas de *D. majalis* e *D. praetermissa* apresentaram as maiores fitomassas.

Ilieva & Pavlov (1996) cultivaram células em suspensão de *Lavandula vera* no meio de cultura, contendo 0,62; 1,25; 2,50 e 3,75 mM.L⁻¹ de KH₂PO₄. A concentração 3,75 mM.L⁻¹ mostrou a maior produção de biomassa celular e biossíntese de ácido rosmarínico.

Em *S. allagophylla* foi investigado para determinar os efeitos de diferentes combinações de KH₂PO₄, nas concentrações 0,0; 0,0124; 0,124 e 1,24 mM.L⁻¹, e MgSO₄.7H₂O, nas concentrações 0,0; 0,015; 0,15 e 1,50 mM.L⁻¹, utilizando-se o meio básico de MS. Os resultados mostraram que os melhores resultados de crescimento foram nas maiores concentrações ou na ausência total de KH₂PO₄ e de MgSO₄.7H₂O (Gomes & Shepherd, 2000).

A espécie *P. glomerata* foi cultivada entre 0≤P≤150% de fósforo em relação à concentração padrão do meio de cultura MS. Aos 40 dias de cultivo *in vitro*, o crescimento em altura das brotações, número de segmentos nodais, índice de área foliar, número de folhas, massa seca de raízes, da parte aérea e total da planta foi maior nas proximidades da concentração 80% de fósforo, em média (Russowski & Nicoloso, 2003).

2.5.2.3 Potássio

Os efeitos de potássio no desenvolvimento *in vitro* de raízes adventícias em enxerto de cultivares de maçã mostraram que no experimento em fatorial com e sem NH₄NO₃ e concentrações 0, 1/2 e 1/1 de KNO₃ do meio MS, que o número de raízes por estaca das cultivares 'Gala', 'Royal Gala' e 'Jonagold' cresceu com o aumento da concentração de KNO₃ no meio sem NH₄NO₃ (Sriskandarajah et al., 1990).

Em *G. paniculata* com o aumento da concentração de potássio ($0 \leq K \leq 80 \text{ mM.L}^{-1}$), a massa fresca e seca das plântulas foi influenciada pela concentração de potássio no meio de cultura, resultando no aumento da massa fresca e massa seca até a concentração 10 mM.L^{-1} , após a qual, a produção de matéria declinou. Com relação aos nutrientes, os autores mostraram, ainda, que com o aumento da concentração de potássio, houve um aumento no teor de cálcio e manganês nas plântulas, enquanto que o teor de ferro e potássio decresceram. Não houve alteração no teor de fósforo. Verificaram, também, que com o aumento da concentração de potássio, o menor teor de boro foi encontrado na concentração 80 mM.L^{-1} de potássio e um decréscimo no teor de magnésio e enxofre nas duas maiores concentrações. O menor teor de zinco na plântula foi encontrado na concentração 40 mM.L^{-1} e os maiores valores nas concentrações 2,5 e 5 mM.L^{-1} , com o aumento da concentração de potássio (Gribble et al., 2002).

Dijk & Eck (1995a) estudaram a interação entre potássio e amônio na produção de massa fresca na orquídea calcícola *D. incarnata* que foi cultivada *in vitro* e axenicamente, a partir de sementes. Para tanto, os meios de cultura foram formulados nas concentrações 0, 2, 4, 6 e 8 mM.L^{-1} de NH_4^+ , com adição de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, em combinação com K_2SO_4 nas concentrações 0, 1 e 2 mM.L^{-1} . Os resultados mostraram que potássio não influenciou a produção de fitomassa de *D. incarnata* nas concentrações testadas, bem como não mostrou interação significativa com o amônio.

Liu & Zhong (1996) estudaram o efeito da concentração de potássio na cinética do crescimento das células, metabolismo dos nutrientes e produção de saponinas e polissacarídeos em cultura de células de *Panax ginseng*. A concentração de KNO_3 foi modificada, variando-os entre 0, 10, 20, 30, 40 e 50 mM.L^{-1} , e utilizando NaNO_3 como única fonte de nitrogênio, a 60 mM.L^{-1} . Os resultados mostraram que maior quantidade de açúcar solúvel foi armazenado nas células, em condições de deficiência de potássio. Foi observada, também, uma correlação curvilínea entre a concentração inicial de potássio e a acúmulo de biomassa ativa (massa total da célula menos a massa do açúcar intracelular solúvel). O consumo de potássio pela célula cresceu com o aumento da concentração de potássio no meio e houve, ainda, uma correlação linear entre o aumento de concentração de potássio e o consumo de nitrato pelas células. Além disso, os

resultados indicaram que embora potássio tivesse pouco efeito na quantidade de polissacarídeos, o teor de saponina foi notavelmente incrementado com o aumento da concentração inicial de potássio. A maior produção de saponina foi de 730 mg.L⁻¹ na concentração 60 mM.L⁻¹ de potássio.

Naik & Sarkar (1998) investigaram o papel da nutrição de potássio na produção de microtubérculos em duas cultivares de *Solanum tuberosum*. Foram feitas alterações no meio MS, variando-se as concentrações de potássio em 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 mM.L⁻¹ e seus efeitos foram observados no número e massa fresca de microtubérculos e no índice de produção (microtubérculos/biomassa). Na cultivar tardia 'Kufri Sindhuri', o aumento na concentração de potássio acima de 25 mM.L⁻¹ diminuiu o número de microtubérculos. O potássio não mostrou qualquer efeito inibitório no número de microtubérculos, porém aumentou a produção de massa, em ambas as cultivares, 'Kufri Sindhuri' e 'Kufri Ashoka'. Quando o meio de cultura foi suplementado com 40 mM.L⁻¹ de potássio, apresentou a máxima produção de microtubérculos e o melhor índice de produção. Também, os microtubérculos grandes, com o dobro do tamanho, próprios para plantio direto no campo, foram obtidos em meio contendo 40 mM.L⁻¹ de potássio.

Nas abordagens biotecnológicas de propagação de plantas, os meios de cultura devem ter uma composição química adequada a essa finalidade permitindo a otimização da produção. Como a bananeira (*Musa* sp.) é exigente em potássio, a busca do nível adequado desse macronutriente envolve não somente o comprometimento com o nível dos outros nutrientes (balanço iônico), mas também a relação entre eles. Para acompanhar os efeitos fisiológicos dos vários teores de potássio, explantes caulinares das cultivares 'Nanica' e 'Prata Anã', foram cultivadas em meio MS modificado, em presença de BAP, vitaminas e ágar, em seis diferentes concentrações de potássio (5, 10, 15, 20, 25 e 30 mM.L⁻¹), sendo 20 mM.L⁻¹ correspondeu à concentração existente no meio MS básico, adotado como controle. A massa de matéria seca, macro e micronutrientes na parte aérea, raiz e plântulas inteiras mostraram, em ambas as cultivares, uma relação direta entre o desenvolvimento das plântulas e as concentrações de potássio com otimização ao redor de 15 a 20 mM.L⁻¹ (Zaidan et al., 1999).

2.5.2.4 Cálcio

Montoro et al. (1995) trabalhando com *Hevea brasiliensis* mostraram que o aumento na concentração de CaCl_2 (0, 1, 3, 6, 9 e 12 mM.L^{-1}) no meio de cultura foi altamente significativo com acúmulo linear de cálcio nos tecidos do calo. Modificou significativamente a composição mineral dos calos, exceto para o fósforo. O teor de potássio e magnésio estabilizou a partir de 9 mM.L^{-1} de CaCl_2 no meio de cultura e diminuiu na concentração 12 mM.L^{-1} . O teor de ferro acumulou linearmente com o aumento da concentração de CaCl_2 . O teor de N total cresceu segundo uma equação quadrática, alcançando o maior teor de nitrogênio total na concentração 3 mM.L^{-1} de CaCl_2 .

A interação entre cálcio e amônio na produtividade de massa fresca da orquídea calcícola *D. incarnata* cultivada *in vitro* a partir de sementes foi pesquisado por Dijk & Eck (1995a) Para tanto, variaram as concentrações de amônio em 0, 2, 4, 6 e 8 mM.L^{-1} , utilizando-se como fonte de nitrogênio o $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, em combinação com CaSO_4 nas concentrações 0, 1 e 2 mM.L^{-1} . A biomassa das plântulas foi alterada significativamente pela concentração de cálcio no meio de cultura. Um ponto ótimo de massa fresca foi determinada na concentração intermediária de 1 mM.L^{-1} , enquanto a produção a 2 mM.L^{-1} de cálcio não foi significativamente diferente da concentração 0 mM.L^{-1} de cálcio.

López-Lefebre et al. (2001) estudando a dinâmica do estado nutricional e produção de biomassa em plantas de *N. tabacum*, através da aplicação de várias concentrações de CaCl_2 (1,25 mM.L^{-1} , 2,5 mM.L^{-1} e 3,5 mM.L^{-1}) em solução nutritiva, mostraram que como esperado, o cálcio acumulou-se progressivamente com o aumento da concentração desse elemento no meio de cultura. Houve um leve aumento na concentração de nitrogênio orgânico, mas pouca mudança na concentração de potássio e sódio. Em contraste, o aumento do cálcio causou um gradual declínio na concentração de fósforo e magnésio. A concentração dos micronutrientes Fe, Mn, Zn, Cl e B foi influenciado positivamente com o aumento do cálcio. Uma notável relação sinérgica

foi encontrada entre cálcio e boro. A concentração de cobre nas raízes declinou significativamente com o aumento da aplicação de cálcio. O efeito de cálcio na produção de biomassa dependeu do órgão analisado.

O teor de cálcio e ferro aumentou em plântulas de *G. paniculata* cultivadas em meio de cultura quando a concentração cálcio foi crescente (0, 5, 10, 15 e 20 mM.L⁻¹), enquanto que o teor de potássio, enxofre, boro e zinco na plântula resultaram em decréscimo. Já o magnésio mostrou o menor teor nas plântulas na maior concentração. O teor de fósforo nas plântulas não mostrou nenhuma tendência com o aumento da concentração de cálcio no meio de cultura, sendo que os maiores valores foram nas concentrações 0 e 2,5 mM.L⁻¹, enquanto que o menor teor foi na maior concentração de cálcio. Ainda, os dados colhidos por esses autores mostraram que o menor teor de manganês foi na maior concentração de cálcio, enquanto que nas demais concentrações não diferiram entre si. No teor de zinco, os maiores valores foram nos tratamentos 0 e 0,65 mM.L⁻¹ e os menores nos demais tratamentos. A massa seca aumentou até a concentração 1,25 mM.L⁻¹, após o qual teve pouca variação, enquanto que massa fresca alcançou o seu maior valor entre 0,64 e 1,25 mM.L⁻¹ (Gribble et al., 2002)

2.6 Interação entre íons

A inibição pode induzir deficiência de um dado elemento. Assim, um excesso de potássio no meio pode causar carência de cálcio e magnésio (Malavolta et al., 1997; Marscher, 1995). Da mesma forma, a adubação fosfatada pode provocar carência de zinco. A presença de Cu²⁺ ou H₃BO₃ junto com Zn²⁺ em uma solução destinada a corrigir deficiência de zinco e de boro e a controlar a ferrugem do cafeeiro pode comprometer o efeito do zinco, cuja absorção é muito reduzida, tendo dessa forma duas formas de inibições, sendo que o Cu²⁺ inibe competitivamente a absorção de zinco, enquanto o boro o faz não competitivamente (Malavolta et al., 1997).

Malavolta et al. 1997 discorrendo sobre efeitos interiônicos afirmou que a presença de Ca^{2+} tem ação antagonista sobre íon Cu^{2+} . O Ca^{2+} em alta concentração tem efeito de inibição competitiva sobre o íon K^+ , enquanto que em baixa concentração tem ação de sinergismo sobre o íon K^+ . O Ca^{2+} , ainda, tem ação de inibição competitiva sobre o íon Zn^{2+} . A presença do íon K^+ tem efeito de inibição competitiva sobre os íons Mg^{2+} e Ca^{2+} . Os íons NO_3^- e NH_4^+ tem ação de inibição não competitiva sobre H_2BO_3^- . H_2PO_4^- tem ação de inibição não competitiva sobre Zn^{2+} e de sinergismo sobre o íon MoO_4^{2-} .

A absorção de um dado elemento pode ser influenciada pela presença de outro, ocorrendo três casos principais de efeitos interiônicos. Podem ser classificados como de antagonismo, quando a presença de um elemento diminui a absorção de outro, cuja toxicidade é assim evitada; de inibição, quando a diminuição da absorção de um mineral provocada pela presença de outro íon; e de sinergismo, quando a presença de um elemento aumenta a absorção de outro mineral, conforme a Tabela 4 (Malavolta, 1980; Malavolta et al., 1997).

Tabela 4. Exemplos de efeitos interiônicos, segundo Malavolta, 1980 e Malavolta et al., 1997

íon	segundo íon presente	efeito do segundo sobre o primeiro
Cu^{2+}	Ca^{2+}	antagonismo
Mg^{2+}	K^+	inibição competitiva
K^+	Ca^{2+} (alta concentração)	inibição competitiva
SO_4^{2-}	SeO_4^{2-}	inibição competitiva
MoO_4^{2-}	SO_4^{2-}	inibição competitiva
Zn^{2+}	Mg^{2+}	inibição competitiva
Zn^{2+}	Cu^{2+}	inibição competitiva
Fe^{2+}	Mn^{2+}	inibição competitiva
Zn^{2+}	H_2PO_4^-	inibição não competitiva
H_2PO_4^-	Mg^{2+}	sinergismo
K^+	Ca^{2+} (baixa concentração)	sinergismo
MoO_4^{2-}	H_2PO_4^-	sinergismo

2.7 Funções dos nutrientes em bromeliácea

Nitrogênio: Nitrogênio é um dos principais componentes da proteína, responsável pelo crescimento vegetativo no abacaxizeiro, atuando no aumento da produção e do peso dos frutos. Quando em deficiência, o nitrogênio é transportado das folhas velhas, que se tornam amareladas, para as folhas em desenvolvimento, com um crescimento reduzido da planta. Uma deficiência severa provoca ausência de frutos, mudas, filhotes e rebentões, e produção de frutos muito pequenos (Paula et al., 1998).

Fósforo: Participa das reações de síntese das proteínas, síntese e desdobramento de carboidratos, óleos e gorduras. É indispensável na ocasião da diferenciação floral e no desenvolvimento do fruto. O fósforo melhora a qualidade dos frutos, aumentando-lhes o teor de vitamina C, a firmeza da polpa e o tamanho. Em razão da fácil redistribuição desse elemento na planta, e mesmo havendo carência, as folhas mais velhas apresentam sintomas como cor verde-azulada, murchas a partir da extremidade, começando pelas folhas mais velhas, que ficam com pontas secas de cor marrom-alaranjada e estrias transversais marrons. Apresentam folhas mais longas e estreitas, bem como redução no crescimento. As doses excessivas de fósforo aceleram a frutificação e a maturação dos frutos (Paula et al., 1998).

Potássio: É um importante ativador de enzimas, sendo também responsável pela abertura e fechamento dos estômatos e transporte de carboidratos. Os níveis foliares de potássio devem ser sempre superiores ao nível crítico do rendimento, para assegurar a qualidade do fruto com relação ao aroma, sabor, resistência ao armazenamento e transporte. Entretanto, em condições climáticas quentes e úmidas, há necessidade de maiores cuidados com a nutrição potássica, principalmente com relação ao N. A relação K/N na folha D, no momento da indução floral, deve ser pelo menos igual a três. A escassez de K causa, inicialmente, o aparecimento de pontuações pardas e crescem e podem-se juntar sobre as bordas do limbo. Há ressecamento a partir do ápice das folhas

para a base, e este sintoma aparece primeiro nas folhas velhas (Paula et al., 1998). O potássio diminui o teor de NO_3^- em frutos de *A. comosus*, uma vez que o potássio estimulou a conversão NH_4^+ em proteínas, segundo Chongpraditnun et al. (2000).

Cálcio: É importante na diferenciação da inflorescência e no desenvolvimento dos frutos. O cálcio favorece a transpiração com perda de turgescência. As doses elevadas podem provocar diminuição do potássio nas folhas, o que ocasiona a clorose calcária e plantas menores (Paula et al., 1998).

Magnésio: É um elemento constituinte da clorofila e ativador de enzimas transferidores de fosfato. O suprimento do magnésio é mais importante sobre a coloração do fruto do que o do cálcio (Paula et al., 1998).

Enxofre: O enxofre é o componente de alguns aminoácidos e das proteínas. Participa da síntese da clorofila e da absorção de CO_2 . A deficiência deste elemento caracteriza-se por folhagem amarelo-pálida, tons avermelhados nas folhas, sobretudo em folhas velhas. Apresenta necrose começando nas áreas cloróticas e planta de porte normal (Paula et al., 1998).

Boro: Exerce influência no metabolismo dos carboidratos, na síntese da pectina e no movimento dos açúcares. É essencial na formação da parede celular, na divisão e no aumento do tamanho das células. Os sintomas de deficiência do boro são folhas mais espessas, duras, sendo que as do centro retorcidas (Paula et al., 1998).

Cobre: Quando ocorre toxidez, a planta apresenta folhas longas, verde-claras, com manchas avermelhadas e frutos pequenos e avermelhados. A carência de cobre torna as folhas finas, curtas e estreitas, de cloração verde-clara, bordas onduladas, ponta necrosada. Na colheita, as folhas aparecem tombadas e de cor vermelho-vinho e a planta apresenta-se raquítica (Paula et al., 1998).

Ferro: Importante na síntese da clorofila, oxidação de carboidratos e na redução de sulfatos e nitratos. Em condições de baixa disponibilidade de ferro, o abacaxizeiro apresenta folhas amareladas, clorose semelhante à causada pela deficiência de nitrogênio. Esses sintomas ocorrem somente nas folhas que se formam a partir do aparecimento dessa deficiência. As folhas velhas, formadas antes, possuem cor normal (Paula et al., 1998).

Manganês: Participa do transporte de elétrons na fotossíntese, sendo essencial para formação da clorofila. É pouco redistribuído na planta, razão pela qual os sintomas de carência aparecem inicialmente nas folhas novas. Os sintomas de deficiência não são bem definidos. As folhas têm aspecto de mármore, com coloração verde-clara, rodeada de verde mais escuro (Paula et al., 1998). A aplicação de manganês e magnésio não mostrou nenhum efeito no teor de NO_3^- nos frutos de *A. comosus*, segundo Chongpraditnun et al. (2000).

Molibdênio: A deficiência desse elemento em *A. comosus* não foi assinalada e nem obtida em condições hidropônicas (Paula et al., 1998). O aumento da concentração do teor de molibdênio na folha D de *A. comosus* mostrou aumento linear do teor de NO_3^- nas folhas da coroa, segundo Chairidchai (2000). O teor de Mo nas folhas aumentou com a aplicação de Mn e Mg, segundo Chongpraditnun et al. (2000).

Zinco: Importante na síntese do triptofano, produto intermediário na formação do ácido indolacético (AIA), que é uma auxina necessária para o aumento do volume celular, reguladora da atividade enzimática. Sua deficiência acarreta diminuição do teor de auxina, com deformação da planta, que sofre uma torção inicial das folhas jovens do centro. As folhas apresentam-se cloróticas, seca e com necrose nas pontas (Paula et al., 1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Fisiologia Vegetal de Árvores do Departamento de Ciências Florestais, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo em Piracicaba e no Laboratório de Cultura de Tecido da Seção de Orquidário do Estado, do Instituto de Botânica, da Secretaria do Meio Ambiente em São Paulo.

3.1 Coleta de sementes

Nos experimentos foram utilizadas a espécie *Aechmea blanchetiana*, cujos frutos foram coletadas de espécimes cultivadas na Seção de Ornamentais do Instituto de Botânica, em São Paulo e armazenadas em sacos de papel Kraft em condições de refrigeração a 6°C durante um ano. Os frutos foram abertos manualmente e suas sementes retiradas e colocadas em placa de Petri. Foram lavadas diversas vezes em água destilada até a eliminação completa da mucilagem, filtradas em papel de filtro e secas à sombra em temperatura ambiente. Após essa operação, as sementes foram submetidas à limpeza, eliminando-se as impurezas através da catação manual com auxílio de uma pinça. Após o beneficiamento, as sementes foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar com tampa e armazenadas em condições de refrigeração à temperatura de 6°C, por um período de até um mês, quando foram inoculadas *in vitro*.

3.2 Assepsia do explante e inoculação *in vitro*

Para a inoculação *in vitro*, as sementes beneficiadas foram desinfestadas em uma solução de hipoclorito de sódio, 2% de cloro ativo (m/v) a 100%, acrescida de 2 gotas de Tween 20 por 100 mL, durante 30 minutos. A seguir, foram enxaguadas por três vezes em água destilada esterilizada. Após o tratamento de assepsia, as sementes foram inoculadas em frascos com capacidade volumétrica de 360 mL, contendo 50 mL de meio de cultura sólido, composto por metade da concentração dos sais de macronutrientes, e concentrações normais de micronutrientes e vitaminas do meio de cultura MS e dispostas em sala de crescimento a $93 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) e temperatura média de 25 ± 1 , sob fotoperíodo de 12 horas, sendo o intervalo de iluminação das 6 h às 18 h e incubadas durante 2 meses.

3.3 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, conforme Nogueira (1994) para todas as variáveis consideradas. Constou de 5 tratamentos e 4 repetições, totalizando 20 parcelas. Para o experimento com o nitrogênio, a parcela foi composta de 6 frascos contendo 10 explantes, totalizando 1.200 plântulas, enquanto que para os demais experimentos, a parcela foi composta de 5 frascos contendo 10 explantes, totalizando 1.000 plântulas.

Para que o modelo de análise de variância da regressão tenha validade, satisfazendo as pressuposições de homogeneidade de variâncias, independência de erros e erros com distribuição normal, fez-se análise exploratória dos dados. Para tanto, a análise exploratória foi realizada, utilizando-se o programa estatístico SAS (SAS Institute, 1996) e a análise de variância da regressão e teste F, através do programa estatístico SANEST (Zonta & Machado, 1991).

Quando as regressões foram quadráticas ou cúbicas, as maiores e/ou as menores concentrações foram obtidas derivando-se as equações e igualando-as a zero ($dx/dy=0$).

O esquema da análise de variância da regressão e do teste F para todas as variáveis, conforme Banzatto & Kronka (1995) e Pimentel (1984), conforme a Tabela 5.

Tabela 5. Esquema da análise de variância da regressão e do teste F para todas as variáveis analisados no crescimento de *A. blanchetiana*

causa da variação	GL	SQ	QM	F
regressão linear	1	SQL	QML	QML/QMR
regressão quadrática	1	SQQ	QMQ	QMQ/QMR
regressão cúbica	1	SQC	QMC	QMC/QMR
desvios de regressão	1	SQD	QMD	—
tratamentos	4	SQT	QMT	QMT/QMR

3.4 Efeitos de diferentes concentrações de nitrogênio, fósforo, potássio e cálcio no crescimento *in vitro*

Para o estudo dos efeitos de diferentes concentrações dos nutrientes considerados foram montados quatro experimentos. Para observar tão somente a ação dos nutrientes no crescimento, não foram adicionados reguladores vegetais ao meio. Foram subcultivadas em meio líquido a cada 30 dias, totalizando 4 meses de cultivo. As concentrações dos nutrientes foram formuladas com base no meio MS, conforme os itens que se seguem.

3.4.1 Efeitos de diferentes concentrações de nitrogênio no crescimento *in vitro*

Plântulas obtidas *in vitro* foram transferidas para frascos com volume de 360 mL, contendo 50 mL de meio líquido MS modificado com diferentes níveis de nitrogênio para estudo de crescimento. O explante apresentou em média o comprimento de 31,67 mm, diâmetro da plântula de 26,27 mm, com 5,11 folhas, folha com maior largura de 3,24 mm, com 3,03 raízes, comprimento da maior raiz de 10,26 mm, diâmetro do caule com 1,27 mm, massa fresca de 0,065 g e massa seca de 0,0022 g. A composição e respectivo balanço iônico dos meios de cultura encontra-se na Tabela 6.

3.4.2 Efeitos de diferentes concentrações de fósforo no crescimento *in vitro*

Plântulas obtidas *in vitro* foram transferidas para frascos com volume de 360 ml contendo 50 mL de meio líquido MS modificado com diferentes níveis de fósforo para estudo de crescimento. O explante apresentou em média o comprimento de 29,23 mm, diâmetro da plântula de 24,27 mm, com 5,19 folhas, folha com maior largura de 3,10 mm, com 2,81 raízes, comprimento da maior raiz de 8,21 mm, diâmetro do caule com 1,41 mm, massa fresca de 0,049 g e massa seca de 0,0039 g. A composição e respectivo balanço iônico dos meios de cultura encontra-se na Tabela 7.

3.4.3 Efeitos de diferentes concentrações de potássio no crescimento *in vitro*

Plântulas obtidas *in vitro* foram transferidas para frascos com volume de 360 mL contendo 50 mL de meio líquido MS modificado com diferentes níveis de potássio para estudo de crescimento. O explante apresentou em média o comprimento de 30,93 mm,

diâmetro da plântula de 27,27 mm, com 5,76 folhas, folha com maior largura de 3,00 mm, com 3,31 raízes, comprimento da maior raiz de 11,81 mm, diâmetro do caule com 1,17 mm, massa fresca de 0,063 g e massa seca de 0,0044 g. A composição e respectivo balanço iônico dos meios de cultura encontra-se na Tabela 8.

3.4.4 Efeitos de diferentes concentrações de cálcio no crescimento *in vitro*

Plântulas obtidas *in vitro* foram transferidas em frascos com volume de 360 mL contendo 50 mL de meio líquido MS modificado com diferentes níveis de cálcio para estudo de crescimento. O explante apresentou em média o comprimento de 29,07 mm, diâmetro da planta de 27,88 mm, com 5,83 folhas, folha com maior largura de 2,85 mm, com 2,91 raízes, comprimento da maior raiz de 11,60 mm, diâmetro do caule com 1,03 mm, massa fresca de 0,070 g e massa seca de 0,0055 g. A composição e respectivo balanço iônico dos meios de cultura encontra-se na Tabela 9.

3.5 Análises biométricas

Segundo Magalhães (1979), o crescimento de uma planta pode ser medido de várias maneiras, sendo que em alguns casos, a determinação da altura é suficiente, mas, às vezes, maiores informações são necessárias, como, por exemplo, o tamanho das folhas (comprimento, largura, área), a massa seca total ou de órgãos individuais, como raízes, caules, folhas e frutos. Portanto, para a comparação estatística das médias entre os tratamentos foram medidas e analisadas as seguintes variáveis:

3.5.1 Comprimento da plântula

O comprimento da plântula foi mensurado com régua graduada em centímetros, considerando-se a medida compreendida entre a base do caule e a extremidade da folha com maior tamanho. Para a mensuração, a planta foi estirada no seu maior comprimento sobre uma régua afixada na bancada.

3.5.2 Número de folhas

O número de folhas foi avaliado pela contagem das folhas de plantas individualmente, desconsiderando-se as folhas senescentes da parte basal.

3.5.3 Folha com maior largura

A dimensão da folha com maior largura foi determinada utilizando-se paquímetro, marca Mitutoyo, com escala em centímetros, considerando-se visualmente a maior dimensão em largura.

3.5.4 Diâmetro do caule

O diâmetro do caule foi medido com a utilização de paquímetro, marca Mitutoyo, na sua maior dimensão.

3.5.5 Numero de raízes

O número de raízes foi avaliado pela contagem das raízes individualmente, desconsiderando-se aquelas menores que 1 mm.

3.5.6 Comprimento da maior raiz

O comprimento da maior raiz foi mensurado com régua graduada em centímetros, considerando-se a medida compreendida entre a inserção no caule e o ápice da raiz com maior tamanho. Para a mensuração, a raiz foi estirada sobre a régua afixada na bancada.

3.5.7 Massa fresca

As plântulas retiradas do frasco de meio de cultura foram inicialmente mergulhadas em água destilada e deionizada por três vezes. Após o enxágüe inicial foram centrifugadas em uma centrífuga manual para a eliminação da água aderida à superfície e individualmente pesadas na balança analítica, marca Marte, modelo AS 2000, com precisão de centésimo de grama, obtendo-se a massa fresca total. Posteriormente, as folhas foram destacadas do caule na linha de inserção da bainha e sua massa determinada, constituindo-se a massa fresca das folhas.

3.5.8 Massa seca

A plântula separada em órgãos (folhas, caule e raízes) foi acondicionada individualmente em sacos de papel kraft e secas em estufas dotadas de sistema para circulação forçada e renovação de ar, a uma temperatura de 70°C, até atingir peso constante. Após o processo de secagem, o material foi mantido em dessecador, contendo sílica gel, para evitar a reidratação da amostra. A determinação da massa seca das folhas foi feita em uma balança analítica, marca Marte, modelo A.L. 500, com precisão de milésimo de grama. Enquanto que a determinação da massa seca de caule e raiz foi feita em uma balança analítica, marca Marte, com precisão de décimo de miligrama. A massa seca da parte aérea e total foi estabelecida, através da somatória da massa seca das folhas, caule e raízes.

3.6 Análises químicas

Após a determinação das variáveis consideradas, aproximadamente 1 g da massa seca de folhas por repetição foi destinada à determinação de teores de macro (N, P, K, S, Ca e Mg) e micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn) realizada no laboratório de química analítica do Departamento de Solos e Nutrição Mineral da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

Tabela 6. Concentração de íons nos meios de cultura MS modificados com diferentes níveis de nitrogênio (7,5; 15; 30; 60 e 120 mM.L⁻¹) no crescimento *in vitro* de *A. blanchetiana*

Íons	MS modificado (mM.L ⁻¹ N total)				
	7,5	15	30	60	120
NO ₃ ⁻ -KNO ₃	3,7461	3,7461	3,7461	3,7461	3,7461
NO ₃ ⁻ -NH ₄ NO ₃	1,8770	5,6270	13,1270	28,1403	58,1270
NH ₄ ⁺ -NH ₄ NO ₃	1,8770	5,6270	13,1270	28,1403	58,1270
N total	7,5	15	30	60	120
PO ₄ ³⁻ -KH ₂ PO ₄	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
K ⁺ -KNO ₃	3,75	3,75	3,75	3,75	3,75
K ⁺ -KH ₂ PO ₄	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
K ⁺ -KI	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050
K ⁺ -total	5	5	5	5	5
BO ₃ ³⁻ -H ₃ BO ₃	0,1003	0,1003	0,1003	0,1003	0,1003
Ca ²⁺ -CaCl ₂ . 2H ₂ O	3	3	3	3	3
Cl ⁻ -CaCl ₂ . 2H ₂ O	5,9816	5,9816	5,9816	5,9816	5,9816
Cl ⁻ -CoCl ₂ . 6 H ₂ O	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
Cl ⁻ -total	6	6	6	6	6
Co ²⁺ -CoCl ₂ . 6 H ₂ O	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Cu ²⁺ -CuSO ₄ . 5 H ₂ O	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
EDTA-Na ₂ EDTA. 2 H ₂ O	0,0997	0,0997	0,0997	0,0997	0,0997
Fe ²⁺ -FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000
I ⁻ -KI	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050
Mg ²⁺ -MgSO ₄ . 7H ₂ O	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011
Mn ²⁺ -MnSO ₄ . 4 H ₂ O	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957
MoO ₄ ²⁻ -Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010
Na ⁺ -Na ₂ EDTA. 2 H ₂ O	0,1993	0,1993	0,1993	0,1993	0,1993
Na ⁺ -Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0,0021	0,0021	0,0021	0,0021	0,0021
Na ⁺ -total	0,2014	0,2014	0,2014	0,2014	0,2014
SO ₄ ²⁻ -FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000
SO ₄ ²⁻ -MgSO ₄ . 7H ₂ O	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011
SO ₄ ²⁻ -MnSO ₄ . 4 H ₂ O	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957
SO ₄ ²⁻ -ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299
SO ₄ ²⁻ -total	1,7267	1,7267	1,7267	1,7267	1,7267
Zn ²⁺ -ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299

Tabela 7. Concentração de íons nos meios de cultura MS modificados com diferentes níveis de fósforo (0,15; 0,30, 0,60; 1,25 e 2,50 mM.L⁻¹) no crescimento *in vitro* de *A. blanchetiana*

Íons	MS (mM.L ⁻¹ PO ₄ ³⁻)				
	modificado			básico	modificado
	0,15	0,30	0,60	1,25	2,50
NO ₃ ⁻ -KNO ₃	19,8450	19,6950	19,3950	18,7450	17,4950
NO ₃ ⁻ -NH ₄ NO ₃	20,0775	20,1525	20,3025	20,6275	21,2525
NH ₄ ⁺ -NH ₄ NO ₃	20,0775	20,1525	20,3025	20,6275	21,2525
N total	60	60	60	60	60
PO ₄ ³⁻ -KH ₂ PO ₄	0,15	0,30	0,60	1,25	2,50
K ⁺ -KNO ₃	19,845	19,695	19,395	18,745	17,495
K ⁺ -KH ₂ PO ₄	0,15	0,30	0,60	1,25	2,50
K ⁺ -KI	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
K ⁺ -total	20	20	20	20	20
BO ₃ ³⁻ -H ₃ BO ₃	0,1003	0,1003	0,1003	0,1003	0,1003
Ca ²⁺ -CaCl ₂ . 2H ₂ O	2,9908	2,9908	2,9908	2,9908	2,9908
Cl ⁻ -CaCl ₂ . 2H ₂ O	5,9816	5,9816	5,9816	5,9816	5,9816
Cl ⁻ -CoCl ₂ .6 H ₂ O	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
Cl ⁻ -total	5,9819	5,9819	5,9819	5,9819	5,9819
Co ²⁺ -CoCl ₂ .6 H ₂ O	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Cu ²⁺ -CuSO ₄ .5 H ₂ O	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
EDTA-Na ₂ EDTA.2 H ₂ O	0,0997	0,0997	0,0997	0,0997	0,0997
Fe ²⁺ -FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000
I ⁻ -KI	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050
Mg ²⁺ -MgSO ₄ . 7H ₂ O	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011
Mn ²⁺ -MnSO ₄ .4 H ₂ O	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957
MoO ₄ ²⁻ -Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010
Na ⁺ -Na ₂ EDTA.2 H ₂ O	0,1993	0,1993	0,1993	0,1993	0,1993
Na ⁺ -Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,0021	0,0021	0,0021	0,0021	0,0021
Na ⁺ -total	0,2014	0,2014	0,2014	0,2014	0,2014
SO ₄ ²⁻ -FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000
SO ₄ ²⁻ -MgSO ₄ . 7H ₂ O	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011
SO ₄ ²⁻ -MnSO ₄ .4 H ₂ O	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957
SO ₄ ²⁻ -ZnSO ₄ .7 H ₂ O	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299
SO ₄ ²⁻ -total	1,7267	1,7267	1,7267	1,7267	1,7267
Zn ²⁺ -ZnSO ₄ .7 H ₂ O	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299

Tabela 8. Concentração de íons nos meios de cultura MS modificados com diferentes níveis de potássio (2,5; 5; 10; 20 e 40 mM.L⁻¹) no crescimento *in vitro* de *A. blanchetiana*

Íons	MS (mM.L ⁻¹ K ⁺)				
	2,5	5	10	básico 20	modificado 40
NO ₃ ⁻ -KNO ₃	1,2524	3,7586	8,7711	18,7961	38,8461
NO ₃ ⁻ -NH ₄ NO ₃	29,3872	28,1341	25,6278	20,6153	10,5903
NH ₄ ⁺ -NH ₄ NO ₃	29,3872	28,1341	25,6278	20,6153	10,5903
N total	60	60	60	60	60
PO ₄ ³⁻ -KH ₂ PO ₄	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
K ⁺ -KNO ₃	1,25	3,76	8,77	18,80	38,85
K ⁺ -KH ₂ PO ₄	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
K ⁺ -KI	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050
K ⁺ - total	2,5	5	10	20	40
BO ₃ ³⁻ -H ₃ BO ₃	0,1003	0,1003	0,1003	0,1003	0,1003
Ca ²⁺ -CaCl ₂ . 2H ₂ O	2,9908	2,9908	2,9908	2,9908	2,9908
Cl ⁻ -CaCl ₂ . 2H ₂ O	5,9816	5,9816	5,9816	5,9816	5,9816
Cl ⁻ -CoCl ₂ .6 H ₂ O	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
Cl ⁻ -total	5,9819	5,9819	5,9819	5,9819	5,9819
Co ²⁺ -CoCl ₂ .6 H ₂ O	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Cu ²⁺ -CuSO ₄ .5 H ₂ O	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
EDTA-Na ₂ EDTA.2 H ₂ O	0,0997	0,0997	0,0997	0,0997	0,0997
Fe ²⁺ -FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000
I ⁻ -KI	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050
Mg ²⁺ -MgSO ₄ . 7H ₂ O	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011
Mn ²⁺ -MnSO ₄ .4 H ₂ O	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957
MoO ₄ ²⁻ -Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010
Na ⁺ -Na ₂ EDTA.2 H ₂ O	0,1993	0,1993	0,1993	0,1993	0,1993
Na ⁺ -Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,0021	0,0021	0,0021	0,0021	0,0021
Na ⁺ total	0,2014	0,2014	0,2014	0,2014	0,2014
SO ₄ ²⁻ -FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000
SO ₄ ²⁻ -MgSO ₄ . 7H ₂ O	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011
SO ₄ ²⁻ -MnSO ₄ .4 H ₂ O	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957
SO ₄ ²⁻ -ZnSO ₄ .7 H ₂ O	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299
SO ₄ ²⁻ -total	1,7267	1,7267	1,7267	1,7267	1,7267
Zn ²⁺ -ZnSO ₄ .7 H ₂ O	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299

Tabela 9. Concentração de íons nos meios de cultura MS modificados com diferentes níveis de cálcio (1,5; 3; 4,5; 6 e 12 mM.L⁻¹) no crescimento *in vitro* de *A. blanchetiana*

Íons	MS (mM.L ⁻¹ Ca ²⁺)				
	modificado	básico	modificado		
	1,5	3	4,5	6	12
NO ₃ ⁻ -KNO ₃	18,7461	18,7461	18,7461	18,7461	18,7461
NO ₃ ⁻ -Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0,0000	0,0000	3,0000	6,0000	18,0000
NO ₃ ⁻ -NH ₄ NO ₃	20,6270	20,6270	19,1270	17,6270	11,6270
NH ₄ ⁺ -NH ₄ NO ₃	20,6270	20,6270	19,1270	17,6270	11,6270
N total	60	60	60	60	60
PO ₄ ³⁻ -KH ₂ PO ₄	1,2489	1,2489	1,2489	1,2489	1,2489
K ⁺ -KNO ₃	18,7461	18,7461	18,7461	18,7461	18,7461
K ⁺ -KH ₂ PO ₄	1,2489	1,2489	1,2489	1,2489	1,2489
K ⁺ -KI	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050
K ⁺ -total	20	20	20	20	20
BO ₃ ³⁻ -H ₃ BO ₃	0,1003	0,1003	0,1003	0,1003	0,1003
Ca ²⁺ -CaCl ₂ . 2H ₂ O	1,5000	3,0000	3,0000	3,0000	3,0000
Ca ²⁺ -Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0,0000	0,0000	1,5000	3,0000	9,0000
Ca ²⁺ total	1,5	3	4,5	6	12
Cl ⁻ -CaCl ₂ . 2H ₂ O	3,0000	6,0000	6,0000	6,0000	6,0000
Cl ⁻ -CoCl ₂ .6 H ₂ O	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
Cl ⁻ -total	3,0002	6,0002	6,0002	6,0002	6,0002
Co ²⁺ -CoCl ₂ .6 H ₂ O	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Cu ²⁺ -CuSO ₄ .5 H ₂ O	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
EDTA-Na ₂ EDTA.2 H ₂ O	0,0997	0,0997	0,0997	0,0997	0,0997
Fe ²⁺ -FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000
I ⁻ -KI	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050	0,0050
Mg ²⁺ -MgSO ₄ . 7H ₂ O	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011
Mn ²⁺ -MnSO ₄ .4 H ₂ O	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957
MoO ₄ ²⁻ -Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010
Na ⁺ -Na ₂ EDTA.2 H ₂ O	0,1993	0,1993	0,1993	0,1993	0,1993
Na ⁺ -Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,0021	0,0021	0,0021	0,0021	0,0021
Na ⁺ total	0,2014	0,2014	0,2014	0,2014	0,2014
SO ₄ ²⁻ -FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000
SO ₄ ²⁻ -MgSO ₄ . 7H ₂ O	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011	1,5011
SO ₄ ²⁻ -MnSO ₄ .4 H ₂ O	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957	0,0957
SO ₄ ²⁻ -ZnSO ₄ .7 H ₂ O	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299
SO ₄ ²⁻ -total	1,7267	1,7267	1,7267	1,7267	1,7267
Zn ²⁺ -ZnSO ₄ .7 H ₂ O	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299	0,0299

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeitos de diferentes concentrações de nitrogênio no crescimento de *A. blanchetiana* in vitro.

As variáveis de análise biométrica e do teor de macronutrientes e micronutrientes nas folhas foram analisadas com finalidade de determinar a influência de nitrogênio no crescimento in vitro de *A. blanchetiana*. Os seguintes resultados foram obtidos:

4.1.1 Análise biométrica de dimensões

Os dados das variáveis biométricas de dimensões foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 10.

4.1.1.1 Comprimento da plântula

A análise de variância da regressão mostrou que a variável comprimento da plântula foi significativa somente no modelo linear ($\alpha \leq 0,001$). Com o aumento da concentração de nitrogênio no meio de cultura ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), a variável

decreceu linearmente, sendo que para cada unidade de nitrogênio acrescida ao meio, houve uma diminuição de 0,0127 cm no comprimento da plântula (Figura 2).

Da mesma forma, no intervalo entre $1,78 \leq N \leq 30$ mM.L⁻¹, Grossi (2000) mostrou que na bromélia *A. nudicaulis*, a concentração de 1,78 mM.L⁻¹ apresentou a menor média de comprimento da plântula durante o cultivo *in vitro*, enquanto que o cultivo na concentração intermediária de 7,5 mM.L⁻¹ apresentou o melhor crescimento. Na maior concentração de 30 mM.L⁻¹, a quantidade mostrou ser excessiva. Portanto, as bromélias *A. blanchetiana* e *A. nudicaulis* apresentaram o mesmo comportamento quanto ao crescimento das plântulas, onde a concentração 7,5 mM.L⁻¹ mostrou os melhores resultados.

Tabela 10. Médias das medidas biométricas de dimensões da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de nitrogênio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

N (mM.L ⁻¹)	comprimento da planta (cm)	folha com maior largura (mm)	diâmetro do caule (mm)	média		número de raízes (cm)	
				número de folhas	comprimento da maior raiz (cm)		
						log	número de raízes (cm)
						do (comprimento da maior raiz)	
7,5	10,96	5,70	2,74	8,23	9,62	0,9832	9,15
15	10,99	6,11	2,79	8,25	8,70	0,9397	9,20
30	11,13	5,85	2,71	8,77	8,62	0,9356	9,11
60	10,89	5,99	2,71	8,94	7,17	0,8557	8,45
120	9,81	5,50	2,69	9,12	5,71	0,7563	8,34
cv (%)	6,037	2,958	3,518	3,367	—	3,066	4,315
teste F	ns	***	ns	***	—	***	**
linear	***	***	ns	***	—	***	***
quadrática	ns	***	ns	**	—	ns	ns
cúbica	ns	ns	ns	ns	—	ns	ns

do= dados originais; ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$);

** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

Evans (1993) verificou que em *Solanum* spp. concentrações entre $20 \leq N \leq 60$ mM.L⁻¹ de nitrogênio no meio MS, apresentou decréscimo no comprimento dos brotos

com o aumento da concentração de nitrogênio. Avila et al. (1998), também, encontraram os mesmos resultados com *S. tuberosum*, variedade 'Spunta', em que o efeito de nitrogênio nas concentrações 30 e 60 mM.L⁻¹ mostrou melhor resultado em 30 mM.L⁻¹ para o comprimento de broto, tanto no meio líquido como no sólido. A mesma tendência foi observada por Zarrabeitia et al. (1997) que constataram o decréscimo no comprimento dos internódios dos brotos em *S. tuberosum* com o aumento da concentração de nitrogênio no meio de cultura.

No entanto, outros pesquisadores constataram incremento no crescimento do comprimento da plântula com o aumento do nitrogênio no meio como Russowski & Nicoloso (2003), que trabalhando com *P. glomerata*, caracterizaram o efeito da variação de nitrogênio no meio MS, no crescimento *in vitro*. Segmentos nodais foram cultivados em nitrogênio variando no intervalo entre $0 \leq N \leq 150\%$ com relação à concentração padrão do meio de cultura MS com os demais nutrientes constantes na concentração original. O crescimento em altura das brotações variou segundo uma equação quadrática, alcançando o maior valor na concentração de nitrogênio igual a 100% do meio MS básico, tendendo a decrescer na maior concentração de nitrogênio. Também, Sarmiento et al. (1994) cultivaram *in vitro* plântulas de oliveira, que com o aumento da concentração de NH₄NO₃ ($0 \leq N \leq 20$ mM.L⁻¹) no meio, a altura das plântulas cresceu proporcionalmente, atingindo os maiores valores nas maiores concentrações. No entanto, o aumento da concentração de (NH₄)₂SO₄ ($0 \leq N \leq 20$ mM.L⁻¹) mostrou decréscimo direto no crescimento em altura, causando danos às plântulas.

Outros trabalhos indicaram que a concentração de nitrogênio não influenciou o crescimento, como mostraram Gomes & Shepherd (2000) estudando o cultivo de *S. allagophylla* no meio MS, no qual variaram as concentrações de KNO₃, nas proporções 1 KNO₃, 1/2 KNO₃ e 1/4 KNO₃, mostraram que em meios com diferentes concentrações de nutrientes, particularmente do nitrato, o maior comprimento do eixo principal não mostrou diferença significativa quanto à concentração utilizada, indicando que a espécie foi eficiente em utilizar o nitrogênio.

Portanto, observou-se que o crescimento no comprimento das plântulas em resposta às crescentes concentrações de nitrogênio no meio MS mostrou, dependendo da espécie e da fonte de nitrogênio utilizada, comportamentos diversos.

Quando cultivadas *in vivo*, as espécies comportaram-se, também, de forma diversa, como o experimento conduzido por Dalldorf (1993) estudando a adubação de abacaxizeiro com 600 e 900 kg de nitrogênio por hectare, mostrou que não houve incremento no comprimento da folha D com o aumento na dose de nitrogênio, enquanto que Selemat & Ramlah (1993) ao aplicarem doses crescentes de nitrogênio ($0 \leq N \leq 353$ kg de N/ha) tiveram como resposta o incremento na altura da planta de abacaxizeiro, assim como Poole & Conover (1976) que aplicando nitrogênio em doses crescentes ($50 \leq N \leq 150$ mM.L⁻¹) promoveu o aumento significativo na altura da bromélia *A. fasciata*.

4.1.1.2 Folha com maior largura

A análise de variância da regressão mostrou que os modelos linear ($\alpha \leq 0,001$) e quadrático ($\alpha \leq 0,001$) mostraram tendência significativa. Conforme o incremento da concentração de nitrogênio no meio de cultura ($7,5 \leq N \leq 120$ mM.L⁻¹), a variável folha com maior largura atingiu o seu maior valor em 50 mM.L⁻¹ de nitrogênio e decresceu segundo o modelo quadrático até alcançar o seu menor valor em 120 mM.L⁻¹. A regressão indicou que a partir da concentração 50 mM.L⁻¹ no meio, o nitrogênio mostrou-se excessivo, prejudicando o crescimento em largura das folhas (Figura 3).

A mesma tendência foi observada por Evans (1993) ao estudar nove cultivares de batata (*Solanum* sp.) no meio MS nas concentrações entre $20 \leq N \leq 60$ mM.L⁻¹, mostrando que com a redução da concentração de nitrogênio no meio de cultura, as plântulas apresentaram folhas mais largas, porém, em cultivo *in vivo*, Dalldorf (1993), estudando a adubação de abacaxizeiro com 600 e 900 kg de N/ha, mostrou que não houve crescimento na largura da folha D com o aumento na dose de nitrogênio.

4.1.1.3 Diâmetro do caule

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa, mostrando que não houve diferença entre os tratamentos, conforme o aumento da concentração de nitrogênio ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$). O coeficiente de determinação mostrou que 56,56% da variação do diâmetro de caule foi explicado pela regressão linear. A média geral foi ajustada pela regressão em $2,7579 \text{ mM.L}^{-1}$ (Figura 4).

4.1.1.4 Número de folhas

A análise de variância de regressão da variável número de folhas foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e quadrática ($\alpha \leq 0,01$). Optou-se pela regressão polinomial quadrática por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), a regressão polinomial mostrou que com o incremento da concentração de nitrogênio, o número de folhas aumentou, segundo a regressão quadrática, atingindo o maior número de folhas na concentração 117 mM.L^{-1} de nitrogênio (Figura 5).

Da mesma forma, Grossi (2000) encontrou em *A. nudicaulis* comportamento semelhante, ao final de 5 meses, o mesmo número de folhas nas maiores concentrações de nitrogênio ($1,78 \leq N \leq 30 \text{ mM.L}^{-1}$). Assim também foi observado por Russowski & Nicoloso (2003) em *P. glomerata*, que com o aumento da concentração entre $0 \leq N \leq 150\%$ promoveu maior aumento no número de folhas na concentração de 60% de N do meio MS. No entanto, Gomes & Shepherd (2000) encontraram resultados diferentes com o cultivo de *S. allagophylla* no meio MS, onde a variação do nitrogênio não mostrou diferença significativa do número de folhas nas concentrações utilizadas.

4.1.1.5 Comprimento da maior raiz

A análise de variância de regressão mostrou que na variável comprimento da maior raiz observou-se apenas um efeito linear ($\alpha \leq 0,001$) significativo. Dessa forma, dentro do intervalo experimental considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), conforme o aumento da concentração de nitrogênio, houve uma diminuição linear no comprimento da maior raiz. Para cada mM.L^{-1} de nitrogênio acrescido ao meio de cultura, houve uma diminuição de 1,004 cm (antilog de 0,0019) no comprimento da maior raiz (Figura 6).

Em Bromeliaceae, o mesmo comportamento foi encontrado por Grossi (2000) em *A. nudicaulis*, que com o aumento da concentração de nitrogênio ($1,78 \leq N \leq 30 \text{ mM.L}^{-1}$) mostrou que o tamanho do sistema radicular diminuiu, destacando-se a menor concentração que apresentou o maior sistema radicular. Portanto, comportamento similar foi observado em *A. blanchetiana* e *A. nudicaulis*.

Em espécies de outras famílias botânicas foram observados comportamentos semelhantes, como no experimento conduzido por Sweby et al. (1994) com *N. tabacum* que cresceu em N-NO_3^- no meio MS modificado, utilizando-se KNO_3 ($0 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$). A concentração 30 mM.L^{-1} de N-NO_3^- resultou em um aumento significativo no crescimento da maior raiz do que na ausência de nitrogênio. A variável não se alterou significativamente com o aumento da concentração até 60 mM.L^{-1} , porém a concentração 120 mM.L^{-1} inibiu o crescimento. Da mesma forma, Sriskandarajah et al. (1990) estudando os efeitos de nitrogênio no crescimento *in vitro* de raízes adventícias em cultivares de maçã, mostraram que na ausência de NH_4NO_3 no meio MS, o comprimento das raízes aumentou significativamente nas cultivares 'Royal Gala' e 'Jonagold', enquanto que na cultivar 'Gala', a melhor concentração foi 1/4 de NH_4NO_3 do meio MS.

Porém, outros pesquisadores encontraram resultados diferentes, como Gomes & Shepherd (2000) que estudando o cultivo *in vitro* de *S. allagophylla* no meio MS, variando-se as concentrações de KNO_3 nas proporções 1/4, 1/2 e 1/1 observaram que

não houve diferença no comprimento da maior raiz quanto às concentrações utilizadas, indicando que a espécie tem eficiência para utilizar o nitrogênio.

4.1.1.6 Número de raízes

A análise de variância da regressão mostrou que na variável número de raízes, a tendência linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativa. Dessa forma, no intervalo experimental considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), o número de raízes decresceu linearmente, conforme o aumento da concentração de nitrogênio do meio MS modificado, sendo que para cada mM.L^{-1} de nitrogênio acrescido no meio de cultura, houve uma diminuição de 0,0083 unidades no número de raízes (Figura 7).

Dentro da família bromeliácea, Grossi (2000) encontrou em *A. nudicaulis*, a mesma tendência na variável número de raízes que mostrou uma maior quantidade de raízes na menor concentração ($1,78 \text{ mM.L}^{-1}$), aos 5 meses de cultivo, considerando-se que a concentração de nitrogênio no meio variou no intervalo $1,78 \leq N \leq 30 \text{ mM.L}^{-1}$. Em *A. blanchetiana*, o maior número de raízes foi detectada na concentração $7,5 \text{ mM.L}^{-1}$, segundo a regressão linear ajustada, indicando que poderia, a exemplo de *A. nudicaulis*, mostrar tendência de produzir maior número de raízes em concentrações ainda menores.

Outros experimentos com espécies diferentes das bromeliáceas mostraram resultados semelhantes como Sweby et al. (1994) com *N. tabacum* cultivados em N-NO_3^- no meio MS modificado, tendo como fonte de nitrogênio KNO_3 ($0 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$). Na concentração de 30 mM.L^{-1} de N-NO_3^- , houve um aumento significativo no número de raízes, quando comparadas com 0 mM.L^{-1} , não alterando significativamente com o aumento da concentração até 60 mM.L^{-1} , porém a concentração 120 mM.L^{-1} inibiu o crescimento. Da mesma forma, Sriskandarajah et al. (1990) estudando os efeitos de nitrogênio no crescimento *in vitro* de raízes adventícias em cultivares de maçã, mostraram que a redução da concentração de NH_4NO_3 para 1/4 do meio MS aumentou

significativamente o número de raízes das cultivares 'Gala' e 'Royal Gala', enquanto que a cultivar 'Jonagold' apresentou maior número de raízes na concentração zero.

Diferente dos resultados encontrados nesse trabalho, Russowski & Nicoloso (2003) trabalhando com *P. glomerata* cultivados nas concentrações entre $0 \leq N \leq 150\%$ de nitrogênio em relação à concentração padrão do meio MS, constataram maior número de raízes na concentração de 50% N e tendendo ao decréscimo nas maiores concentrações.

Em todos os trabalhos comentados, notou-se tendência ao decréscimo no número de raízes nas concentrações maiores de nitrogênio, mostrando o efeito nocivo do excesso desse elemento mineral, embora espécie como *S. allagophylla* em que o número de raízes não mostrou diferença significativa nas diferentes concentrações de nitrogênio (1/4, 1/2 e 1/1 KNO₃) no meio MS, segundo Gomes & Shepherd (2000).

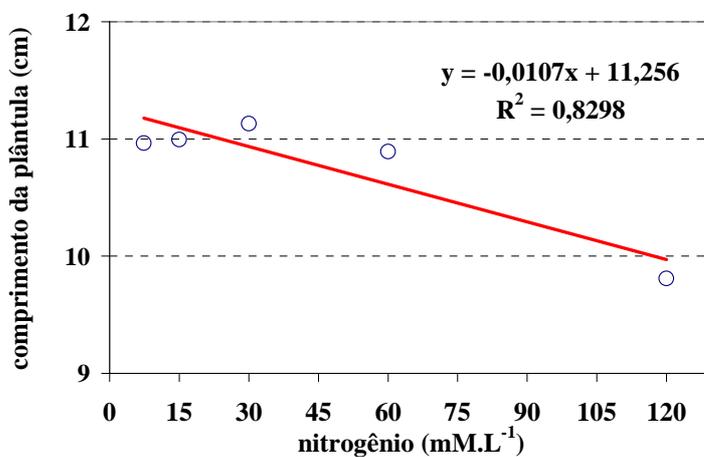


Figura 2 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da plântula de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

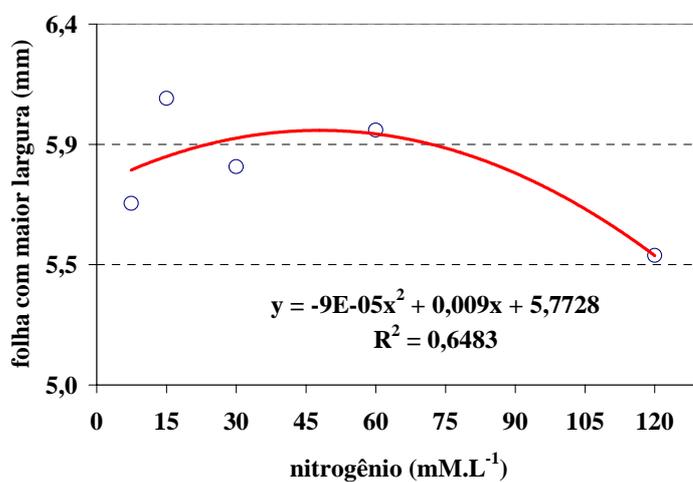


Figura 3 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável folha com maior largura de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

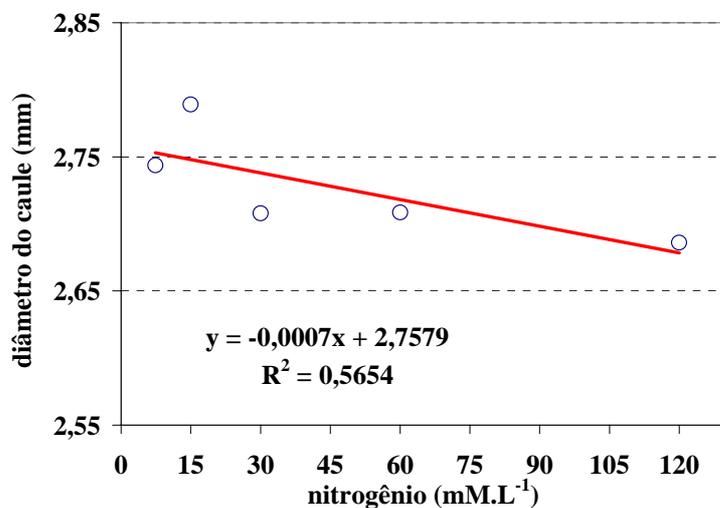


Figura 4 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável diâmetro de caule de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

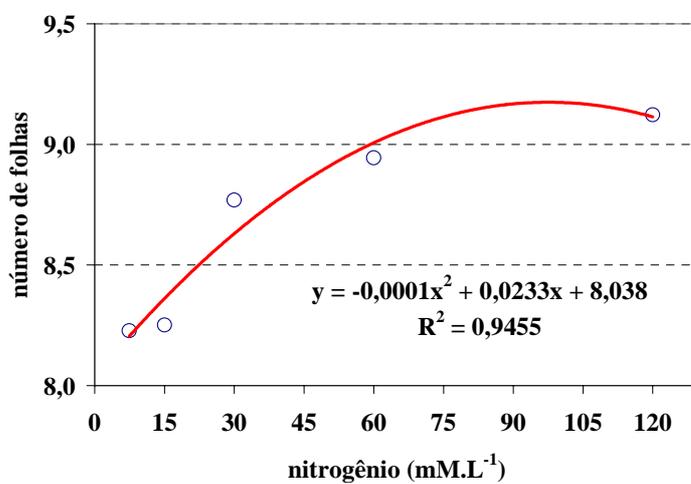


Figura 5 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de folhas em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie *A. blanchetiana*

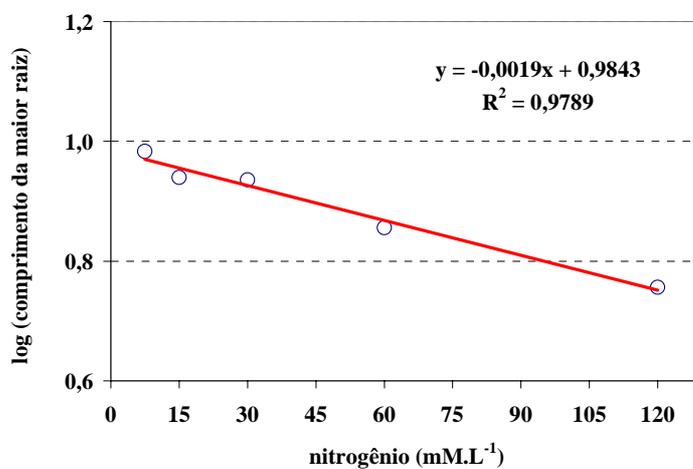


Figura 6 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da maior raiz em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie *A. blanchetiana*

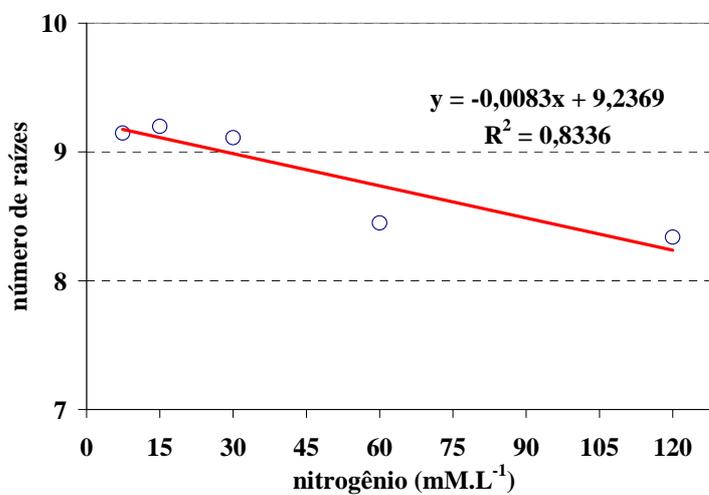


Figura 7 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de raízes em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie *A. blanchetiana*

4.1.2 Análise biométrica de massas

Os dados das variáveis biométricas de massas foram submetidos à análise exploratória dos dados e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 11.

Tabela 11. Médias das medidas biométricas de massas por plântula da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de nitrogênio no meio de cultura e significância dos efeitos de regressão e teste F

N (mM.L ⁻¹)	média da massa/plântula						
	fresca (g)		seca (mg)				parte aérea
	folha	total	folha	caule	raízes	total	
7,5	0,68	0,96	33,5955	11,0825	4,0867	48,7648	44,6781
15	0,71	0,99	33,0620	10,5335	3,7596	47,3551	43,5954
30	0,68	0,92	34,6506	10,4541	3,6416	48,7463	45,1047
60	0,66	0,89	34,2077	9,1702	3,0864	46,4643	43,3779
120	0,60	0,77	32,0695	7,1694	2,8320	42,0709	39,2389
cv (%)	8,381	7,881	6,552	9,676	12,091	7,060	6,862
teste F	ns	**	ns	***	**	ns	ns
linear	**	***	ns	***	***	***	**
quadrática	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
cúbica	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.1.2.1 Massa fresca das folhas

A análise de variância da regressão mostrou tendência significativa somente na regressão linear ($\alpha \leq 0,01$) para a variável massa fresca das folhas. Dessa forma, com o aumento da concentração de nitrogênio no meio de cultura ($7,5 \leq N \leq 120$ mM.L⁻¹), a

massa fresca diminuiu linearmente, sendo que para cada unidade de nitrogênio no meio de cultura, a massa fresca da folha diminuiu 0,0008 g (Figura 8).

4.1.2.2 Massa fresca total

A análise de regressão mostrou que na variável massa seca total, apenas a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativa. Assim, no intervalo experimental considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), a massa fresca total diminuiu linearmente, à medida que se aumentou a concentração de nitrogênio. Para cada unidade de nitrogênio no meio de cultura, houve um decréscimo de 0,0018 g na massa fresca total (Figura 9).

Em outra espécie de bromélia (*A. nudicaulis*), Grossi (2000) encontrou o mesmo comportamento, onde a menor concentração promoveu maior produção de massa fresca, quando cultivado em nitrogênio no intervalo entre $1,78 \leq N \leq 30 \text{ mM.L}^{-1}$.

Em orquídea observou-se diversos comportamentos, como aqueles estudados por Dijk & Eck (1995b) para determinar os efeitos de diferentes concentrações de NO_3NH_4 ($0 \leq N \leq 12 \text{ mM.L}^{-1}$) em plântulas obtidas a partir de sementes e cultivadas *in vitro*. Assim, *Dactylorhiza incarnata* apresentou um decréscimo na massa fresca com o aumento da concentração de nitrogênio no meio, enquanto que em *D. praetermissa*, a fitomassa cresceu e em *D. majalis*, a produção não foi significativa com o aumento da concentração.

Evans (1993) estudou nove cultivares de *Solanum* spp. no meio MS nas concentrações entre $20 \leq N \leq 60 \text{ mM.L}^{-1}$, concluindo que não houve efeito significativo na massa fresca dos brotos com o aumento da concentração de nitrogênio.

4.1.2.3 Massa seca das folhas

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa na variável massa seca das folhas, não havendo diferença significativa entre os

tratamentos. A variação da produção de massa seca foi explicada, em apenas 32,84%, pela regressão linear em função do aumento da concentração de nitrogênio. A média geral foi ajustada em 34,097 mg/plântula pela regressão linear (Figura 10).

No cultivo de abacaxizeiro, a aplicação de doses crescentes de nitrogênio ($0 \leq N \leq 353$ kg de N/ha) teve como resposta o incremento na produção de massa seca da folha, conforme Selemat & Ramlah (1993). Porém, Dalldorf (1993) aplicando 600 e 900 kg de nitrogênio por hectare na mesma espécie mostrou que não houve incremento na massa seca da folha D com o aumento na dose de nitrogênio.

4.1.2.4 Massa seca do caule

A análise de variância da regressão mostrou que a variável massa seca do caule foi significativa somente na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$). Dessa forma, no intervalo considerado ($7,5 \leq N \leq 120$ mM.L⁻¹), a regressão linear mostrou que com o aumento da concentração de nitrogênio, a massa seca do caule diminuiu linearmente. Para cada mM.L⁻¹ de nitrogênio acrescida no meio de cultura, foi observada uma diminuição de 0,0341 mg por plântula na massa seca do caule (Figura 11).

Em solanácea, Sweby et al. (1994) conduziram experimento com *N. tabacum* crescendo em meio MS contendo N-NO₃⁻, utilizando-se KNO₃ ($0 \leq N \leq 120$ mM.L⁻¹). As concentrações de 30 e 60 mM.L⁻¹ resultaram em aumento significativo na massa seca do caule em relação a 0 mM.L⁻¹, porém a concentração 120 mM.L⁻¹ inibiu o crescimento.

4.1.2.5 Massa seca da parte aérea

A análise de variância da regressão mostrou que a variável massa seca da parte aérea foi significativa somente na regressão linear ($\alpha \leq 0,01$). Dessa forma, no intervalo

considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), a regressão linear mostrou que com o aumento da concentração de nitrogênio, a massa seca da parte aérea diminuiu linearmente. Para cada mM.L^{-1} de nitrogênio acrescido ao meio de cultura, foi observada uma diminuição de 0,0466 mg por plântula na massa seca da parte aérea (Figura 12).

Russowski & Nicoloso (2003) caracterizaram o efeito do nitrogênio ($0 \leq N \leq 150\%$ do meio MS) em plântulas de *P. glomerata*. Concluíram que o aumento da massa seca da parte aérea foi maior na concentração de 80% N, segundo a equação quadrática. Como em *A. blanchetiana*, houve um decréscimo nas maiores concentrações.

A variação da concentração de nitrogênio no meio em cultivo de *Laelia cinnabarina*, a omissão de nitrogênio reduziu drasticamente o crescimento das plântulas, causando a diminuição do acúmulo de massa seca, conforme Stancato & Faria (1996).

4.1.2.6 Massa seca das raízes

A análise de variância da regressão mostrou que a variável massa seca das raízes foi altamente significativa somente na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$). Dessa forma, no intervalo considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), a regressão mostrou que com o aumento da concentração de nitrogênio, a massa seca da raiz diminuiu linearmente. Para cada unidade de nitrogênio acrescida ao meio de cultura, a massa seca das raízes decresceu 0,0105 mg/plântula (Figura 13).

Resultados semelhantes foram obtidos por Russowski & Nicoloso (2003) estudando o efeito do nitrogênio ($0 \leq N \leq 150\%$ do meio MS) em plântulas de *P. glomerata*, concluíram que o aumento da massa seca das raízes foi maior na concentração de 80% de N, segundo a equação quadrática, como em *A. blanchetiana*, houve um decréscimo nas maiores concentrações.

4.1.2.7 Massa seca total

A análise de variância da regressão mostrou que a variável massa seca total foi altamente significativa somente na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$). Dessa forma, no intervalo considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), a regressão mostrou que com o aumento da concentração de nitrogênio, a massa seca total diminuiu linearmente. Para cada unidade de nitrogênio acrescida ao meio de cultura, a massa seca total decresceu 0,0571 mg/plântula (Figura 14).

Diferentemente dos resultados obtidos em *A. blanchetiana*, Grossi (2000) não encontrou diferença significativa na massa seca total em *A. nudicaulis*, conforme o aumento da concentração de nitrogênio ($1,78 \leq N \leq 30 \text{ mM.L}^{-1}$).

Porém, vários autores estudando outras espécies, encontraram resultados diversos como Russowski & Nicoloso (2003) que caracterizaram o efeito do nitrogênio ($0 \leq N \leq 150\%$ do meio MS) em plântulas de *P. glomerata*. Constataram que o aumento da massa seca total foi maior na concentração de 60% de N e tendeu a decrescer nas maiores concentrações de nitrogênio, segundo uma regressão quadrática. Em *Solanum tuberosum*, variedade 'Spunta', Avila et al. (1998) estudando os efeitos de nitrogênio na concentração 30 e 60 mM.L^{-1} , mostraram que a massa seca, tanto no meio líquido como no sólido, foi melhor na menor concentração. Donato et al. (2003) estudando as variedades de cana-de-açúcar eficientes no processo de assimilação de nitrogênio *in vitro* em meio MS em diferentes concentrações ($0,0 \leq N \leq 7,37 \text{ mM.L}^{-1}$) observaram que a maioria das variedades apresentou crescimento da massa seca, conforme o aumento da concentração de N, com exceção da variedade 'Co 997'.

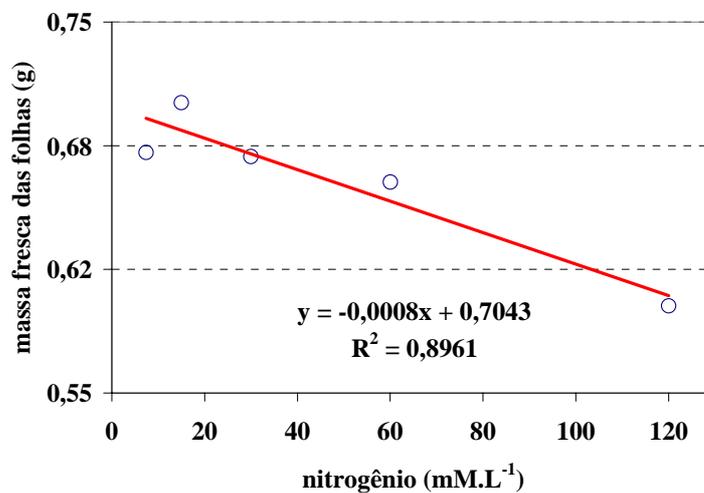


Figura 8 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca das folhas em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie *A. blanchetiana*

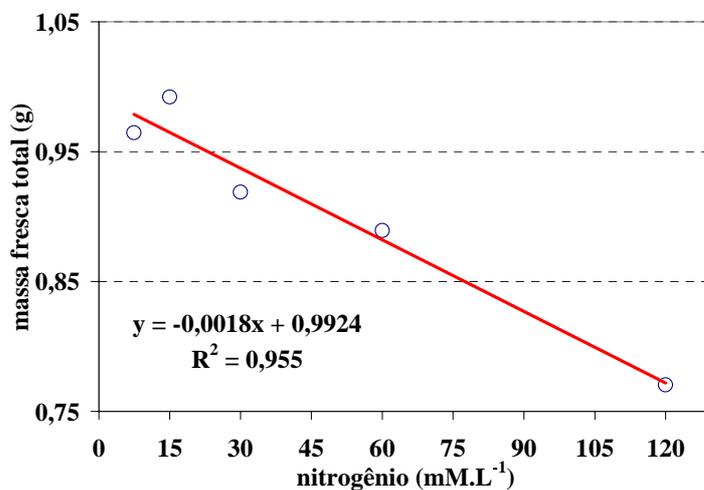


Figura 9 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca total em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie *A. blanchetiana*

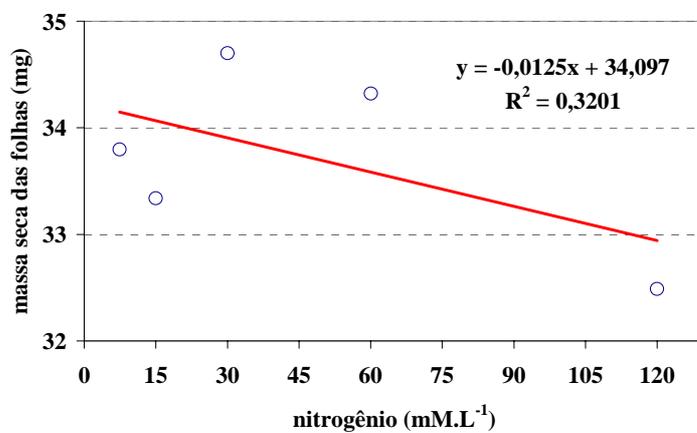


Figura 10 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das folhas em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie *A. blanchetiana*

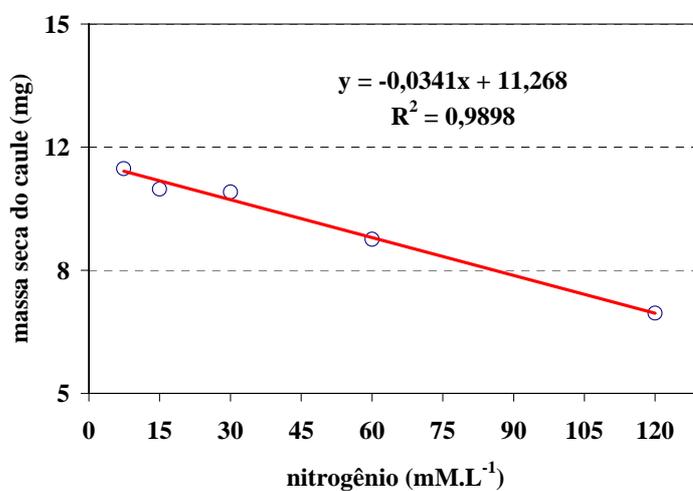


Figura 11 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca do caule em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie *A. blanchetiana*

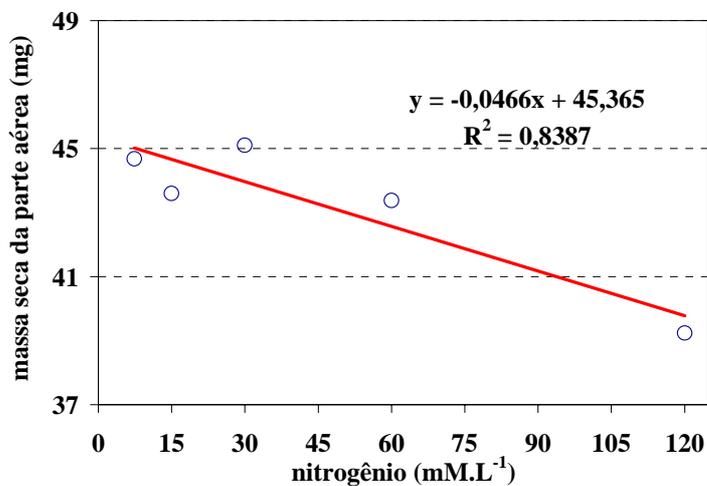


Figura 12 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca da parte aérea em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie *A. blanchetiana*

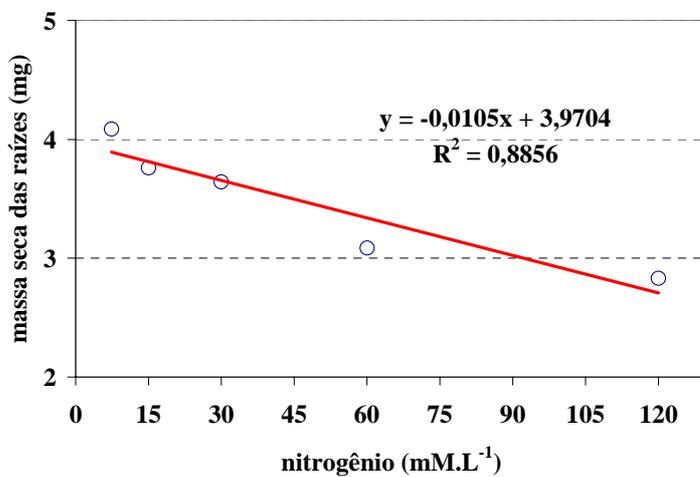


Figura 13 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das raízes em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie *A. blanchetiana*

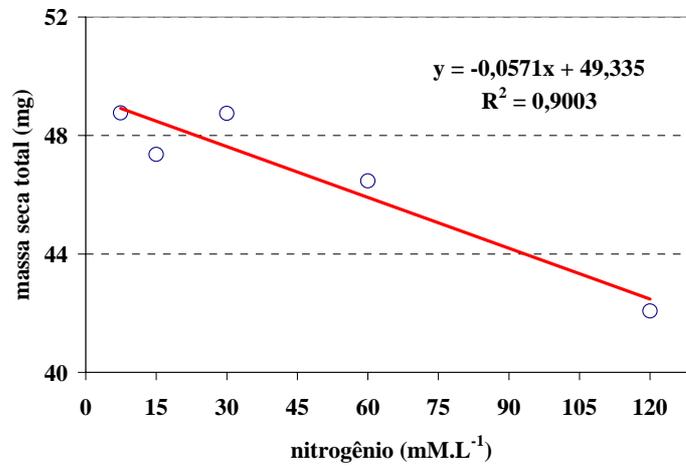


Figura 14 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca total em função das diferentes concentrações de nitrogênio na espécie *A. blanchetiana*

4.1.3 Teor de macronutrientes nas folhas

Os dados das variáveis do teor de macronutrientes nas folhas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 12.

Tabela 12. Médias do teor de macronutrientes nas folhas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de nitrogênio no meio de cultura e significância dos efeitos de regressão e teste F

N (mM.L ⁻¹)	média						
	N do	log (N)	macronutriente (g.kg ⁻¹)				
			P	K	Ca	Mg	S
7,5	18,23	1,2607	4,95	41,63	2,85	2,00	4,13
15	22,68	1,3555	5,35	38,05	3,23	2,00	4,58
30	28,95	1,4616	5,13	35,95	3,20	1,63	4,35
60	42,08	1,6240	5,38	29,63	3,25	1,48	4,60
120	58,78	1,7692	4,85	20,53	3,08	1,23	4,10
cv (%)	—	2,056	7,474	9,169	11,026	9,838	6,296
teste F	—	***	ns	***	ns	***	*
linear	—	***	ns	***	ns	***	ns
quadrática	—	***	ns	ns	ns	**	*
cúbica	—	ns	ns	ns	ns	ns	ns

do= dados originais; ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.1.3.1 Nitrogênio

A análise de variância da regressão mostrou que a variável teor de nitrogênio foi altamente significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e quadrática ($\alpha \leq 0,001$). Optou-se

pelo modelo de regressão quadrática que apresentou melhor coeficiente de determinação. O teor de nitrogênio nas folhas cresceu segundo a equação quadrática, com o aumento da concentração de nitrogênio no meio MS modificado. No intervalo considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), o maior teor de nitrogênio foi encontrado na concentração 120 mM.L^{-1} de nitrogênio do meio de cultura (Figura 15).

O mesmo comportamento foi observado por García et al. (1994) ao estudarem os efeitos de KNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NH_4NO_3 nas concentrações entre $5 \leq N \leq 30 \text{ mM.L}^{-1}$, quando constataram que o aumento da concentração de nitrogênio, resultou em aumento significativo no teor de N total nas plântulas de oliveira. O aumento do teor N total nas plântulas foi moderado com KNO_3 , mediano com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e alto com NH_4NO_3 , enquanto que KNO_3 e NH_4NO_3 promoveram aumento significativo no teor de N-protéico nas plântulas. Também, os resultados obtidos por Avila et al. (1998) em *S. tuberosum*, variedade 'Spunta', mostraram que o teor de nitrogênio no broto aumentou significativamente na maior concentração de nitrogênio (60 mM.L^{-1}), tanto no meio líquido como no meio sólido, quando utilizaram nitrogênio nas concentrações 30 e 60 mM.L^{-1} .

Em condições de cultivo *in vivo*, Poole & Conover (1976) que aplicaram nitrogênio em doses crescentes ($50 \leq N \leq 150 \text{ mg/vaso/mês}$) na bromélia *A. fasciata* e mostraram que o teor de nitrogênio nas folhas aumentou significativamente com o aumento da dose de nitrogênio. Da mesma forma, Dalldorf (1993), pesquisando a adubação de abacaxizeiro, utilizando 600 e 900 kg de nitrogênio por hectare, mostrou que com o aumento da dose de nitrogênio, houve um aumento significativo no teor de nitrogênio da folha D. Também, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de nitrogênio nas folhas aumentou linearmente com o aumento das doses de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700 \text{ kg de N/ha}$) em cultura do abacaxizeiro. O aumento da concentração do teor de molibdênio na folha D de abacaxizeiro proporcionou aumento linear do teor de NO_3^- nas folhas da coroa (Chairidchai, 2000), enquanto que a aplicação de Mn e Mg não mostrou nenhum efeito no teor de NO_3^- nos frutos de abacaxizeiro, segundo Chongpraditnun, 2000.

4.1.3.2 Fósforo

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa. O coeficiente de determinação mostrou que apenas 15,92% da variação do teor de fósforo foi explicado pela regressão linear com o aumento da concentração de nitrogênio ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$). A média geral foi ajustada pela regressão linear em 5,2247 g de fósforo por kg de massa seca de folhas (Figura 16).

Entretanto, experimento conduzido em vasos por Poole & Conover (1976) com a aplicação de nitrogênio em doses crescentes ($50 \leq N \leq 150 \text{ mg/vaso/mês}$) na bromélia *A. fasciata*, mostraram que o teor de fósforo nas folhas diminuiu significativamente com o aumento da dose de nitrogênio. Outra tendência foi encontrado por Spironello et al. (2004) que encontraram teor de fósforo nas folhas diminuindo linearmente com o aumento das doses de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700 \text{ kg de N/ha}$) em cultura do abacaxizeiro.

4.1.3.3 Potássio

A análise de variância da regressão mostrou que na variável potássio houve apenas um efeito linear ($\alpha \leq 0,001$) significativo. Assim, no intervalo considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), à medida que cresceu a concentração de N, houve uma diminuição linear no teor de potássio. Foi estimado que para cada mM.L^{-1} de nitrogênio acrescido ao meio de cultura, o teor de potássio diminuiu 0,1799 g por kg de massa seca de folhas (Figura 17).

Sarmiento et al. (1994) mostraram que aumento da concentração de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ($0 \leq N \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$) no meio de cultura, promoveu o decréscimo do teor de potássio nas plântulas de oliveira, enquanto que aumento da concentração de NH_4NO_3 ($0 \leq N \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$) no meio de cultura, promoveu o incremento no teor de potássio.

Em cultivo *in vivo*, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de potássio nas folhas diminuiu linearmente com o aumento das doses de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700$ kg de N/ha) em cultura do abacaxizeiro. O mesmo comportamento foi observado por Poole & Conover (1976) que aplicando nitrogênio ($50 \leq N \leq 150$ mg/vaso/mês) na bromélia *A. fasciata* e mostraram que o teor de potássio nas folhas diminuiu significativamente com o aumento da dose de nitrogênio.

4.1.3.4 Cálcio

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa. O coeficiente de determinação indicou que apenas 2,07% da variação do teor de cálcio nas folhas foi explicada pela regressão linear com o aumento da concentração de nitrogênio no meio ($7,5 \leq N \leq 120$ mM.L⁻¹). Assim, a média geral foi ajustada pela regressão linear em 3,0957 g de cálcio por kg de massa seca de folhas (Figura 18).

Porém, Sarmiento et al. (1994) mostraram que aumento da concentração de NH_4NO_3 ($0 \leq N \leq 20$ mM.L⁻¹) no meio de cultura, promoveu o aumento do teor de cálcio nas plântulas de oliveira. Também, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de cálcio nas folhas aumentou segundo uma regressão linear com o aumento das doses de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700$ kg de N/ha) em cultura do abacaxizeiro. Entretanto, semelhante aos resultados de *A. blanchetiana*, Poole & Conover (1976) mostram que aplicação de diferentes teores de nitrogênio ($50 \leq N \leq 150$ mg/vaso/mês) na bromélia *A. fasciata* não proporcionaram efeito significativo no teor de cálcio nas folhas.

4.1.3.5 Magnésio

A análise de variância da regressão mostrou que a variável teor de magnésio foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e quadrática ($\alpha \leq 0,01$). Assim, optou-se pelo

modelo quadrático com maior coeficiente de determinação, sendo que no intervalo considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$) decresceu linearmente com o incremento da concentração de nitrogênio, alcançando o menor teor de magnésio na concentração 120 mM.L^{-1} de nitrogênio do meio MS modificado (Figura 19).

Diferente dos resultados encontrados em *A. blanchetiana*, Sarmiento et al. (1994) mostraram que aumento da concentração de NH_4NO_3 ($0 \leq N \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$) no meio de cultura, promoveu o incremento do teor de magnésio nas plântulas de oliveira.

Em cultivo em condições de campo e estufa, Spironello et al. (2004) encontraram comportamento diferente, em que o teor de magnésio nas folhas não alterou significativamente com o aumento das doses de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700 \text{ kg de N/ha}$) em cultura do abacaxizeiro, bem como os resultados obtidos na bromélia *A. fasciata* por Poole & Conover (1976) que mostram que não houve efeitos de diferentes teores de nitrogênio ($50 \leq N \leq 150 \text{ mg/vaso/mês}$) no teor de magnésio nas folhas.

4.1.3.6 Enxofre

A análise de variância da regressão mostrou que na variável teor de enxofre, a regressão foi significativa somente na regressão quadrática ($\alpha \leq 0,05$). Dessa forma, no intervalo considerado ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), o teor de enxofre nas folhas cresceu quadraticamente até alcançar o maior valor na concentração $73,00 \text{ mM.L}^{-1}$ de nitrogênio. Posteriormente houve decréscimo até atingir o menor valor na concentração 120 mM.L^{-1} de nitrogênio (Figura 20).

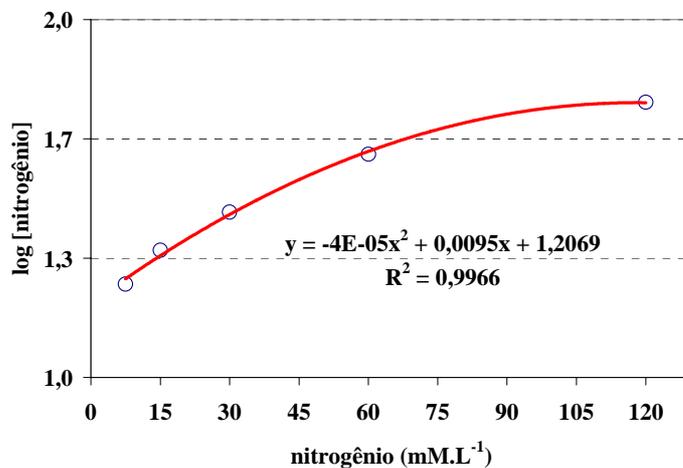


Figura 15 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de nitrogênio nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

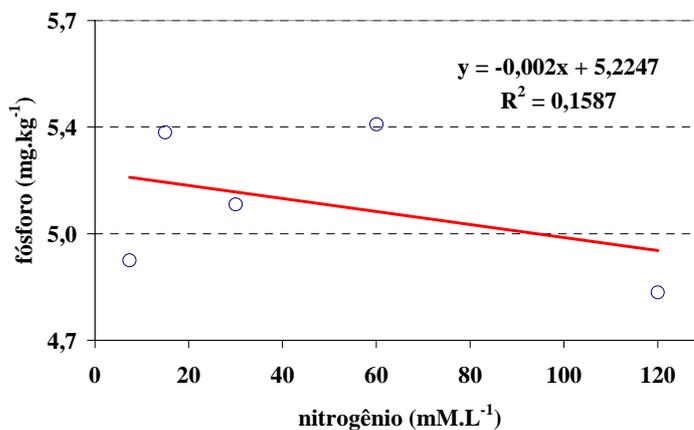


Figura 16 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de fósforo nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

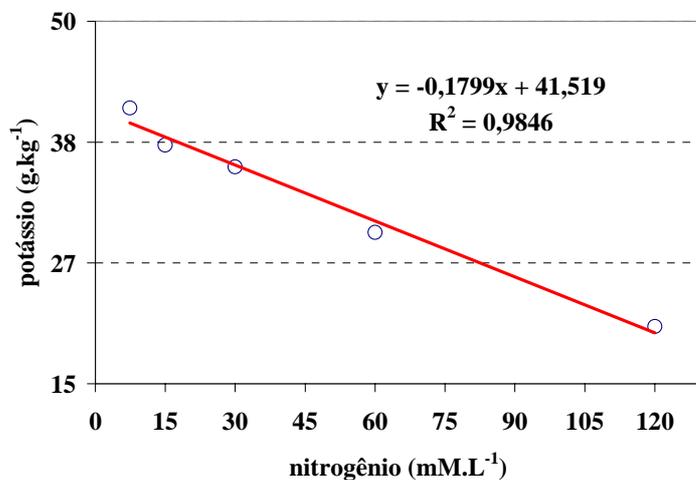


Figura 17 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de potássio nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

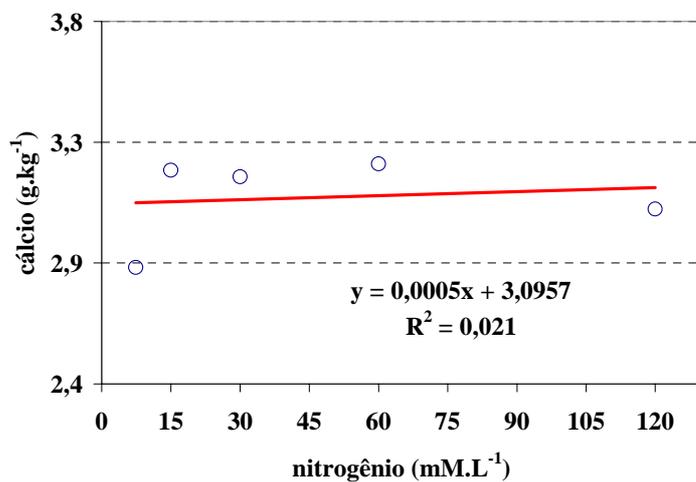


Figura 18 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cálcio nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

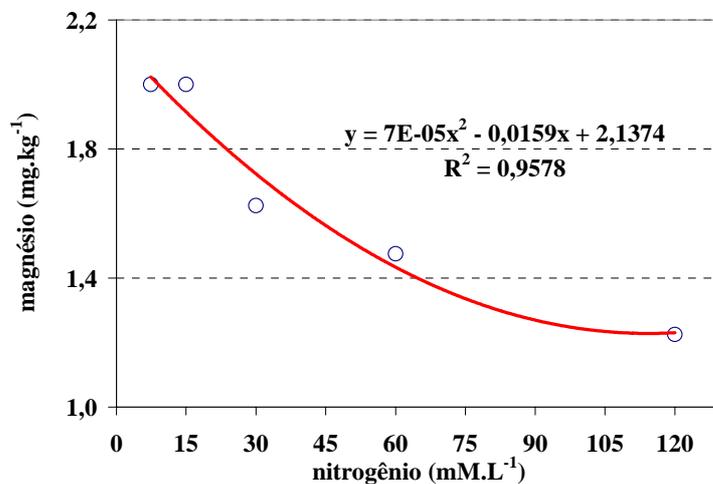


Figura 19 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de magnésio nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

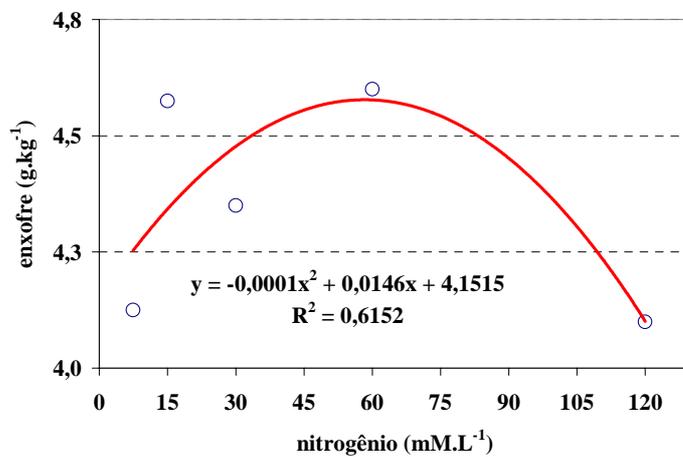


Figura 20 - Médias observadas e *funções* ajustadas para a variável teor de enxofre nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

4.1.4 Teor de micronutrientes nas folhas

Os dados das variáveis do teor de micronutrientes nas folhas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão estão dispostas na Tabela 13.

Tabela 13. Médias do teor de micronutrientes nas folhas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de nitrogênio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

N (mM.L ⁻¹)	média						
	B		micronutriente (mg.kg ⁻¹)				
	do	log (B)	Cu		Fe	Mn	Zn
			do	1/[Cu]			
7,5	55,98	1,7480	11,40	0,0877	477,50	152,97	136,15
15	56,60	1,7528	11,65	0,0858	505,00	146,78	144,00
30	65,80	1,8182	11,10	0,0901	478,75	141,80	136,93
60	51,20	1,7093	12,73	0,0786	496,25	123,98	130,40
120	36,95	1,5676	20,55	0,0487	530,00	101,83	117,60
cv (%)	—	9,027	—	18,592	10,562	7,528	8,022
teste F	—	ns	—	*	ns	***	*
linear	—	*	—	***	ns	***	***
quadrática	—	ns	—	ns	ns	ns	ns
cúbica	—	ns	—	ns	ns	ns	ns

do= dados originais; ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.1.4.1 Boro

A análise de variância da regressão mostrou que somente o modelo de regressão linear ($\alpha \leq 0,05$) foi significativo para a variável teor de boro. Dessa forma, com o

aumento da concentração de nitrogênio no meio de cultura ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$), diminuiu o teor de boro nas folhas, sendo que para cada mM.L^{-1} de nitrogênio acrescido ao meio, houve um decréscimo de 1,004 mg (antilog de 0,0018) no teor de boro por kg de massa seca de folha (Figura 21).

Da mesma forma, Spironello et al. (2004) encontraram o mesmo comportamento, em que o teor de boro nas folhas não mostrou diferença significativa, com o aumento das doses de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700 \text{ kg de N/ha}$) na cultura do abacaxizeiro.

4.1.4.2 Cobre

A análise de variância da regressão mostrou que somente o modelo linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativo na variável teor de cobre. Assim, a regressão linear mostrou que o inverso do teor de cobre decresceu linearmente, com o aumento da concentração de nitrogênio no meio de cultura ($7,5 \leq N \leq 120 \text{ mM.L}^{-1}$). Portanto, houve um crescimento no teor de cobre com o aumento da concentração (Figura 22).

Comportamento diferente foi encontrado por Spironello et al. (2004), no qual o teor de cobre nas folhas não mostrou diferença significativa, com o aumento das doses de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700 \text{ kg de N/ha}$) na cultura do abacaxizeiro.

4.1.4.3 Ferro

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. A média geral foi ajustada pela regressão linear em 479,6 g de ferro por kg de massa seca de folha (Figura 23).

Também, Spironello et al. (2004) encontraram esse mesmo comportamento, no qual o teor de ferro nas folhas não variou significativamente, com o aumento das doses de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700$ kg de N/ha) na cultura do abacaxizeiro.

4.1.4.4 Manganês

A análise de variância da regressão mostrou que na variável teor de manganês, apenas a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativa. Assim sendo, no intervalo considerado ($7,5 \leq N \leq 120$ mM.L⁻¹), os resultados mostraram que o teor de manganês nas folhas decresceu segundo uma equação linear, conforme o aumento da concentração de nitrogênio no meio MS modificado. Para cada unidade de nitrogênio acrescido ao meio de cultura, correspondeu ao decréscimo de 0,4505 mg.kg⁻¹ de manganês nas folhas (Figura 24).

Comportamento inverso foi observado por Spironello et al. (2004) no qual o teor de manganês nas folhas cresceu, segundo uma regressão linear, com o aumento das doses de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700$ kg de N/ha) na cultura do abacaxizeiro.

4.1.4.5 Zinco

A análise de variância da regressão mostrou que na variável teor de zinco, apenas a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativa. Assim sendo, no intervalo considerado ($7,5 \leq N \leq 120$ mM.L⁻¹), os resultados mostraram que o teor de zinco nas folhas decresceu segundo uma equação linear, conforme o aumento da concentração de nitrogênio no meio MS modificado. Para cada unidade de nitrogênio acrescido ao meio de cultura, correspondeu a um decréscimo de 0,2032 mg/kg de zinco nas folhas (Figura 25).

Na cultura do abacaxizeiro, comportamento diferente foi observado por Spironello et al. (2004) no qual o teor de manganês nas folhas não variaram significativamente, com o aumento das doses de nitrogênio ($0 \leq N \leq 700$ kg de N/ha).

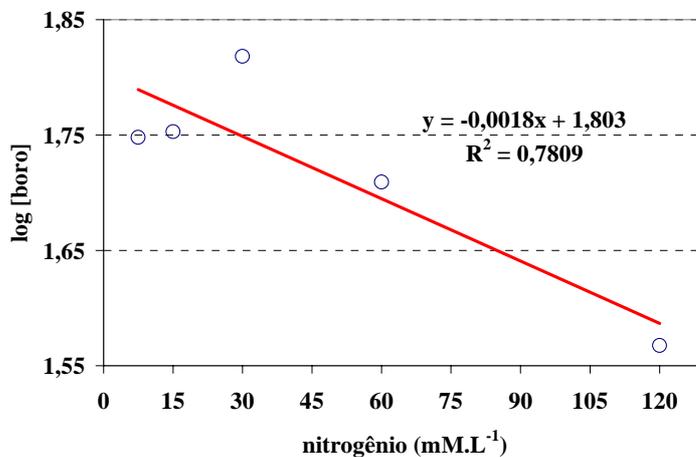


Figura 21 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de boro nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

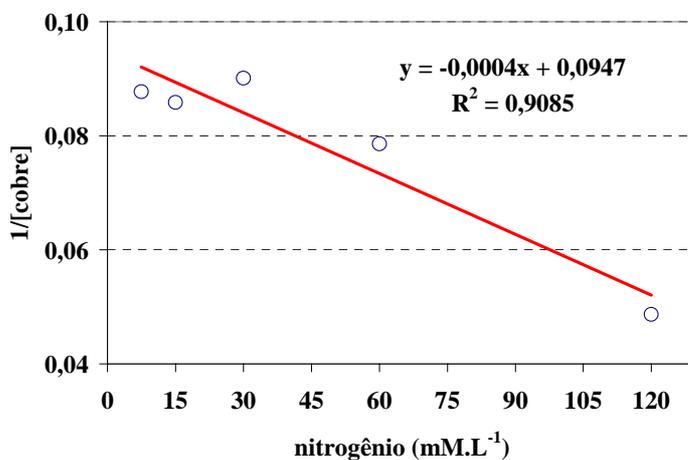


Figura 22 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cobre nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

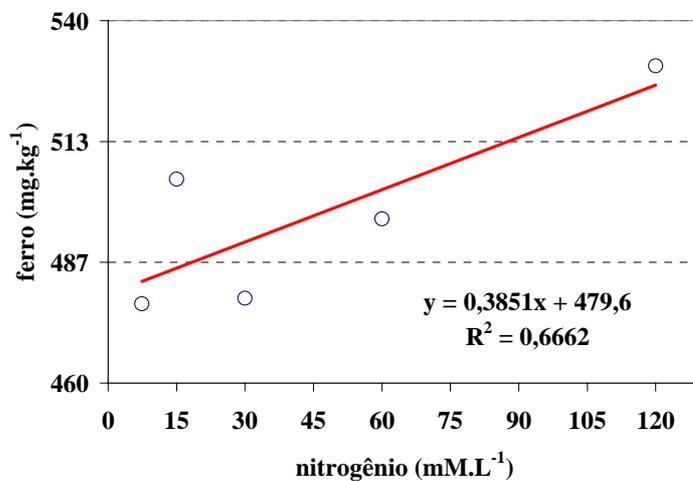


Figura 23 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de ferro nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

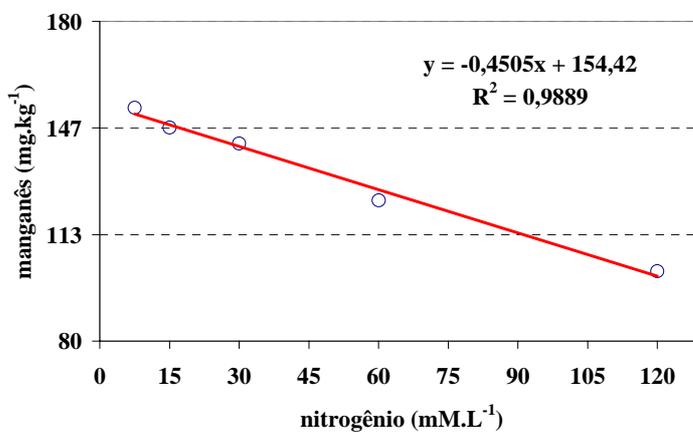


Figura 24 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de manganês nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

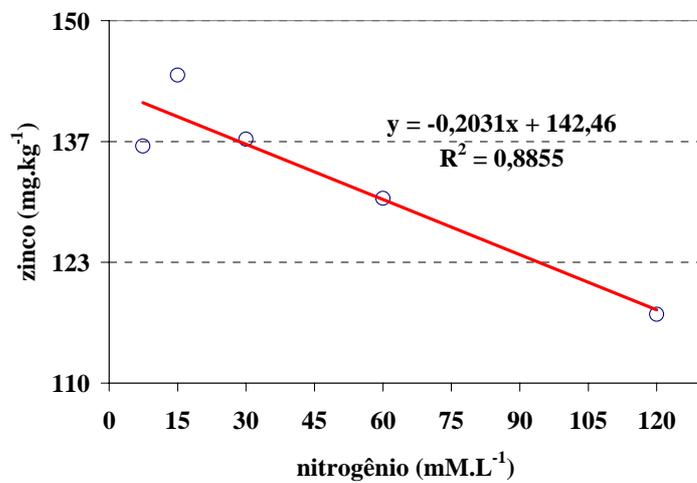


Figura 25 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de zinco nas folhas de *A. blanchetiana* em função das diferentes concentrações de nitrogênio

4.2 Efeitos de diferentes concentrações de fósforo no crescimento de *A. blanchetiana* *in vitro*

As variáveis de análise biométrica e do teor de macronutrientes e micronutrientes nas folhas foram analisadas com finalidade de determinar a influência do fósforo no crescimento *in vitro* de *A. blanchetiana*. Os seguintes resultados foram obtidos:

4.2.1 Análise biométrica de medidas

Os dados das variáveis biométricas de medidas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 14.

Tabela 14 - Médias das medidas biométricas de medidas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de fosfato no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

P (mM.L ⁻¹)	comprimento da plântula (cm)	folha c/ maior largura (mm)	média		comprimento da maior raiz (cm)	número de raízes (unidade)	
			diâmetro do caule (mm)	número de folhas (unidade)		do	log (no. de raízes)
0,15	11,7	5,02	2,46	9,4	5,9	7,2	0,8580
0,30	11,1	5,02	2,40	9,5	5,5	8,0	0,9020
0,60	11,7	5,16	2,40	9,6	6,3	7,7	0,8869
1,25	12,2	5,17	2,48	9,2	6,1	8,1	0,9102
2,50	11,9	5,39	2,52	9,5	5,5	8,1	0,9092
cv%	4,945	3,262	2,991	2,293	7,313	—	5,952
teste F	ns	*	ns	ns	ns	—	ns
linear	ns	**	*	ns	ns	—	ns
quadrática	ns	ns	ns	ns	*	—	ns
cúbica	ns	ns	ns	*	ns	—	ns

do= dados originais; ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.2.1.1 Comprimento da plântula

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. O coeficiente de determinação mostrou que apenas 33,44% da variação do comprimento da plântula foi explicada pela regressão linear em função do aumento da concentração de fósforo. A média geral ajustada pela regressão linear foi de 11,499 cm (Figura 26).

Da mesma forma, com aplicação de doses crescentes de fósforo ($0 \leq P \leq 12$ kg de P_2O_5 /ha) em abacaxizeiro, Selemat & Ramlah (1993) mostraram que não houve efeito no crescimento em altura da planta.

Diferente dos resultados obtidos em *A. blanchetiana*, Russowski & Nicoloso (2003) caracterizaram o efeito da variação na concentração de fósforo entre $0 \leq P \leq 150\%$ desse elemento em relação ao meio de cultura MS, em *P. glomerata*. O crescimento em altura das brotações apresentou ponto de máxima eficiência na concentração 60% de fósforo, tendendo a diminuir, conforme o aumento da concentração no meio, segundo uma regressão cúbica.

Na espécie *S. allagophylla*, Gomes & Shepherd (2000) utilizando KH_2PO_4 nas concentrações $0 \leq P \leq 1,24$ mM.L⁻¹ e de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ nas concentrações $0 \leq Mg \leq 1,50$ mM.L⁻¹, encontraram maior comprimento do eixo principal nos explantes cultivados em meio MS com 100% da concentração de KH_2PO_4 e de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ e em meio MS com ausência desses elementos.

4.2.1.2 Folha com maior largura

A análise de variância da regressão mostrou que na variável folha com maior largura somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,01$) foi significativa. No intervalo experimental considerado ($0,15 \leq P \leq 2,5$), os resultados mostraram que a folha com maior largura

creceu linearmente com o aumento da concentração de fosfato no meio MS modificado. Para cada mM.L^{-1} de fosfato adicionado ao meio de cultura, houve um incremento de $0,1535 \text{ mM.L}^{-1}$ na largura da folha (Figura 27).

4.2.1.3 Número de folhas

A análise de variância da regressão mostrou que a variável número de folhas foi significativa somente no modelo cúbico ($\alpha \leq 0,05$). Com o aumento da concentração de fosfato no meio de cultura ($0,15 \leq P \leq 2,5$), a regressão variou cubicamente, com maior número de folhas na concentração $0,53 \text{ mM.L}^{-1}$ de fosfato e o menor na concentração $1,86 \text{ mM.L}^{-1}$ de fosfato (Figura 28).

Segundo Russowski & Nicoloso (2003), *P. glomerata* no meio MS alcançou o maior número de folhas na concentração 140%, quando o efeito da variação de fosfato entre $0 \leq P \leq 150\%$ em relação à concentração padrão do meio de cultura MS foi estudado.

Na espécie *S. allagophylla*, Gomes & Shepherd (2000) utilizando KH_2PO_4 nas concentrações $0 \leq P \leq 1,24 \text{ mM.L}^{-1}$ e de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ nas concentrações $0 \leq \text{Mg} \leq 1,50 \text{ mM.L}^{-1}$, encontraram maior número de folhas nas plantas do meio MS com 100% da concentração de KH_2PO_4 e de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, quanto como na ausência destes nutrientes.

Em plantas da espécie *A. comosus* em cultivo, Selemat & Ramlah (1993) mostraram que com aumento da dose de fósforo ($0 \leq x \leq 12 \text{ kg de P}_2\text{O}_5/\text{ha}$), o número de folhas não variou significativamente.

4.2.1.4 Diâmetro de caule

A análise de variância da regressão mostrou que na variável diâmetro do caule, foi significativo somente no modelo linear ($\alpha \leq 0,05$). Com o aumento da concentração de fosfato no meio de cultura ($0,15 \leq P \leq 2,5$), o diâmetro do caule cresceu linearmente,

sendo que para cada mM.L^{-1} de fosfato acrescido ao meio, houve um aumento de 0,0439 mM.L^{-1} no diâmetro (Figura 29).

4.2.1.5 Número de raízes

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa. Portanto, não houve diferença significativa entre os efeitos dos tratamentos. O coeficiente de determinação mostrou que 42,63% da variação do logaritmo do número de raízes foi explicada pela regressão linear com o aumento da concentração de fosfato no meio de cultura ($0,15 \leq P \leq 2,5$). A média geral foi ajustada em 7,57 folhas pela regressão linear (Figura 30).

Resultados semelhantes foram observados por Russowski & Nicoloso (2003), onde o aumento da concentração de fosfato não provocou nenhum efeito no número de raízes em *P. glomerata*, quando cultivados entre $0 \leq P \leq 150\%$ de fosfato em relação à concentração padrão do meio de cultura MS.

A espécie *S. allagophylla* mostrou maior número de raízes nos explantes cultivados em meio MS com 100% da concentração de KH_2PO_4 e de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e em meio MS com ausência desses elementos, utilizando-se KH_2PO_4 nas concentrações $0 \leq P \leq 1,24 \text{ mM.L}^{-1}$ e $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ nas concentrações $0 \leq \text{Mg} \leq 1,50 \text{ mM.L}^{-1}$ (Gomes & Shepherd, 2000)

4.2.1.6 Comprimento da maior raiz

A análise de variância da regressão mostrou que na variável comprimento da maior raiz, somente o modelo quadrático ($\alpha \leq 0,05$) foi significativo. O coeficiente de determinação mostrou que 47,72% da variação do comprimento da maior raiz foi

explicada pela regressão quadrática. O comprimento da maior raiz atingiu o seu maior valor na concentração $1,23 \text{ mM.L}^{-1}$ (Figura 31).

Comportamento diferente foi observado na espécie *S. allagophylla* que mostrou raízes com maior crescimento das raízes nos explantes cultivados em meio MS com 100% da concentração de KH_2PO_4 e de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e em meio MS com ausência desses elementos, utilizando-se KH_2PO_4 nas concentrações $0 \leq \text{P} \leq 1,24 \text{ mM.L}^{-1}$ e $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ nas concentrações $0 \leq \text{Mg} \leq 1,50 \text{ mM.L}^{-1}$ (Gomes & Shepherd, 2000). Os autores constataram que essa espécie apresenta eficiência na utilização de tais sais presentes nas concentrações do meio MS e utilizou os nutrientes armazenados em seus tecidos quando há ausência deles no meio, sugerindo estratégias de economia e utilização de nutrientes. Já em combinações de menores concentrações de KH_2PO_4 e/ou de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e/ou ausência de um deles, o crescimento foi significativamente menor. Talvez as combinações de concentrações de tais sais nestes tratamentos tenham interferido na absorção ou na translocação de outros nutrientes essenciais ao crescimento dos explantes.

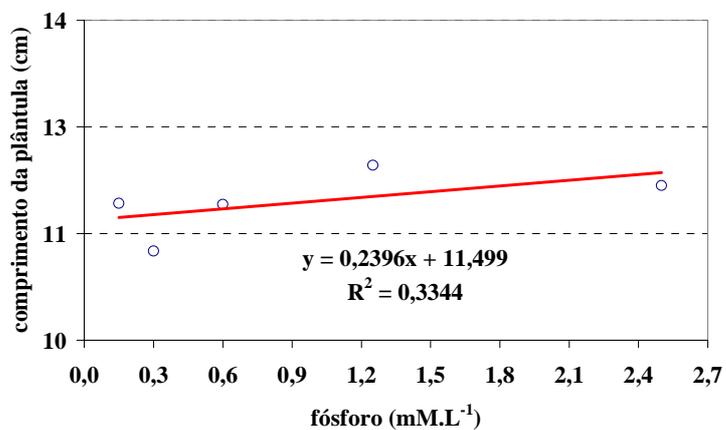


Figura 26 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da plântula em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

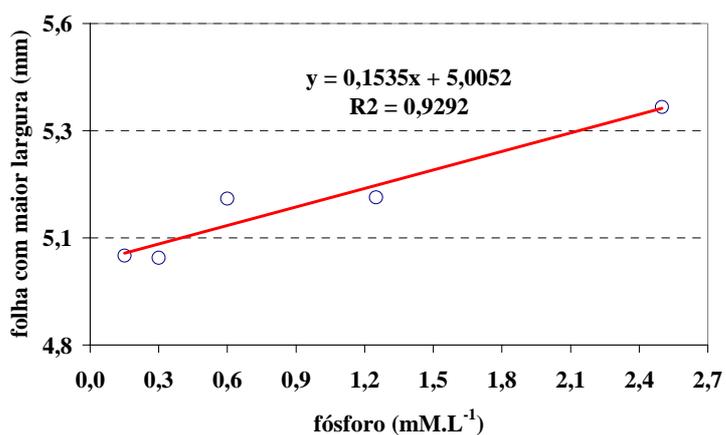


Figura 27 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável folha com maior largura em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

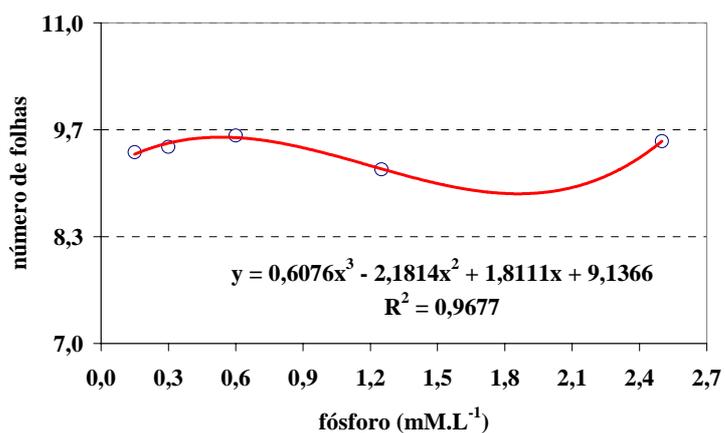


Figura 28 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de folhas em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

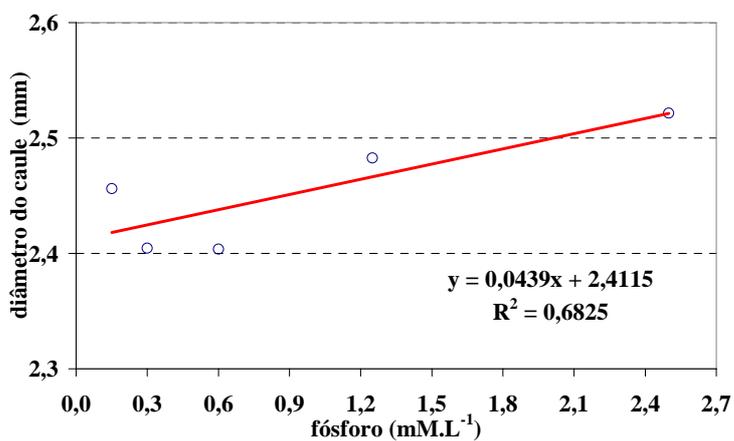


Figura 29 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável diâmetro de caule em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

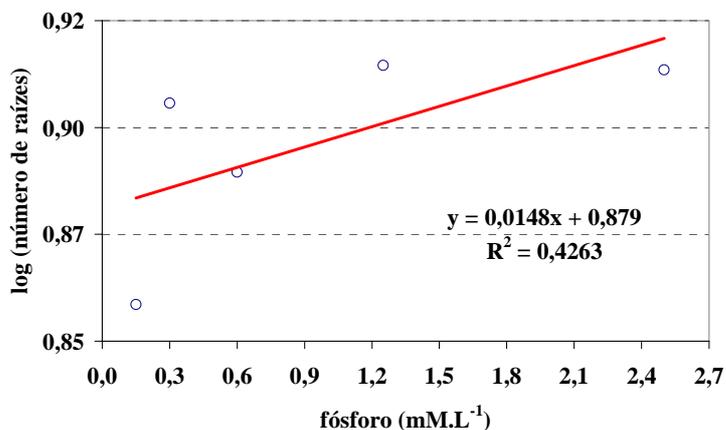


Figura 30 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de raízes em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

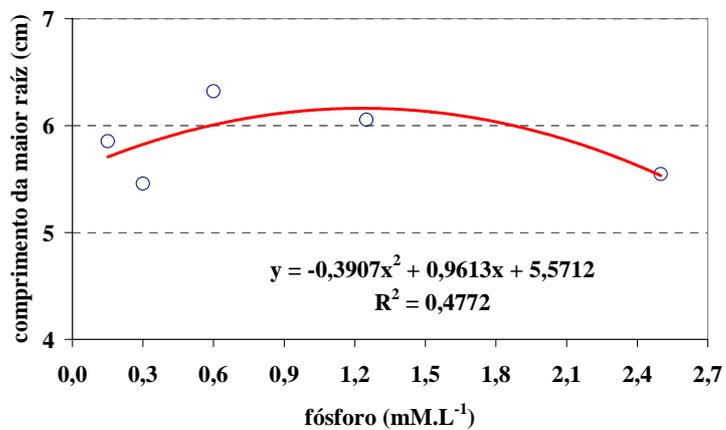


Figura 31 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da maior raiz em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

4.2.2 Análise biométrica de massas

Os dados das variáveis biométricas de massas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 15.

Tabela 15. Médias das medidas biométricas de massas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de fósforo no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

P (mM.L ⁻¹)	média da massa/ plântula						
	fresca (g)		seca (mg)				
	folha	total	folha	caule	raízes	total	parte aérea
0,15	0,57	0,68	30,45	2,21	5,58	38,25	32,66
0,30	0,56	0,68	29,35	2,19	4,93	36,46	31,54
0,60	0,59	0,73	31,48	2,28	6,09	39,85	33,76
1,25	0,60	0,77	30,92	2,34	6,35	39,61	33,26
2,5	0,66	0,86	34,20	2,59	7,08	43,86	36,78
cv%	5,053	3,297	4,585	9,711	11,426	4,862	4,772
teste F	***	***	**	ns	**	***	**
linear	***	***	***	**	***	***	***
quadrática	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
cúbica	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.2.2.1 Massa fresca das folhas

A análise de variância da regressão mostrou que na variável massa fresca das folhas somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativa. No intervalo considerado ($0,15 \leq P \leq 2,5$), os resultados mostraram que a massa fresca das folhas cresceu

linearmente com o aumento da concentração de fosfato no meio MS modificado. Para cada unidade de fosfato adicionado ao meio, houve um incremento de 0,043 g na massa fresca da folha (Figura 32).

4.2.2.2 Massa fresca total

A análise de variação da regressão mostrou que na variável massa fresca total somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativa. No intervalo experimental considerado ($0,15 \leq P \leq 2,5$), os resultados mostraram que a massa fresca total cresceu linearmente com o incremento da concentração de fosfato no meio MS modificado. Dessa forma, para cada mM.L^{-1} de fosfato acrescido ao meio MS modificado, houve um incremento de 0,0751 g na produção de massa fresca total (Figura 33).

Da mesma forma, Dijk & Eck (1995b) mostraram a tendência de aumento linear na produção de massa fresca em *D. majalis* nas maiores concentrações de fosfato no meio. Porém, os mesmos autores constataram que *D. praetermissa*, diferente de *D. majalis*, diminuiu a produção de fitomassa.

4.2.2.3 Massa seca das folhas

A análise de variância da regressão mostrou que na variável massa seca das folhas, somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativa. No intervalo experimental considerado ($0,15 \leq P \leq 2,5$), os resultados mostraram que a massa seca das folhas cresceu linearmente com o aumento da concentração de fosfato no meio MS modificado. Assim, para cada mM.L^{-1} de fosfato acrescido ao meio de cultura, houve um incremento de 1,7026 mg na produção de massa seca das folhas (Figura 34).

Porem, em cultura do abacaxizeiro com aplicação de doses crescentes de fósforo ($0 \leq P \leq 12 \text{ kg de } P_2O_5/\text{ha}$), Selemat & Ramlah (1993) mostraram que não houve efeito no produção de massa seca da folha D.

4.2.2.4 Massa seca do caule

A análise de variância da regressão mostrou que na variável massa seca do caule, somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,01$) foi significativa. No intervalo experimental considerado ($0,15 \leq P \leq 2,50$), a análise dos resultados mostrou que a massa seca do caule cresceu linearmente, conforme o aumento da concentração de fosfato no meio MS modificado. Para cada mM.L^{-1} de fosfato acrescido ao meio de cultura, houve um incremento de 0,1646 mg na produção de massa seca do caule (Figura 35).

4.2.2.5 Massa seca da parte aérea

A análise de variância da regressão mostrou que somente um efeito linear significativo ($\alpha \leq 0,001$) foi observado na variável massa seca da parte aérea. No intervalo experimental considerado ($0,15 \leq P \leq 2,5$), os resultados mostraram que a massa seca da parte aérea cresceu linearmente com o aumento da concentração de fosfato no meio MS modificado. Para cada mM.L^{-1} de fosfato acrescido ao meio de cultura, houve um incremento de 1,8673 mg na produção de massa seca da parte aérea (Figura 36).

Resultados semelhantes foram encontrados por Elliott (1993) em *Alstroemeria* na qual a massa fresca de brotos aumentou significativamente nos meios com as maiores concentrações ($1,25 \leq P \leq 2,5 \text{ mM.L}^{-1}$), quando comparado aos meios com menores concentrações ($0 \leq P \leq 0,05 \text{ mM.L}^{-1}$).

Na espécie *P. glomerata*, Russowski & Nicoloso (2003) constataram que o crescimento em massa seca da parte aérea da plântula apresentou o ponto de máxima eficiência técnica na concentração 50% de fosfato, quando variaram a concentração entre $0 \leq P \leq 150\%$ de fosfato em relação ao meio MS.

Stancato & Faria (1996) avaliaram os efeitos *in vitro* da omissão de macro e micronutrientes em *L. cinnabarina*, uma orquídea rupícola, cujos resultados mostraram que a omissão de fosfato reduziu drasticamente o crescimento das plântulas, causando a diminuição do acúmulo de massa seca.

4.2.2.6 Massa seca das raízes

A análise da variância da regressão mostrou que houve somente um efeito linear significativo ($\alpha \leq 0,001$) para a variável massa seca das raízes. No intervalo considerado ($0,15 \leq P \leq 2,5$), os resultados mostraram que a massa seca das raízes cresceu linearmente com o aumento da concentração de fosfato no meio MS modificado. Para cada unidade de fosfato acrescido ao meio de cultura, houve um incremento de 0,7561 mg na produção de massa seca das raízes (Figura 37).

Entretanto, Russowski & Nicoloso (2003) constaram que a máxima produção de matéria seca em *P. glomerata* foi na concentração 85% de P no meio de cultura MS, com queda na produção de massa seca, conforme o aumento da concentração para 150% de N, segundo uma equação do segundo grau.

4.2.2.7 Massa seca total

A análise de variância da regressão mostrou somente um efeito linear significativo ($\alpha \leq 0,001$) para a variável massa seca total, indicando que dentro do

intervalo experimental considerado ($0,15 \leq P \leq 2,50$), à medida que a concentração de fosfato aumentou, houve um aumento linear na massa seca total. Dessa forma, para cada mM.L^{-1} de fosfato acrescido ao meio de cultura, a massa seca total cresceu em 2,6234 mg (Figura 38).

De forma semelhante, Ilieva & Pavlov (1996) cultivando células em suspensão de *L. vera* em meio de cultura, contendo $0,62 \leq P \leq 3,75 \text{ mM.L}^{-1}$ de KH_2PO_4 , mostraram que a concentração $2,50 \text{ mM.L}^{-1}$ produziu a maior massa seca de células. Também, no cultivo *in vitro* de *P. glomerata*, o crescimento em massa seca total da plântula mostrou tendência ao aumento até às proximidades da concentração 80% de fosfato, quando cultivados entre $0 \leq P \leq 150\%$ de fosfato em relação à concentração padrão do meio de cultura MS, segundo Russowski & Nicoloso (2003).

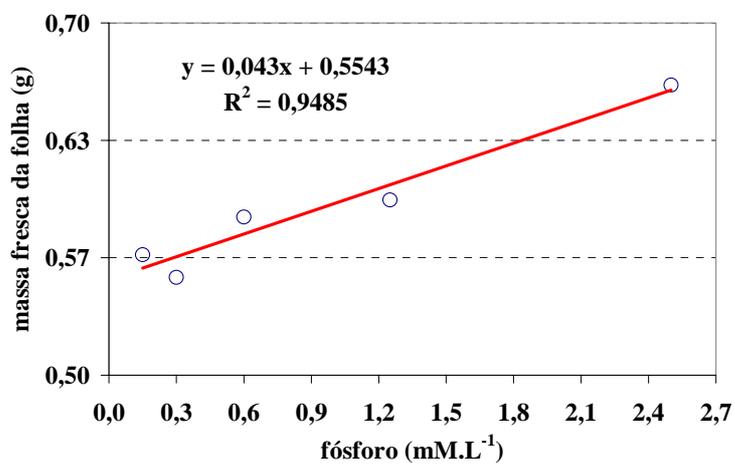


Figura 32 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca das folhas em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

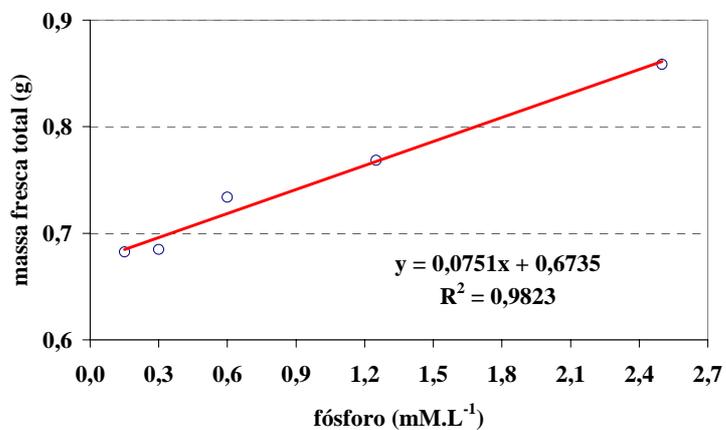


Figura 33 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca total em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

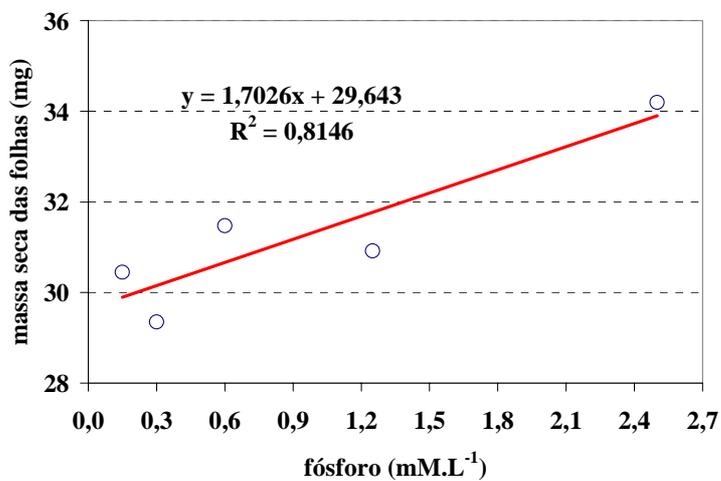


Figura 34 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das folhas em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

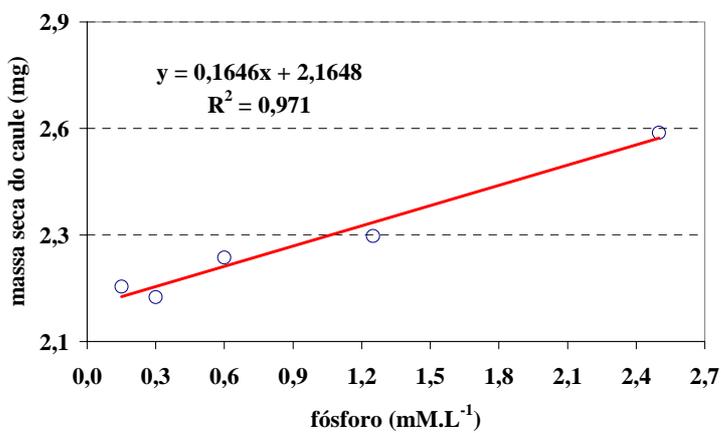


Figura 35 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca do caule em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

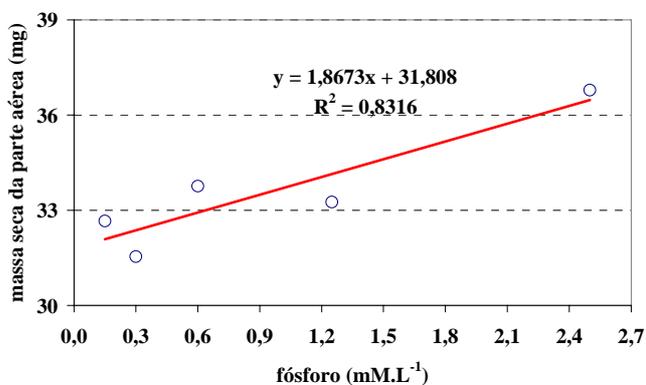


Figura 36 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca da parte aérea em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

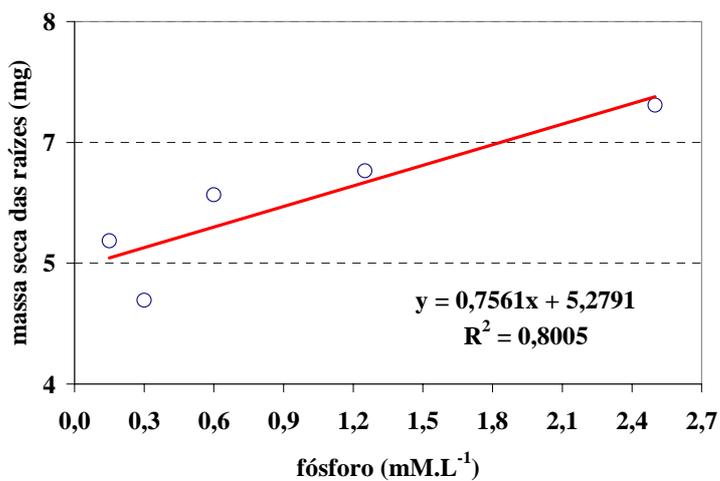


Figura 37 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das raízes em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

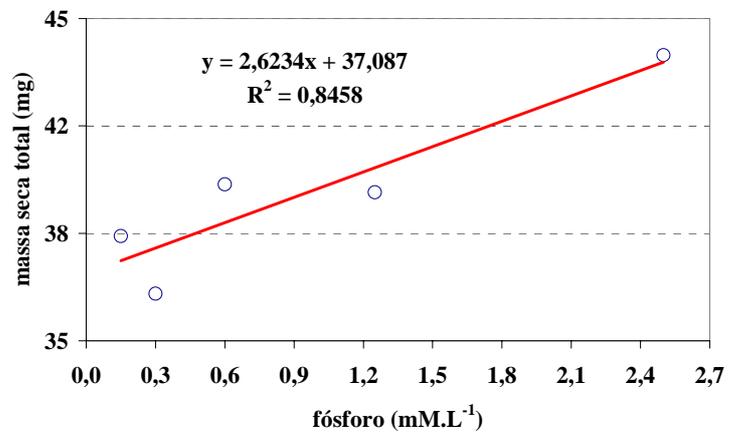


Figura 38 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca total em função da concentração de fósforo na espécie *A. blanchetiana*

4.2.3 Teor de macronutrientes nas folhas

Os dados das variáveis teor de macronutrientes nas folhas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 16.

Tabela 16. Médias das medidas de teor de macronutrientes nas folhas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de fosfato no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

P (mM.L ⁻¹)	média					
	macronutriente (g.kg ⁻¹)					
	N	P	K	Ca	Mg	S
0,15	34,35	2,88	65,45	3,28	1,53	3,40
0,30	34,28	2,95	64,45	3,13	1,55	3,20
0,60	36,08	3,85	65,33	3,23	1,43	3,45
1,25	33,73	3,95	62,08	2,35	1,35	3,38
2,50	33,50	5,25	65,35	2,65	1,43	3,70
cv (%)	5,246	12,919	3,643	11,851	5,097	7,142
teste F	ns	***	ns	**	**	ns
linear	ns	***	ns	**	*	*
quadrática	ns	ns	ns	*	**	ns
cúbica	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.2.3.1 Nitrogênio

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa. Portanto, não houve diferença significativa entre os efeitos dos

tratamentos. O coeficiente de determinação mostrou que apenas 28,28% da variação do teor de nitrogênio foi explicada pela regressão linear. A média geral foi ajustada pela regressão linear em 34,923 g de fosfato por kg de massa seca nas folhas (Figura 39).

Na bromélia *A. fasciata* cultivada em vasos, o aumento da dose de fósforo ($25 \leq P \leq 75$ mg de P/vaso/mês) mostrou que o teor de nitrogênio nas folhas não alterou significativamente (Poole & Conover, 1976), da mesma forma que *A. blanchetiana*. Em abacaxizeiro foi observado o mesmo comportamento por Spironello et al. (2004), onde o teor de nitrogênio na folha D não variou significativamente na adubação fosfatada ($0 \leq P \leq 320$ kg de P_2O_5 /ha).

4.2.3.2 Fósforo

A análise de variância da regressão mostrou a variável teor de fósforo foi significativa apenas na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$). No intervalo considerado ($0,15 \leq P \leq 2,5$), o teor de fosfato cresceu linearmente, à medida que a concentração de fosfato aumentou no meio de cultura. Assim, para cada $mM.L^{-1}$ de fosfato acrescido ao meio MS modificado, houve um incremento de 0,9706 mg no teor de fósforo nas folhas (Figura 40).

Em condições *in vitro* foi observado o mesmo comportamento por Marchal & Alvard (1988) em abacaxizeiro, em que o fosfato foi absorvido em grande quantidade e rapidamente do meio de cultura MS, mostrando consumo desse nutriente pelas plântulas. Da mesma forma, Elliott (1993) trabalhando com *Alstroemeria* 'Parigo Pink' em meio de cultura MS, encontrou resultados com a mesma tendência de crescimento do teor de fosfato nos brotos, com o aumento da concentração de fosfato no meio de cultura.

Em condições de campo foram constatados os mesmos resultados por Poole & Conover (1976) em *A. fasciata* em vasos, em que o aumento da dose de fósforo ($25 \leq P \leq 75$ mg de P/vaso/mês) mostrou que o teor de fósforo nas folhas cresceu significativamente. Porém, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de fósforo nas

folha D não foi significativo na adubação com o fósforo ($0 \leq P \leq 320$ kg de P_2O_5 /ha) em cultura do abacaxizeiro.

4.2.3.3 Potássio

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa na variável teor de potássio, não havendo diferença entre os tratamentos. O valor 0,0061 do coeficiente de determinação, próximo a zero, mostrou que não houve inclinação na reta ajustada nessa variável com o aumento da concentração de fosfato ($0,15 \leq P \leq 2,50$). Deduziu-se que o intercepto da regressão linear estimou o teor médio do potássio em 64,642 g nas folhas (Figura 41).

A mesma tendência foi constatada no cultivo na bromélia de *A. fasciata* em que o aumento da dose de fósforo ($25 \leq P \leq 75$ mg de P/vaso/mês) em vasos não teve efeito significativo no teor de potássio nas folhas (Poole & Conover, 1976). Por outro lado, Spironello et al. (2004) mostraram que houve aumento linear no teor de potássio na folha D na adubação com o fósforo ($0 \leq P \leq 320$ kg de P_2O_5 /ha) em cultura do abacaxizeiro.

4.2.3.4 Cálcio

A análise de variância da regressão mostrou que a variável cálcio foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,01$) e quadrática ($\alpha \leq 0,05$). Optou-se pela regressão polinomial quadrática por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($0,15 \leq P \leq 2,50$), a análise foliar mostrou que o teor de cálcio decresceu, segundo a regressão quadrática, até atingir as coordenadas com o menor teor de cálcio na

concentração $1,77 \text{ mM.L}^{-1}$ de fosfato no meio MS modificado. A partir do teor mínimo, a curva tendeu a crescer levemente. (Figura 42).

Comportamento semelhante foi observado no cultivo de *A. fasciata*, em vasos, por Poole & Conover (1976), que com o aumento da dose de fósforo ($25 \leq P \leq 75$ mg de P/vaso/mês) em que o teor de cálcio nas folhas decresceu significativamente.

Diferente dos resultados apresentados, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de potássio na folha D não variou significativamente na adubação com o fósforo ($0 \leq P \leq 320$ kg de $\text{P}_2\text{O}_5/\text{ha}$) em cultura do abacaxizeiro.

4.2.3.5 Magnésio

A análise de variância da regressão mostrou que a variável magnésio foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,05$) e quadrática ($\alpha \leq 0,01$). Optou-se pela regressão polinomial quadrática por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($0,15 \leq P \leq 2,50$), a análise foliar mostrou que o teor de magnésio decresceu segundo a regressão quadrática, até atingir as coordenadas com o menor teor de cálcio na concentração $1,59 \text{ mM.L}^{-1}$ de fosfato no meio MS modificado. A partir do teor mínimo, a curva tendeu a crescer levemente (Figura 43).

O aumento da dose de fósforo ($25 \leq P \leq 75$ mg de P/vaso/mês) no cultivo de *A. fasciata* em vasos mostrou que não houve variação no teor de magnésio nas folhas (Poole & Conover, 1976). Da mesma forma, os resultados apresentados por Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de magnésio na folha D não variou significativamente na adubação com o fósforo ($0 \leq P \leq 320$ kg de $\text{P}_2\text{O}_5/\text{ha}$) em cultura do abacaxizeiro.

4.2.3.6 Enxofre

A análise de variância da regressão mostrou que a variável teor de enxofre foi significativa apenas na regressão linear ($\alpha \leq 0,05$). No intervalo experimental

considerado ($0,15 \leq P \leq 2,50$), a análise foliar mostrou que o teor de enxofre cresceu segundo a regressão linear com o aumento da concentração de fosfato. Para cada mM.L^{-1} de fosfato acrescido ao meio MS modificado, houve um incremento de 0,1547 mg no teor de enxofre nas folhas (Figura 44).

Porém, Spironello et al. (2004) mostraram que em doses crescentes de fósforo ($0 \leq P \leq 320$ kg de $\text{P}_2\text{O}_5/\text{ha}$), o teor de enxofre nas folhas D não foi significativa.

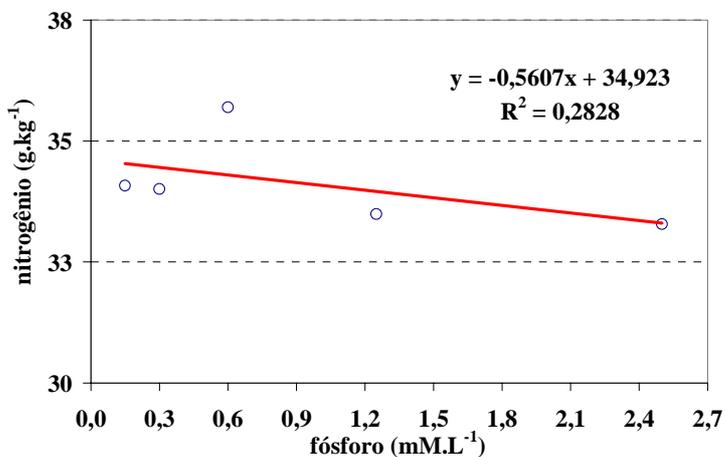


Figura 39 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de nitrogênio em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

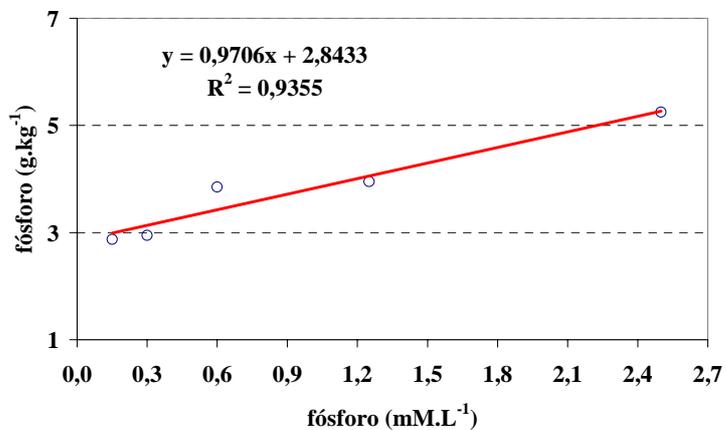


Figura 40 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de fósforo em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

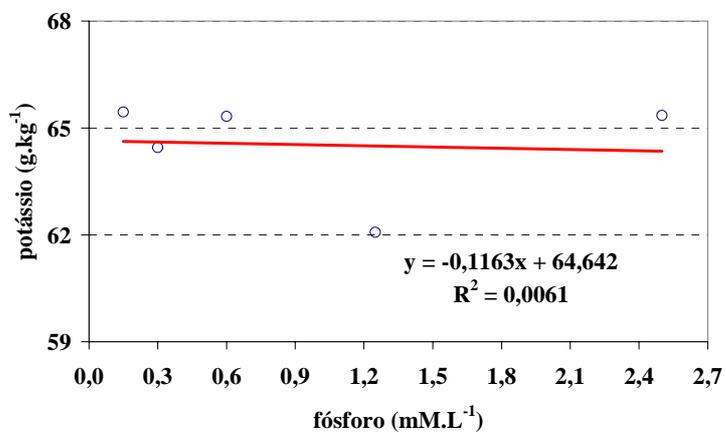


Figura 41 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de potássio em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

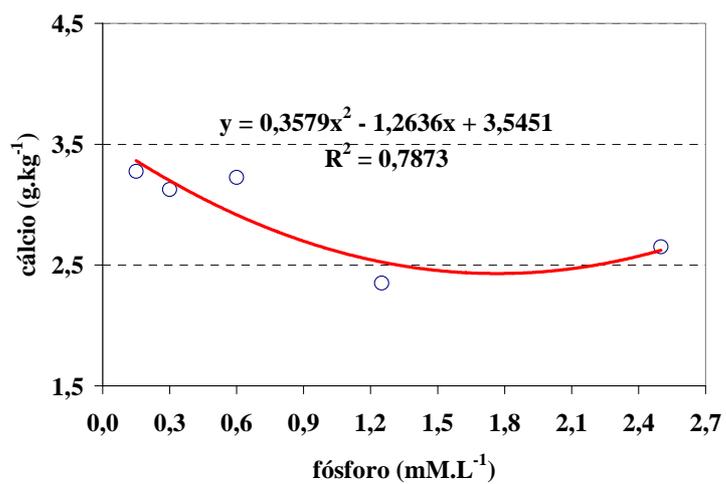


Figura 42 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cálcio em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

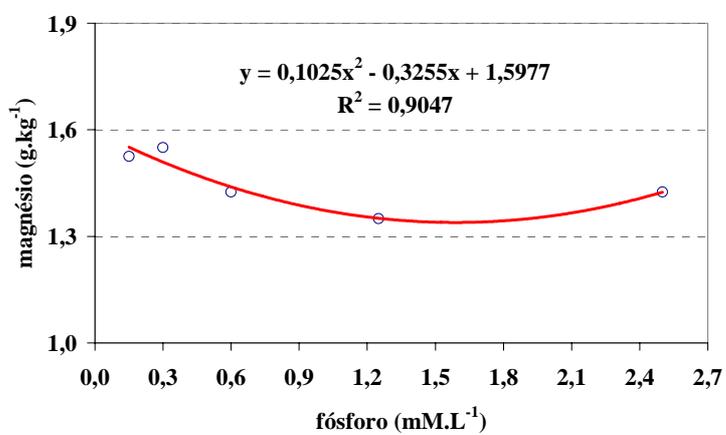


Figura 43 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de magnésio em função da concentração de fósforo na espécie *A. blanchetiana*

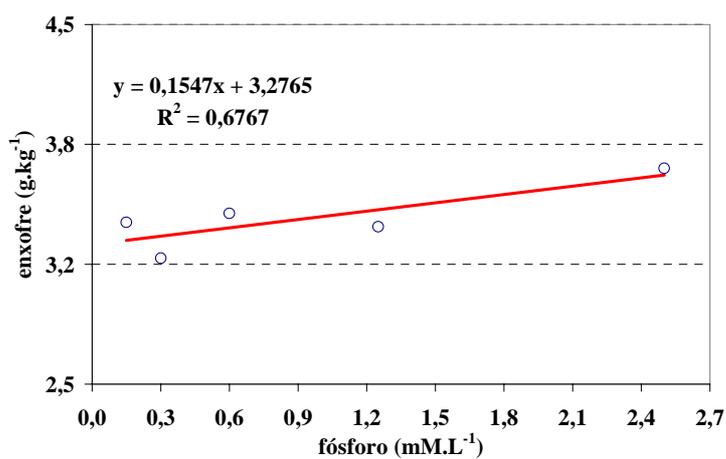


Figura 44 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de enxofre em função da concentração de fósforo na espécie *A. blanchetiana*

4.2.4 Teor de micronutrientes nas folhas

Os dados das variáveis do teor de micronutrientes nas folhas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 17.

Tabela 17. Médias das medidas biométricas de teor de micronutrientes nas folhas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de fosfato no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

P (mM.L ⁻¹)	média						
	micronutriente (mg.kg ⁻¹)						
	B	Cu		Fe		Mn	Zn
	do	[Cu] ⁻¹	do	[Fe] ⁻¹			
0,15	38,25	9,53	0,1050	612,00	0,00163	169,60	111,88
0,30	38,00	9,35	0,1070	570,58	0,00175	158,35	107,65
0,60	35,33	9,43	0,1061	561,88	0,00178	154,90	107,53
1,25	33,93	8,85	0,1130	571,83	0,00175	155,08	108,93
2,50	38,75	8,43	0,1187	505,48	0,00198	156,93	102,55
cv (%)	17,038	—	12,660	—	11,531	3,796	4,371
teste F	ns	—	ns	—	ns	*	ns
linear	ns	—	ns	—	ns	ns	*
quadrática	ns	—	ns	—	ns	*	ns
cúbica	ns	—	ns	—	ns	*	ns

do = dados originais; ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$);

** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$); *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.2.4.1 Boro

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa na variável teor de boro. Portanto, não houve diferença entre os efeitos dos tratamentos. O valor 0,0082 do coeficiente de determinação, próximo a zero, mostrou que não houve

inclinação na reta ajustada com o aumento da concentração de fosfato ($0,15 \leq P \leq 2,50$). O intercepto da regressão linear estimou o teor médio do boro em 36,658 mg de boro nas folhas (Figura 45).

Também, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de boro nas folhas D de abacaxizeiro não alterou significativamente na adubação com fósforo ($0 \leq P \leq 320$ kg de P_2O_5 /ha).

4.2.4.2 Cobre

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa na variável teor de cobre. Portanto, não houve diferença significativa entre os efeitos dos tratamentos. A média geral foi ajustada pela regressão linear em 9,58 mg de cobre nas folhas (Figura 46).

Os mesmos resultados foram observados por Spironello et al. (2004) em que o teor de cobre nas folhas D não modificou significativamente na adubação com o fósforo ($0 \leq P \leq 320$ kg de P_2O_5 /ha) em cultura do abacaxizeiro.

4.2.4.3 Ferro

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa na variável teor de ferro, não mostrando diferença significativa entre os tratamentos. A regressão linear ajustou a média geral em 588,23 mg de ferro nas folhas (Figura 47).

Resultados semelhantes, também, foram encontrados por Spironello et al. (2004) em que o teor de ferro nas folhas não modificou significativamente na adubação com o fósforo ($0 \leq P \leq 320$ kg de P_2O_5 /ha) em cultura do abacaxizeiro.

4.2.4.4 Manganês

A análise de regressão mostrou que a variável manganês foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,05$) e quadrática ($\alpha \leq 0,05$). Optou-se pela regressão polinomial quadrática por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($0,15 \leq P \leq 2,50$), a análise foliar mostrou que o teor de manganês decresceu segundo a regressão quadrática, até atingir a coordenada com o menor teor de manganês na concentração $1,57 \text{ mM.L}^{-1}$ de fosfato no meio MS modificado. A partir do teor mínimo, a curva tendeu a crescer levemente (Figura 48).

Diferente dos resultados apresentados, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de manganês nas folhas não variou significativamente na adubação com o fósforo ($0 \leq P \leq 320 \text{ kg de P}_2\text{O}_5/\text{ha}$) na cultura do abacaxizeiro.

4.2.4.5 Zinco

A análise de variância da regressão mostrou que a variável teor de zinco foi significativa apenas na regressão linear ($\alpha \leq 0,05$). No intervalo experimental considerado ($0,15 \leq P \leq 2,50$), a análise foliar mostrou que o teor de zinco diminuiu segundo a regressão linear. Para cada mM.L^{-1} de fosfato acrescido ao meio MS modificado, houve um decréscimo de $2,9539 \text{ mg}$ de zinco nas folhas (Figura 49).

Spironello et al. (2004), também, mostraram que o teor de zinco nas folhas não variou significativamente na adubação com o fósforo ($0 \leq P \leq 320 \text{ kg de P}_2\text{O}_5/\text{ha}$) em cultura do abacaxizeiro. Porém, Malavolta et al. (1997) observaram que a influência do aumento da adubação fosfatada sobre o teor de zinco nas folhas de milho foi decrescente, de acordo os efeitos interiônicos, no qual H_2PO_4^- tem ação inibitória sobre o Zn^{2+} , levando à carência desse elemento.

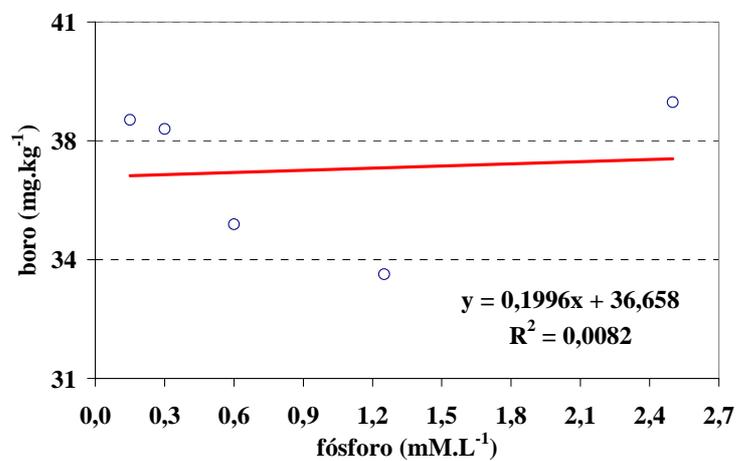


Figura 45 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de boro em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

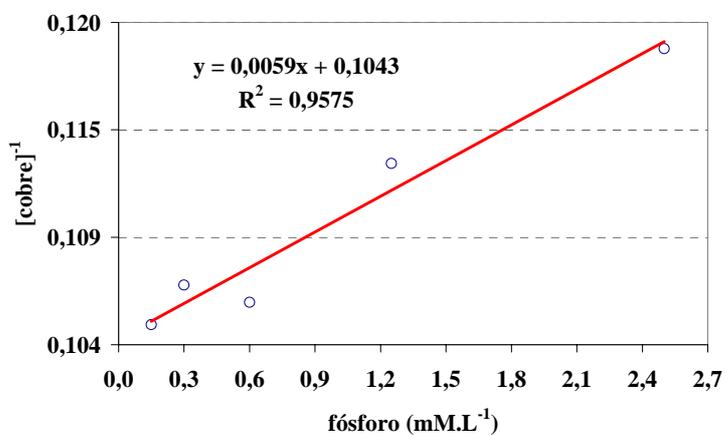


Figura 46 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cobre em função da concentração de fosfato na espécie *A. blanchetiana*

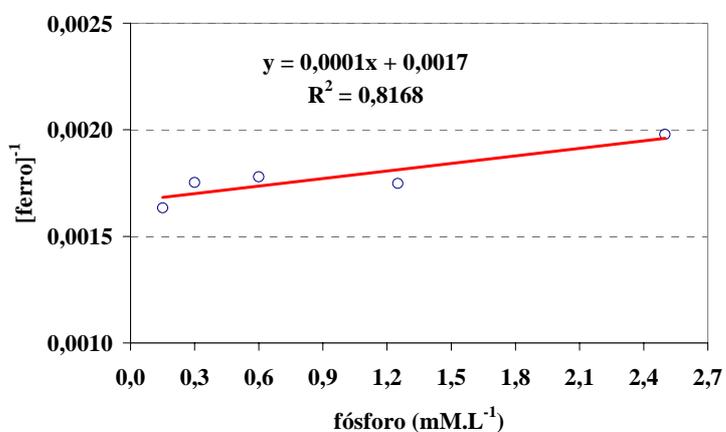


Figura 47 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de ferro em função da concentração de fósforo na espécie *A. blanchetiana*

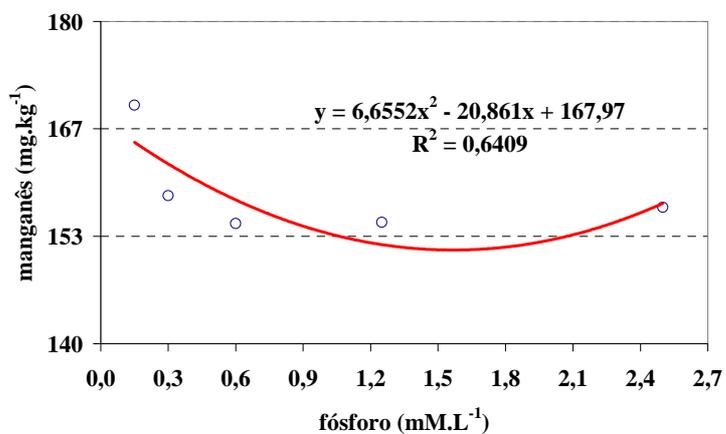


Figura 48 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de manganês em função da concentração de fósforo na espécie *A. blanchetiana*

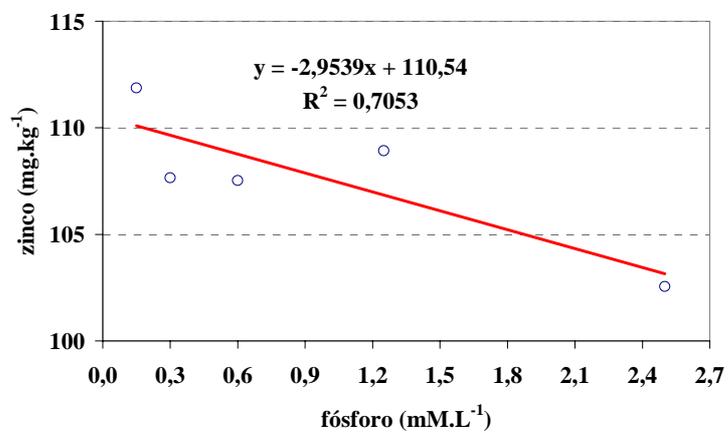


Figura 49 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de zinco em função da concentração de fósforo na espécie *A. blanchetiana*

4.3 Efeitos de diferentes concentrações de potássio no crescimento de *A. blanchetiana in vitro*.

As variáveis de análise biométrica e do teor de macronutrientes e micronutrientes nas folhas foram analisadas com finalidade de determinar a influência de potássio no crescimento de *A. blanchetiana in vitro*. Os seguintes resultados foram obtidos:

4.3.1 Análise biométrica de dimensões

Os dados das variáveis biométricas de dimensões foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 18.

7

Tabela 18. Médias das medidas biométricas de dimensões da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de potássio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

K (mM.L ⁻¹)	comprimento da planta (cm)	folha com maior largura (mm)	média		comprimento da maior raiz (cm)	número de raízes (unidade)
			diâmetro do caule (mm)	número de folhas (unidade)		
2,5	10,7	4,98	2,37	9,96	3,5	9,7
5	11,4	5,40	2,44	10,17	5,2	10,0
10	12,2	5,59	2,50	10,18	5,2	10,4
20	13,0	5,58	2,56	9,73	5,6	10,9
40	13,2	5,84	2,63	9,44	6,6	11,0
cv (%)	4,779	4,061	2,985	3,688	12,848	6,196
teste F	***	***	**	ns	***	*
linear	***	***	***	**	***	**
quadrática	***	ns	ns	ns	ns	ns
cúbica	ns	*	ns	ns	*	ns

ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.3.1.1 Comprimento da plântula

A análise da regressão da variável comprimento da plântula mostrou que a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e quadrática ($\alpha \leq 0,001$) são significativas. Optou-se pela regressão quadrática por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, o comprimento da planta cresceu, segundo uma equação quadrática, até atingir o ponto de máximo crescimento na concentração 31,22 mM.L⁻¹ de potássio. Após alcançar esse ponto máximo de crescimento, o comprimento da planta decresceu até a concentração de 40 mM.L⁻¹, mostrando a tendência de queda no crescimento ao se aproximar da maior concentração utilizada (Figura 50). Essa tendência, provavelmente, indica o início do efeito do excesso de potássio no comprimento da planta.

Em condições de campo, Selemat & Ramlah (1993) observaram que com o aumento da dose de potássio ($0 \leq K \leq 367,5$ kg de K₂O/ha) aplicado em cultura do abacaxizeiro, a altura da planta decresceu, enquanto que Poole & Conover (1976) mostraram que o potássio em doses crescentes ($50 \leq K \leq 150$ mg/vaso/mês) não mostrou aumento significativo na altura da bromélia *A. fasciata*.

4.3.1.2 Folha com maior largura

A análise de variância da regressão da variável folha com maior largura mostrou que a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e cúbica ($\alpha \leq 0,05$) foram significativas. Optou-se pelo modelo linear, por representar melhor o comportamento biológico. No intervalo experimental considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio, a folha com maior largura cresceu linearmente. Para cada

unidade de nitrogênio acrescido ao meio, houve um incremento de $0,0172 \text{ mM.L}^{-1}$ na largura (Figura 51).

4.3.1.3 Número de folhas

A análise de variância da regressão mostrou que somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,01$) foi significativa na variável número de folhas. No intervalo experimental considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), a análise dos resultados mostrou que o número de folhas decresceu linearmente com o aumento da concentração de potássio, sendo que para cada mM.L^{-1} de potássio acrescida ao meio MS modificado, houve um decréscimo no número de folhas em $0,0184$ unidades (Figura 52).

4.3.1.4 Diâmetro do caule

A análise de variância da regressão da variável diâmetro do caule mostrou que somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativa. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), a análise dos resultados mostrou que o diâmetro do caule cresceu linearmente, conforme o aumento da concentração de fósforo no meio MS modificado, sendo que para cada unidade de potássio acrescido ao meio de cultura, houve um incremento de $0,0061 \text{ mM.L}^{-1}$ no diâmetro (Figura 53).

4.3.1.5 Comprimento da maior raiz

A análise de variância da regressão da variável comprimento da maior raiz mostrou que a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e cúbica ($\alpha \leq 0,05$) foram significativas.

Optou-se pela regressão linear por melhor representar o comportamento biológico. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio, o comprimento da maior raiz cresceu linearmente com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, sendo que para cada mM.L^{-1} de potássio, houve um incremento de 0,0618 cm no comprimento da maior raiz (Figura 54).

4.3.1.6 Número de raízes

A análise de variância da regressão da variável número de raízes mostrou que somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,01$) foi significativa. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio, o número de raízes cresceu linearmente com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, sendo que para cada mM.L^{-1} de potássio, houve um incremento no número de raízes em 0,032 unidades (Figura 55).

Sriskandarajah et al. (1990) estudando os efeitos da concentração de potássio no meio MS no crescimento *in vitro* de raízes adventícias em enxerto de cultivares de maçã, constataram que NH_4NO_3 (com e sem) e KNO_3 (0, 1/2 e 1/1) em delineamento fatorial, mostraram que nas cultivares 'Gala', 'Royal Gala' e 'Jonagold', o número de raízes cresceu com o aumento da concentração de KNO_3 no meio sem NH_4NO_3 .

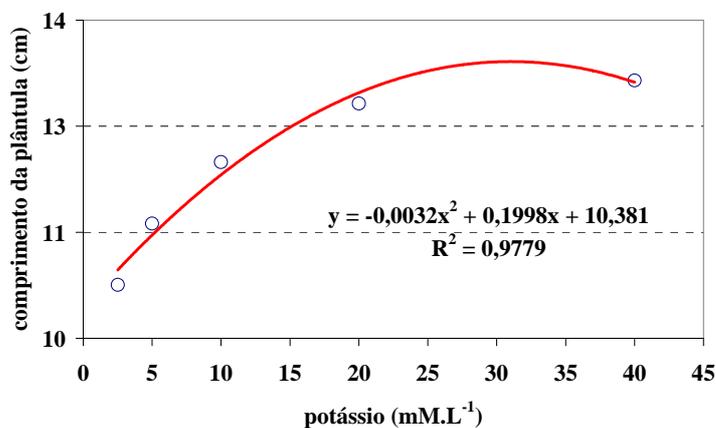


Figura 50 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da plântula em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

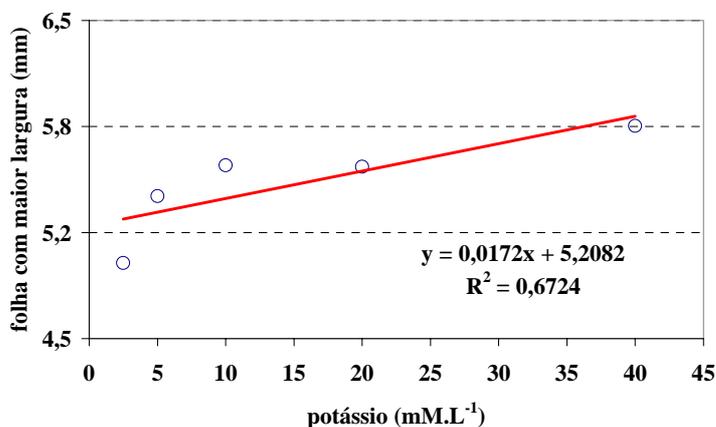


Figura 51 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável folha com maior largura em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

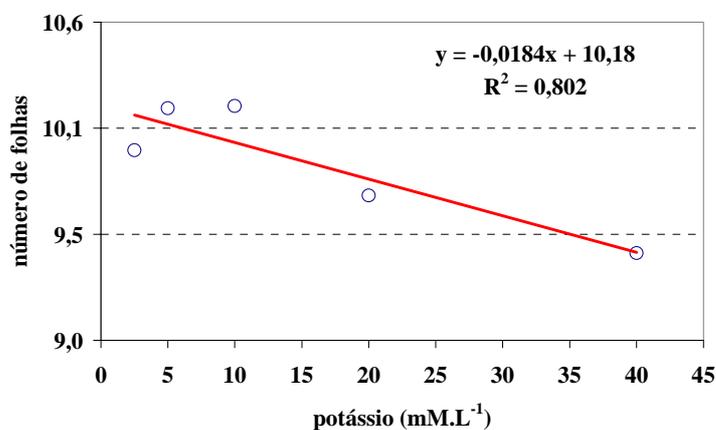


Figura 52 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de folhas em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

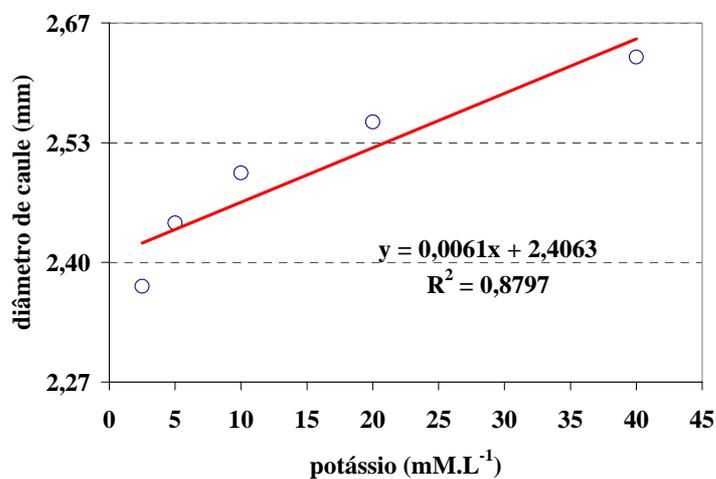


Figura 53 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável diâmetro do caule em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

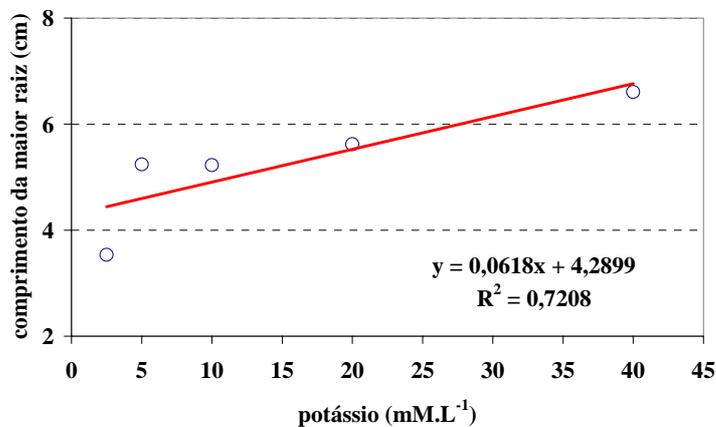


Figura 54 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da maior raiz em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

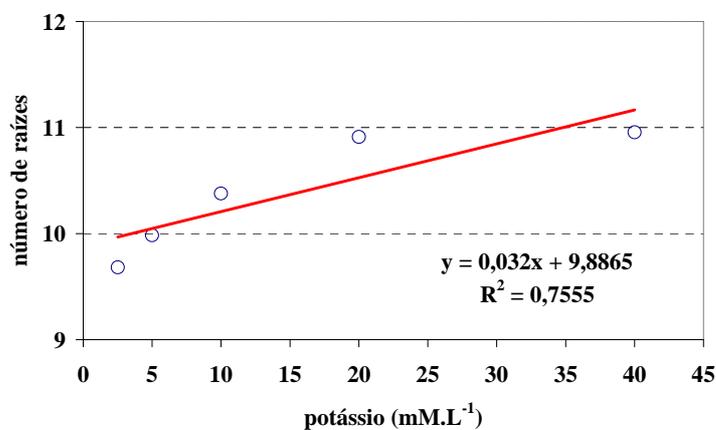


Figura 55 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de raízes em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

4.3.2 Análise biométrica de massas

Os dados das variáveis biométricas de massas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 19.

Tabela 19. Médias das medidas biométricas de massas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de potássio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

K (mM.L ⁻¹)	média da massa/plântula						
	fresca (g)		seca (mg)				
	folha	total	folha	caule	raízes	total	parte aérea
2,5	0,56	0,69	29,264	2,7676	4,0541	36,0860	32,0319
5	0,63	0,79	32,437	2,9408	6,0922	41,4698	35,3776
10	0,69	0,86	36,805	3,5620	6,0589	46,4263	40,3674
20	0,76	0,95	37,859	3,7283	7,2347	48,8220	41,5872
40	0,79	1,03	40,087	4,6188	9,3151	53,6980	44,3829
cv (%)	8,124	8,474	5,871	8,146	15,697	6,042	6,042
teste F	***	***	***	***	***	***	***
linear	***	***	***	***	***	***	***
quadrática	**	**	**	ns	ns	**	**
cúbica	ns	ns	*	ns	ns	*	*

ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.3.2.1 Massa fresca das folhas

A análise de variância da regressão da variável massa fresca das folhas mostrou que a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e quadrática ($\alpha \leq 0,01$) foram significativas. Optou-se

pela regressão quadrática por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, a massa fresca da folha cresceu, segundo uma regressão quadrática, até atingir o ponto máximo de produção de massa fresca das folhas na concentração $28,50 \text{ mM.L}^{-1}$ de potássio. Após o ponto máximo de produção, a massa fresca decresceu até a concentração de 40 mM.L^{-1} , mostrando a tendência de queda na produtividade ao se aproximar da maior concentração utilizada. Essa tendência, provavelmente, indica o início do efeito de excesso de potássio no meio de cultura na produção de massa fresca da folha (Figura 56).

4.3.2.2 Massa fresca total

A análise de regressão da variável massa fresca total mostrou que a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e quadrática ($\alpha \leq 0,01$) foram significativas. Optou-se pela regressão quadrática por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, a massa fresca total cresceu, segundo uma equação quadrática, até atingir o ponto máximo de produção de massa fresca total na concentração $35,67 \text{ mM.L}^{-1}$ de potássio. Após alcançar esse ponto, a massa fresca decresceu até a concentração de 40 mM.L^{-1} , mostrando a tendência de queda na produtividade ao se aproximar da maior concentração utilizada. Essa tendência, provavelmente, indica o início do efeito de excesso de potássio no meio de cultura na produção de massa fresca total (Figura 57).

Em outras espécies, comportamentos diversos foram observados como no trabalho de Naik & Sarkar (1998) que investigaram o papel da nutrição de potássio na produção de microtubérculos em duas cultivares de *S. tuberosum*, alterando-se a concentração de potássio entre $10 \leq K \leq 40 \text{ mM.L}^{-1}$ no meio MS. Constataram que o aumento de potássio no meio promoveu o incremento da produção de massa fresca de

microtubérculos, em ambos as cultivares. Gribble et al. (2002) trabalhando com *G. paniculata* nas concentrações entre $0 \leq K \leq 80$ mM.L⁻¹ de potássio, mostraram que a massa fresca das plântulas aumentou até a concentração 10 mM.L⁻¹, e posteriormente declinou, enquanto que Dijk & Eck (1995a) mostraram que o potássio não influenciou a produção de fitomassa na orquídea *D. incarnata* em meios de cultura formulados com (NH₄)₂SO₄ na concentração entre $0 \leq N \leq 8$ mM.L⁻¹ e K₂SO₄ na concentração ($0 \leq K \leq 2$ mM.L⁻¹) e que não houve interação entre potássio e nitrogênio.

4.3.2.3 Massa seca das folhas

A análise de variância da regressão da variável massa seca das folhas mostrou que a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$), quadrática ($\alpha \leq 0,01$) e cúbica ($\alpha \leq 0,05$) foram significativas. Optou-se pela regressão quadrática por representar melhor o comportamento biológico. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, a massa seca da folha cresceu, segundo uma equação quadrática, até atingir o ponto máximo de produção de massa seca das folhas na concentração 31,71 mM.L⁻¹ de potássio. Após alcançar o ponto máximo de produção, a massa seca decresceu ligeiramente até a concentração de 40 mM.L⁻¹, mostrando a tendência de queda na produtividade ao se aproximar da maior concentração utilizada. Essa tendência, provavelmente, indica o início do efeito do excesso de potássio no meio de cultura na produção de massa seca da folha (Figura 58).

Resultado diferente foi constatado por Selemat & Ramlah (1993), que com o aumento da dose de potássio ($0 \leq K \leq 367,5$ kg de K₂O/ha) aplicado em cultura do abacaxizeiro, mostraram que a massa seca da folha não variou significativamente entre os tratamentos.

4.3.2.4 Massa seca do caule

A análise de variância da regressão da variável massa seca do caule mostrou que somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativa. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio, a massa seca do caule cresceu linearmente com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, sendo que para cada unidade de potássio acrescido ao meio de cultura, houve um acréscimo de 0,0468 mg na massa seca de caule (Figura 59).

4.3.2.5 Massa seca das raízes

A análise de variância da regressão da variável massa seca das raízes mostrou que somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) foi significativa. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio, a massa seca das raízes cresceu linearmente com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado. Para cada mM.L⁻¹ de potássio acrescido ao meio de cultura, houve um incremento de 0,1191 mg na produção de massa seca das raízes (Figura 60).

Tendência diferente foi observada por Zaidan et al. (1998) no cultivo *in vitro* de *Musa ssp.* no intervalo entre $5 \leq K \leq 30$ mM.L⁻¹, com a cultivar 'Nanica' atingindo o seu maior valor em 30 mM.L⁻¹ e a 'Prata Anã' em 15 mM.L⁻¹ de potássio, mostrando que a cv. 'Nanica' foi mais exigente em potássio do que a 'Prata Anã', cujas regressões foram quadráticas.

4.3.2.6 Massa seca da parte aérea

A análise de variância da regressão da variável massa seca da parte aérea mostrou que a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$), quadrática ($\alpha \leq 0,01$) e cúbica ($\alpha \leq 0,05$)

foram significativas. Optou-se pela regressão quadrática por representar melhor o comportamento biológico. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, a massa seca da parte aérea cresceu, segundo uma equação quadrática, até atingir o ponto máximo de produção de massa seca da parte aérea na concentração $32,18 \text{ mM.L}^{-1}$ de potássio. Após alcançar o ponto máximo de produção, a massa seca decresceu até a concentração de 40 mM.L^{-1} , mostrando a tendência de queda na produtividade ao se aproximar da maior concentração utilizada. Essa tendência, provavelmente, indica o início do efeito do excesso de potássio no meio de cultura na produção de massa seca da parte aérea (Figura 61).

Em outras espécies, autores como Zaidan et al. (1998) cultivando *in vitro* *Musa* ssp. variaram o nível de potássio no intervalo entre $5 \leq K \leq 30 \text{ mM.L}^{-1}$ e encontraram a mesma tendência que *A. blanchetiana*. A massa da matéria seca cresceu até alcançar a máxima produção na concentração 20 mM.L^{-1} , segundo uma regressão quadrática. Comportamento semelhante foi constatado por Gribble et al. (2002) na espécie *G. paniculata*, em que a concentração de potássio foi modificado no intervalo entre $0 \leq K \leq 80 \text{ mM.L}^{-1}$, resultando no aumento da massa seca até a concentração 10 mM.L^{-1} , após o qual declinou.

4.3.2.7 Massa seca total

A análise de variância da regressão da variável massa seca total mostrou que a regressão linear ($\alpha \leq 0,001$), quadrática ($\alpha \leq 0,01$) e cúbica ($\alpha \leq 0,05$) foram significativas. Optou-se pela regressão quadrática por representar melhor o comportamento biológico. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, a massa seca total cresceu, segundo uma equação quadrática, até atingir o ponto máximo de produção de massa seca total na concentração $34,95 \text{ mM.L}^{-1}$ de potássio. A massa seca, após o ponto máximo de

produção, decresceu ligeiramente até a concentração de 40 mM.L⁻¹, mostrando a tendência de queda na produção ao se aproximar da maior concentração utilizada. Essa tendência, provavelmente, indicou o início do efeito de excesso de potássio no meio de cultura na produção de massa fresca total (Figura 62).

Da mesma forma, Zaidan (1998) que cultivou *in vitro* a espécie *Musa* ssp. no intervalo $5 \leq K \leq 30$ mM.L⁻¹, mostrou que o aumento da concentração de potássio no meio de cultura, proporcionou aumento linear da massa de matéria seca, tanto na cultivar 'Nanica' como 'Prata Anã'.

Liu & Zhong (1996), também, encontraram tendência semelhante em cultura de células de *P. ginseng* nas quais modificaram-se as concentrações de KNO₃ ($0 \leq K \leq 50$ mM.L⁻¹), mostrando uma relação curvilínea positiva entre a concentração de potássio e o acúmulo de biomassa ativa (massa total da célula menos a massa do açúcar intracelular solúvel).

De forma semelhante em *Solanum tuberosum*, Naik & Sarkar (1998) mostraram a máxima produção de massa seca de microtubérculos na concentração de 40 mM.L⁻¹ de potássio, alterando a composição do meio MS, variando-se as concentrações de potássio entre $10 \leq K \leq 40$ mM.L⁻¹. Microtubérculos grandes, com o dobro do tamanho, próprios para plantio direto no campo, foram obtidas em meio contendo 40 mM.L⁻¹ de potássio.

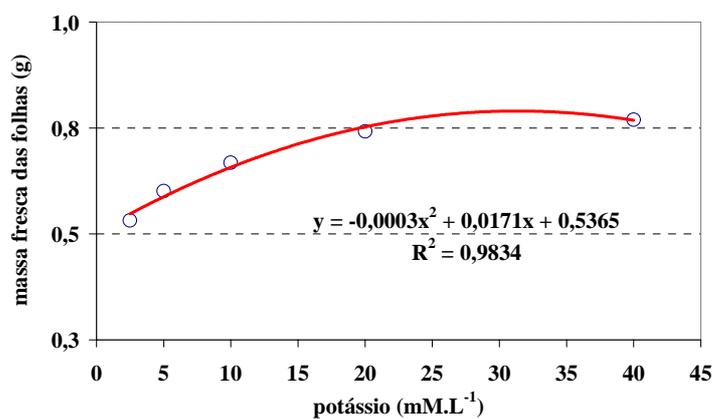


Figura 56 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca das folhas em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*.

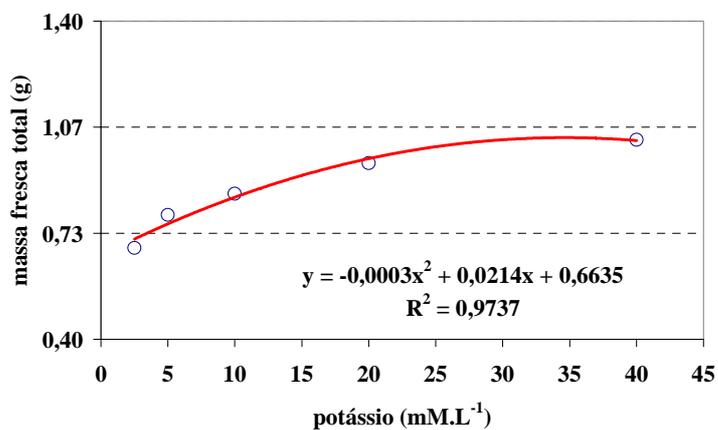


Figura 57 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca total em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*.

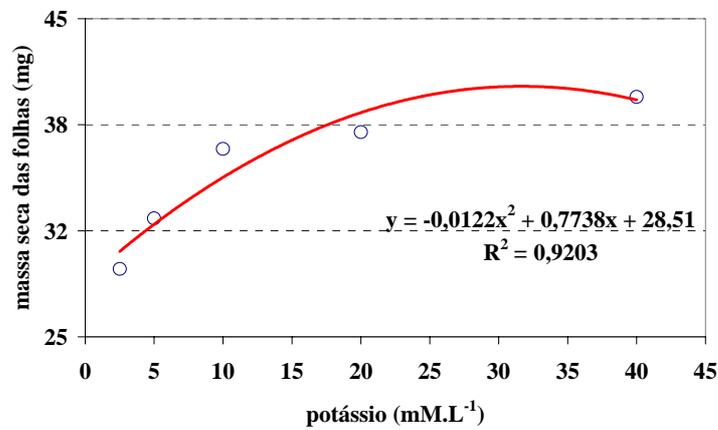


Figura 58 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das folhas em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

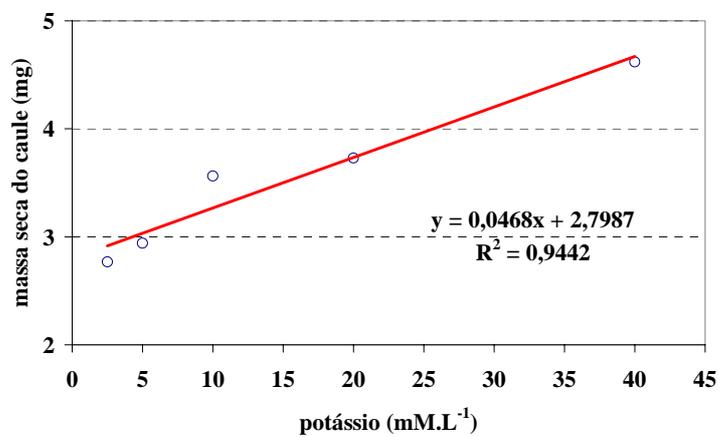


Figura 59 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca do caule em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

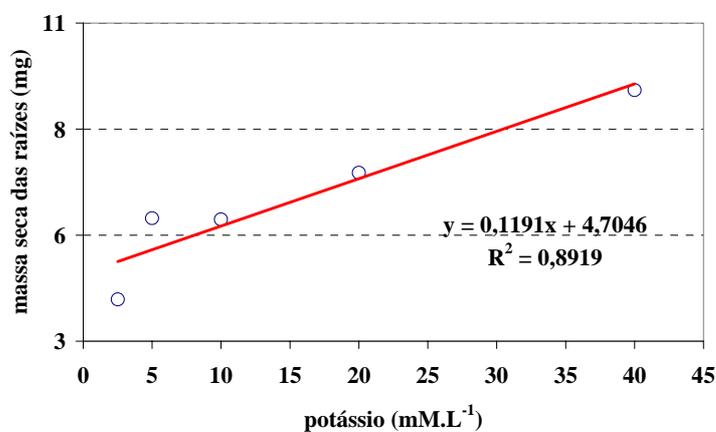


Figura 60 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das raízes em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

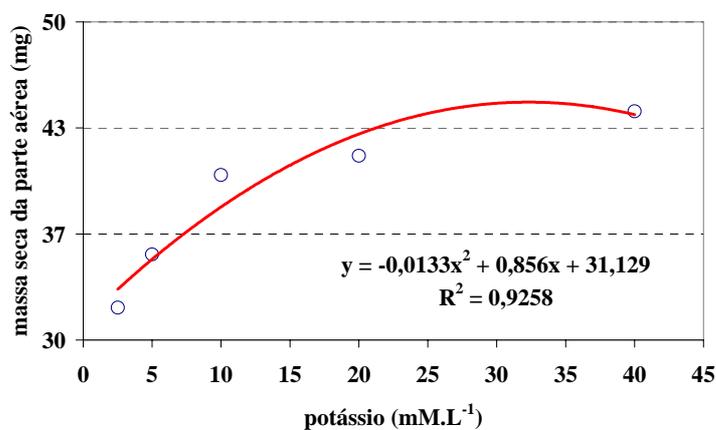


Figura 61 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca da parte aérea em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

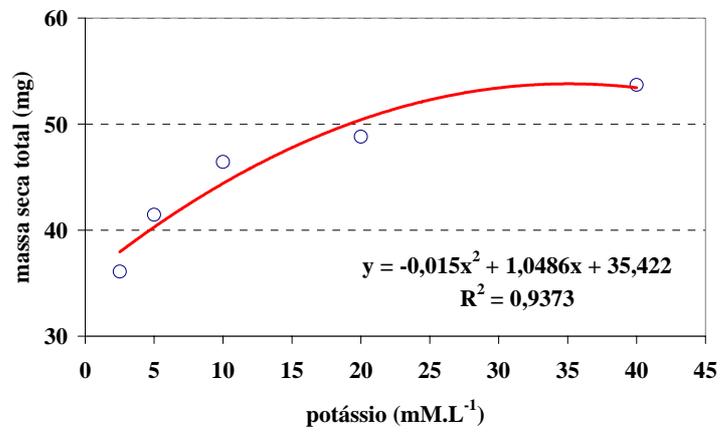


Figura 62 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca total em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

4.3.3 Teor de macronutrientes nas folhas

Os dados das variáveis e o teor de macronutrientes nas folhas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 20.

Tabela 20. Médias dos teores de macronutrientes nas folhas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de potássio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

K (mM.L ⁻¹)	média							
	macronutriente (g.kg ⁻¹)							
	N					Mg		
	do	log [N]	P	K	Ca	do	[Mg] ⁻¹	S
2,5	45,4	1,6571	4,8	29,0	3,7	2,1	0,5097	3,9
5	40,7	1,6093	4,7	38,8	4,1	1,9	0,5382	3,6
10	39,8	1,6002	4,2	46,6	3,4	1,6	0,6381	3,5
20	34,7	1,5400	4,9	62,0	2,6	1,3	0,8042	3,6
40	28,3	1,4518	4,2	80,3	2,2	1,0	1,0328	3,0
cv (%)	—	1,644	7,901	4,706	11,864	—	12,137	8,355
teste F	—	***	*	***	***	—	***	**
linear	—	***	ns	***	***	—	***	***
quadrática	—	ns	ns	***	*	—	ns	ns
cúbica	—	ns	**	ns	ns	—	ns	ns

do= dados originais; ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.3.3.1 Nitrogênio

A análise de variância da regressão da variável teor de nitrogênio mostrou que somente a regressão linear foi significativa. No intervalo experimental considerado

($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que o teor de nitrogênio nas folhas decresceu linearmente com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, sendo que a cada mM.L^{-1} de potássio acrescido ao meio, houve um decréscimo de $1,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ no teor de nitrogênio (Figura 63).

Liu & Zhong (1996) encontraram comportamento inverso em cultura de células de *P. ginseng* em que as concentrações de KNO_3 foram modificadas ($0 \leq K \leq 25 \text{ mM.L}^{-1}$), resultando em incremento linear no consumo N-nítrico pelas células com o aumento da concentração de potássio no meio de cultura.

Em cultura do abacaxizeiro, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de nitrogênio nas folhas variou linearmente na adubação potássica ($0 \leq K \leq 700 \text{ kg de K}_2\text{O/ha}$), enquanto que na bromélia ornamental *A. fasciata*, segundo Poole & Conover (1976), a aplicação de potássio em doses crescentes ($50 \leq K \leq 150 \text{ mg/vaso/mês}$) não promoveu aumento significativo no teor de nitrogênio nas folhas.

4.3.3.2 Fósforo

A análise de variância da regressão da variável teor de fósforo mostrou que somente a regressão cúbica foi significativa. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), o menor teor de fósforo analisado nas folhas foi na concentração $10,46 \text{ mM.L}^{-1}$, enquanto que o maior teor foi detectado na concentração $25,09 \text{ mM.L}^{-1}$ de potássio no meio MS modificado. O comportamento da regressão mostrou que o teor de fósforo cresceu com o aumento da concentração de potássio no meio MS, a partir do ponto com menor teor de potássio até alcançar o ponto máximo de produção, quando decresceu até o seu menor valor na concentração de 40 mM.L^{-1} . Essa tendência, provavelmente, indicou o início do efeito do excesso de potássio (Figura 64).

Porém, no cultivo *in vitro* na espécie *G. paniculata*, Gribble et al. (2002) mostraram que variando a concentração de potássio ($0 \leq K \leq 80 \text{ mM.L}^{-1}$), não houve alteração no teor de fósforo nas plântulas.

Em Bromeliaceae cultivada em campo como *A. fasciata*, Poole & Conover (1976) mostraram que a aplicação de potássio em doses crescentes ($50 \leq K \leq 150$ mg/vaso/mês) não promoveu aumento significativo no teor de fósforo nas folhas da bromélia. Também, em cultura do abacaxizeiro, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de fósforo nas folhas não variou significativamente na adubação potássica ($0 \leq K \leq 700$ kg de K_2O /ha). Porém, em abacaxizeiro, Souza et al. (2002) evidenciaram que o incremento das doses de potássio ($0 \leq K \leq 20$ g de K_2O por planta) mostraram tendência ao decréscimo do teor de fósforo nas folhas.

4.3.3.3 Potássio

A análise de variância da regressão da variável teor de potássio mostrou que a regressão linear e quadrática foi significativa. Optou-se pela regressão quadrática por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, o teor de potássio cresceu, segundo uma equação quadrática, até atingir o ponto máximo de teor de potássio na concentração 40 mM.L^{-1} de potássio (Figura 65).

No cultivo *in vitro* em outras espécies foi encontrado o mesmo comportamento como no trabalho conduzido por Gribble et al. (2002) trabalhando com *G. paniculata*, mostraram que variando-se a concentração de potássio ($0 \leq K \leq 80 \text{ mM.L}^{-1}$), houve um aumento linear no teor de potássio na plântula. Da mesma forma, Liu & Zhong (1996) em cultura de células de *P. ginseng* na qual as concentrações de KNO_3 ($0 \leq K \leq 50 \text{ mM.L}^{-1}$) foram modificadas, resultando em incremento no consumo de potássio pelas células com o aumento da concentração de potássio no meio de cultura. Também, Zaidan (1998) variando o nível de K no meio de cultura no intervalo entre $5 \leq K \leq 30 \text{ mM.L}^{-1}$ em *Musa ssp.* encontrou resultados semelhantes à de *A. blanchetiana*, com teores de potássio na parte aérea, raiz e plântula inteira com valores crescentes, proporcionais ao aumento da concentração de potássio no meio de cultura. Em plântulas

de oliveira, Sarmiento et al. (1994) mostraram que aumento da concentração de KNO_3 ($0 \leq K \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$) no meio de cultura, promoveu o crescimento no teor de potássio.

Na família Bromeliaceae em condições de cultivo no campo, também, foi observado o mesmo comportamento que em *A. blanchetiana* como o experimento conduzido por Spironello et al. (2004) ao mostrarem que o teor de potássio nas folhas cresceu segundo uma regressão linear na adubação potássica ($0 \leq K \leq 700 \text{ kg de K}_2\text{O/ha}$) em cultura do abacaxizeiro. Da mesma forma, Souza et al. (2002) mostraram que a adubação potássica elevou o teor de potássio na folha D de abacaxizeiro, quando variaram a adubação potássica nas doses entre $0 \leq K \leq 20 \text{ g de K}_2\text{O/planta}$, aplicados na forma de cloreto de potássio. Também, na bromélia *A. fasciata*, Poole & Conover (1976) mostraram que a aplicação de potássio em doses crescentes ($50 \leq K \leq 150 \text{ mg/vaso/mês}$) promoveu aumento significativo no teor de potássio nas folhas.

4.3.3.4 Cálcio

A análise de variância da regressão da variável teor de cálcio mostrou que a regressão linear e quadrática foram significativas. Optou-se pela regressão quadrática por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, o teor de cálcio decresceu, segundo uma equação quadrática, até atingir o valor mínimo de teor de potássio na concentração $38,25 \text{ mM.L}^{-1}$ (Figura 66).

Na espécie *G. paniculata* cultivada *in vitro* por Gribble et al. (2002), foi observado o mesmo comportamento de *A. blanchetiana*, que com o aumento da concentração de potássio ($0 \leq K \leq 80 \text{ mM.L}^{-1}$) no meio de cultura, houve um decréscimo no teor de cálcio.

Em condições de campo, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de cálcio nas folhas decresceram segundo uma regressão quadrática na adubação potássica ($0 \leq K \leq 700 \text{ kg de K}_2\text{O/ha}$) em cultura do abacaxizeiro. Resultados semelhantes foram

observados por Souza et al. (2002) em abacaxizeiro que estudaram a adubação potássica nas doses entre $0 \leq K \leq 20$ g de K_2O /planta, aplicados na forma de cloreto de potássio e notaram redução no teor de cálcio como consequência da competição no processo de absorção desses nutrientes. Na bromélia *A. fasciata*, Poole & Conover (1976) aplicaram potássio em doses crescentes ($50 \leq K \leq 150$ mg/vaso/mês) e mostraram que o teor de cálcio nas folhas diminuiu significativamente com o aumento da dose de potássio.

4.3.3.5 Magnésio

A análise de variância da regressão da variável teor de magnésio mostrou que somente a regressão linear foi significativa. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, o teor de magnésio decresceu, segundo uma reta, pois o teor de magnésio foi transformado no seu inverso (Figura 67).

Resultado semelhante foi encontrado por Gribble et al. (2002) em *G. paniculata* nas concentrações ($0 \leq K \leq 80$ mM.L⁻¹) em que o teor de Mg foi reduzido nas duas maiores concentrações.

Na família Bromeliaceae em condições de campo foi observado comportamento semelhante na cultura do abacaxizeiro por Spironello et al. (2004) que detectaram teor de magnésio nas folhas decrescendo segundo uma regressão quadrática, na adubação potássica ($0 \leq K \leq 700$ kg de K_2O /ha). Da mesma forma, Poole & Conover (1976) aplicaram potássio em doses crescentes ($50 \leq K \leq 150$ mg/vaso/mês) na bromélia *A. fasciata* e mostraram que o teor de magnésio nas folhas diminuiu significativamente com o aumento da dose de potássio.

4.3.3.6 Enxofre

A análise de variância da regressão da variável teor de enxofre mostrou que somente a regressão linear foi significativa. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que o teor de enxofre nas folhas decresceu linearmente com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado. Dessa forma, para cada mM.L^{-1} de potássio acrescido ao meio, houve um decréscimo de $0,0194 \text{ mg.kg}^{-1}$ de enxofre (Figura 68).

Resultado semelhante foi encontrado por Gribble et al. (2002) em *G. paniculata*, que com o aumento da concentração de potássio ($0 \leq K \leq 80 \text{ mM.L}^{-1}$), houve um decréscimo no teor de enxofre nas duas maiores concentrações.

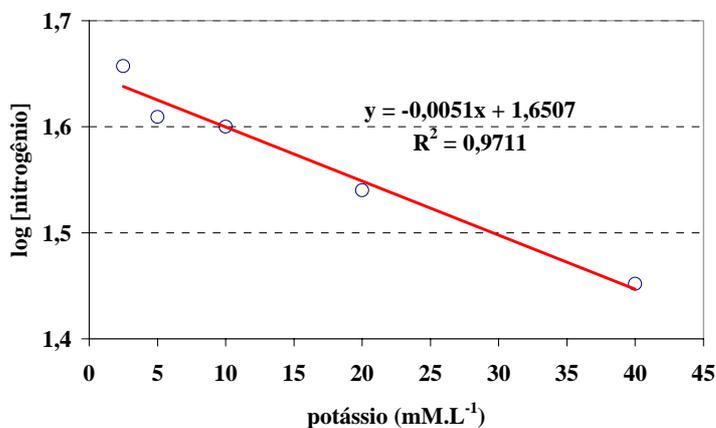


Figura 63 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de nitrogênio em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

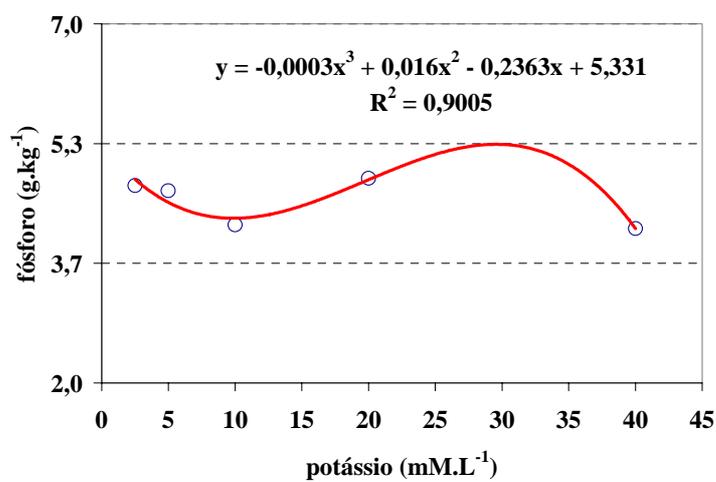


Figura 64 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de fósforo em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

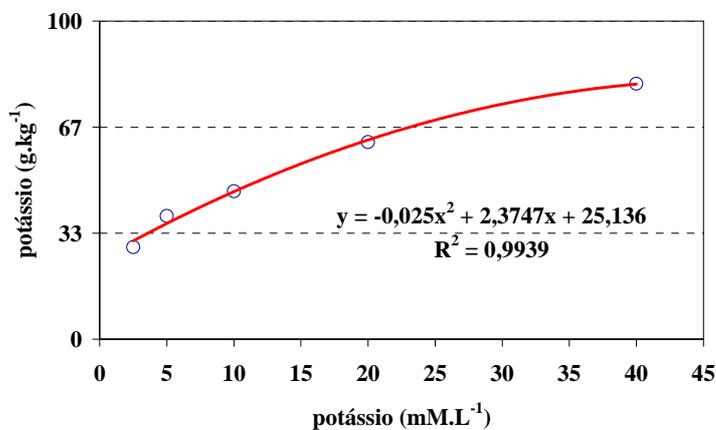


Figura 65 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de potássio em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

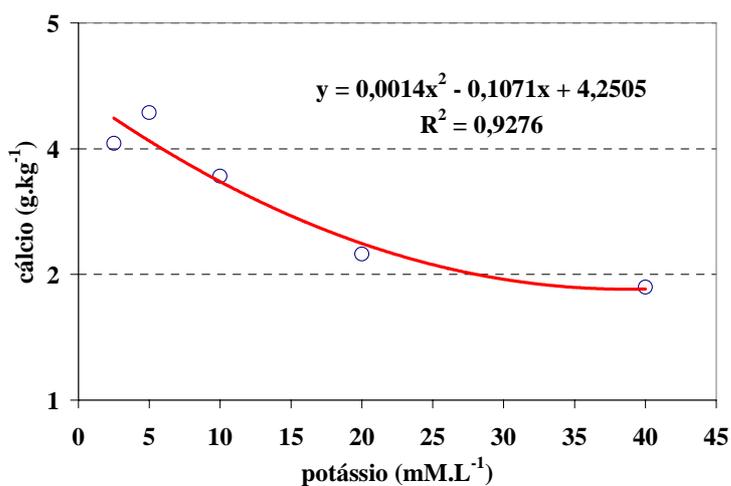


Figura 66 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cálcio em função da concentração de potássio na espécie *Aechmea blanchetiana*.

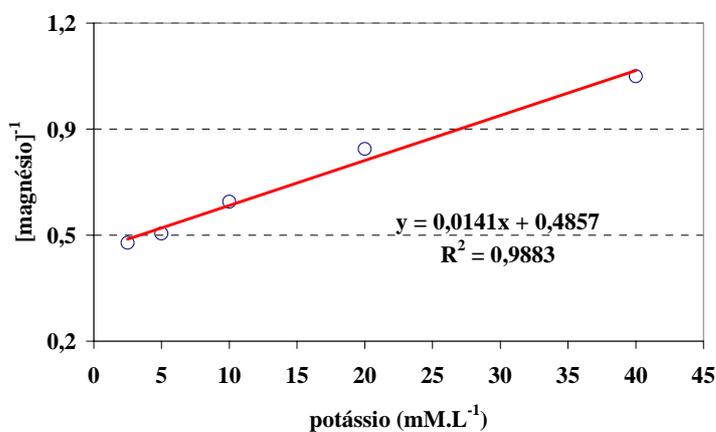


Figura 67 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de magnésio em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

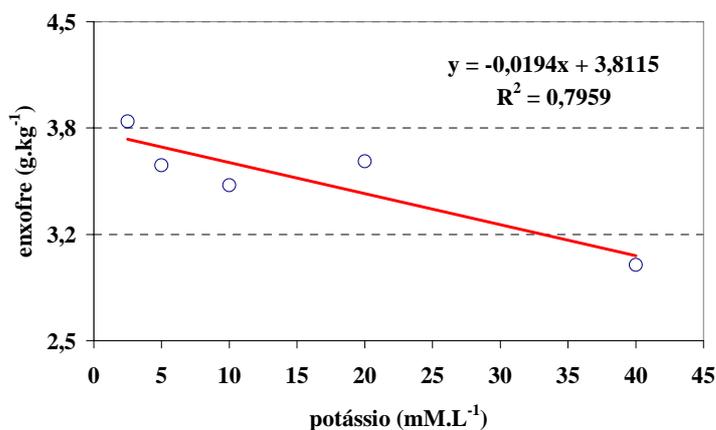


Figura 68 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de enxofre em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

4.3.4 Teor de micronutrientes nas folhas

Os dados das variáveis teor de micronutrientes nas folhas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 21.

Tabela 21. Médias do teor de micronutrientes encontrados nas folhas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de potássio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

K (mM.L ⁻¹)	média					
	B	do	Cu [Cu] ⁻²	Fe	Mn	Zn
2,5	32,0	24,5	0,0017	532,3	158,8	127,6
5	35,0	10,0	0,0100	501,6	156,3	123,1
10	31,1	10,1	0,0099	477,5	150,2	111,0
20	33,4	8,8	0,0131	503,1	145,7	101,5
40	34,3	8,3	0,0146	446,6	131,0	88,2
cv (%)	13,262	—	25,686	3,485	5,608	5,400
teste F	ns	—	***	***	**	***
linear	ns	—	***	***	***	***
quadrática	ns	—	**	ns	ns	*
cúbica	ns	—	ns	***	ns	ns

do= dados originais; ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.3.4.1 Boro

A análise de variância da regressão mostrou que não houve significância em nenhuma das regressões. Portanto, no intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), não houve

diferença significativa entre os tratamentos. O coeficiente de determinação indicou que apenas 13,61% da variação do teor de boro nas folhas foi explicada pela regressão em função das concentrações de potássio. A regressão mostrou, ainda, que a média geral foi ajustada em $32,548 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Figura 69).

Em *G. paniculata* no cultivo *in vitro*, Gribble et al. (2002) mostraram que com o aumento da concentração de potássio ($0 \leq K \leq 80 \text{ mM.L}^{-1}$), o menor teor de boro foi determinado na concentração 80 mM.L^{-1} de potássio, enquanto que Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de boro presente nas folhas não variaram significativamente na adubação potássica ($0 \leq K \leq 700 \text{ kg de K}_2\text{O/ha}$) em cultura do abacaxizeiro.

4.3.4.2 Cobre

A análise de variância da regressão da variável teor de cobre mostrou que a regressão linear ($\alpha < 0,001$) e quadrática ($\alpha < 0,01$) foram significativas. Optou-se pela regressão quadrática por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, o teor de cobre decresceu (relação inversa ao quadrado) segundo uma equação quadrática, até atingir o menor de teor de cobre na concentração 40 mM.L^{-1} (Figura 70).

Comportamento semelhante foi encontrado por Spironello et al. (2004) que detectaram teor de cobre nas folhas decrescendo linearmente, na adubação potássica ($0 \leq K \leq 700 \text{ kg de K}_2\text{O/ha}$) em cultura do abacaxizeiro.

4.3.4.3 Ferro

A análise de variância da regressão da variável teor de magnésio mostrou que a regressão linear ($\alpha < 0,001$) e cúbica ($\alpha < 0,001$) foram significativas. Optou-se pela

regressão linear por apresentar melhor comportamento biológico. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que o teor de ferro nas folhas decresceu linearmente com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado. Para cada mM.L^{-1} de potássio acrescido ao meio de cultura, houve um decréscimo de $1,7271 \text{ mg.kg}^{-1}$ no teor de ferro nas folhas (Figura 71).

Em *G. paniculata*, Gribble et al. (2002) encontraram resultado inverso, no qual o teor de ferro na plântula aumentou com o incremento da concentração de potássio ($0 \leq K \leq 80 \text{ mM.L}^{-1}$).

Em condições de campo, a cultura do abacaxizeiro, diferente dos resultados encontrados em *A. blanchetiana*, Spironello et al. (2004) mostraram que teor de ferro presente nas folhas não variou significativamente com a adubação potássica ($0 \leq K \leq 700 \text{ kg de K}_2\text{O/ha}$), enquanto que Souza et al. (2002) mostraram que com o incremento das doses de potássio ($0 \leq K \leq 20 \text{ g de K}_2\text{O.planta}^{-1}$) houve tendência ao crescimento do teor de ferro nas folhas.

4.3.4.4 Manganês

A análise de variância da regressão mostrou que na variável teor de manganês somente a regressão linear foi significativa ($\alpha < 0,001$). No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), os resultados mostraram que o teor de manganês nas folhas decresceu segundo uma regressão linear, conforme o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado. Da regressão linear deduziu-se que para cada mM.L^{-1} de potássio acrescido ao meio de cultura, houve um decréscimo de $0,7162 \text{ mg}$ de manganês por kg de matéria seca (Figura 72).

No cultivo *in vitro* de *G. paniculata* Gribble et al. (2002) mostraram que o teor de manganês na plântula decresceu com o aumento da concentração de potássio ($0 \leq K \leq 80 \text{ mM.L}^{-1}$).

No entanto, no cultivo em condições de campo, Spironello et al. (2004) mostraram que o teor de manganês presente nas folhas não variaram significativamente na adubação potássica ($0 \leq K \leq 700$ kg de K_2O/ha) em cultura do abacaxizeiro. Entretanto, Souza et al. (2002) evidenciaram que o incremento das doses de potássio ($0 \leq K \leq 20$ g de $K_2O.planta^{-1}$) mostraram tendência ao crescimento do teor de manganês nas folhas de abacaxizeiro, diferente do comportamento encontrado em *A. blanchetiana*.

4.3.4.6 Zinco

A análise de variância da regressão mostrou que na variável teor de zinco a regressão linear ($\alpha < 0,001$) e quadrática ($\alpha < 0,05$) foram significativas. Optou-se pela regressão polinomial quadrática por esta apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo considerado ($2,5 \leq K \leq 40$), o teor de zinco nas folhas decresceu, segundo a equação quadrática, em função do aumento da concentração de potássio, atingindo o menor teor na concentração 40 mM.L^{-1} do meio MS modificado (Figura 73).

Gribble et al. (2002) trabalhando com *G. paniculata*, mostraram que o menor teor de zinco na plântula foi encontrado na concentração 40 mM.L^{-1} e os maiores valores nas concentrações $2,5$ e 5 mM.L^{-1} , com o aumento da concentração de potássio ($0 \leq K \leq 80 \text{ mM.L}^{-1}$), mostrando tendência ao decréscimo no teor de zinco com o aumento de potássio no meio. Porém, Spironello et al. (2004) mostraram que teor de zinco contido nas folhas não variou significativamente na adubação potássica ($0 \leq K \leq 700$ kg de K_2O/ha) em cultura do abacaxizeiro.

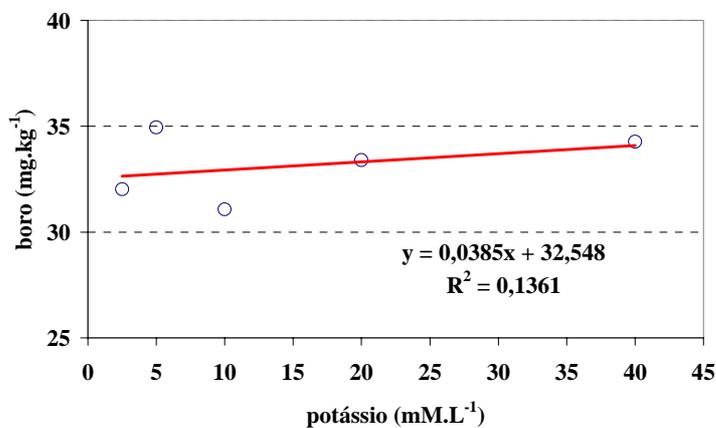


Figura 69 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de boro em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

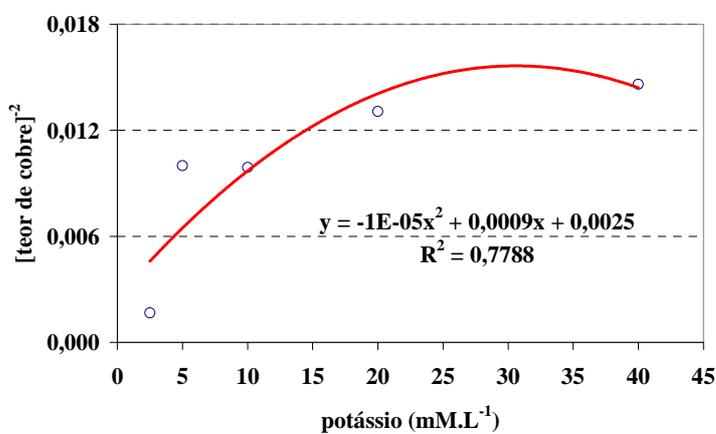


Figura 70 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de cobre em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

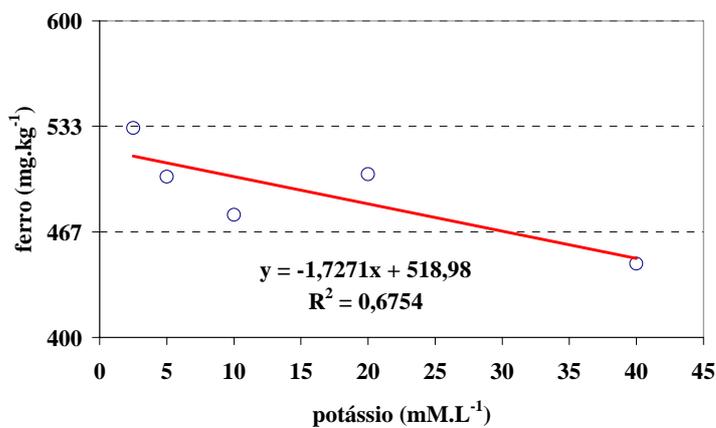


Figura 71 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de ferro em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

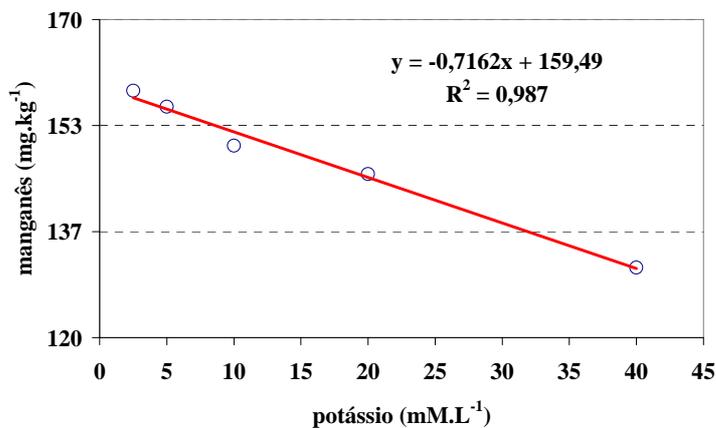


Figura 72 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de manganês em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

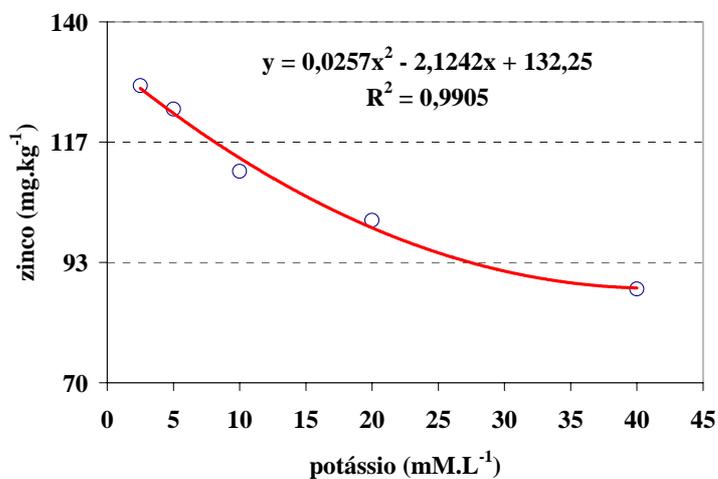


Figura 73 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável teor de zinco em função da concentração de potássio na espécie *A. blanchetiana*

4.4 Efeitos de diferentes concentrações de cálcio no crescimento de *A. blanchetiana* *in vitro*

As variáveis de análise biométrica e do teor de macronutrientes e micronutrientes nas folhas foram analisadas a fim de determinar a influência de cálcio no crescimento *in vitro* de *A. blanchetiana*. Os seguintes resultados foram obtidos:

4.4.1 Análise biométrica de medidas

Os dados das variáveis biométricas de medidas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 22.

Tabela 22. Médias das medidas biométricas de mensurações da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de cálcio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

Ca (mM.L ⁻¹)	média					
	comprimento da plântula (cm)	folha com maior largura (mm)	diâmetro do caule (mm)	número de folhas (unidade)	comprimento da maior raiz (cm)	número de raízes (cm)
1,5	11,35	5,46	2,49	9,17	6,50	9,16
3	10,34	5,31	2,40	8,76	5,07	8,56
4,5	10,89	5,45	2,54	9,00	6,29	9,02
6	10,83	5,58	2,52	9,13	6,61	9,21
12	10,96	5,36	2,58	8,85	6,59	9,42
cv (%)	5,736	3,112	2,783	3,581	6,077	3,915
teste F	ns	ns	*	ns	***	*
linear	ns	ns	*	ns	*	*
quadrática	ns	ns	ns	ns	ns	ns
cúbica	ns	ns	ns	ns	***	*

ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.4.1.1 Comprimento da plântula

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa para a variável comprimento da plântula. Portanto, não houve diferença entre os efeitos dos tratamentos. O valor 0,00007 do coeficiente de determinação, próximo a zero, mostrou que não houve inclinação na reta ajustada nessa variável com o aumento da concentração de cálcio ($1,5 \leq Ca \leq 12$). Deduziu-se que o intercepto da regressão linear estimou o comprimento médio da plântula em 10,88 cm (Figura 74).

Da mesma forma, Razzaque & Hanafi (2000) mostraram que na cultura do abacaxizeiro, cv. 'Gandul', em que a aplicação de cálcio ($0 \leq Ca \leq 64$ de CaO kg/ha) no solo turfoso, não influenciou significativamente na altura da planta.

4.4.1.2 Folha com maior largura

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa para a variável folha com maior largura. Portanto, não houve diferença entre os efeitos dos tratamentos. O valor 0,0142 do coeficiente de determinação, próximo a zero, mostrou que não houve inclinação na reta ajustada na variável folha com maior largura em função do aumento da concentração de cálcio ($1,5 \leq Ca \leq 12$). Inferiu-se que o intercepto da regressão linear estimou o comprimento médio da plântula em 5,4477 cm (Figura 75).

4.4.1.3 Número de folhas

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa para a variável número de folhas. O coeficiente de determinação de 0,1276 indicou que

apenas 12,76% da variação do número de folhas foi explicado pela regressão com o incremento da concentração de cálcio ($1,5 \leq Ca \leq 12$). A regressão linear ajustou a média geral em 9,07 folhas (Figura 76).

Os mesmos resultados foram obtidos por Razzaque & Hanafi (2000) em cultura do abacaxizeiro, cv. 'Gandul', com a aplicação de cálcio ($0 \leq Ca \leq 64$ de CaO kg/ha) em solo turfoso, não influenciando significativamente o número de folhas nas plantas.

4.4.1.4 Diâmetro de caule

A análise de variância da regressão mostrou que apenas a regressão linear ($\alpha \leq 0,05$) foi significativa. Assim, para cada mM.L^{-1} de cálcio acrescido ao meio de cultura, houve um incremento de $0,0119 \text{ mM.L}^{-1}$ no diâmetro. O coeficiente de determinação mostrou que a regressão linear explicou em 48,31% a variação no diâmetro de caule, com o aumento da concentração de cálcio no meio de cultura (Figura 77).

4.4.1.5 Número de raízes

A análise de variância da regressão mostrou que a variável número de raízes foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,05$) e cúbica ($\alpha \leq 0,05$). Optou-se pela regressão cúbica por apresentar maior coeficiente de determinação. Assim, o menor número de raízes foi estimado na concentração $3,269 \text{ mM.L}^{-1}$ de cálcio. A partir desse ponto, com o aumento da concentração de cálcio, o número de raízes cresceu, segundo a regressão cúbica, até alcançar o maior número de raízes na concentração $9,688 \text{ mM.L}^{-1}$ de cálcio. Após alcançar essa coordenada com maior número de raízes, a curva tendeu a decrescer, diminuindo a emissão de raízes (Figura 78)

Paula et al. (1998) afirmaram que o cloreto de potássio é utilizado como fonte de nutriente, apesar do efeito prejudicial do cloro que afetou o conteúdo de amido e açúcares em abacaxizeiro.

4.4.1.6 Comprimento da maior raiz

A variável comprimento da maior raiz foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,05$) e cúbica ($\alpha \leq 0,001$), conforme os resultados da análise de variância da regressão. Optou-se pela regressão cúbica por apresentar maior coeficiente de determinação. Assim, o menor comprimento da maior raiz foi estimado na concentração 3,253 mM.L⁻¹ de cálcio. A partir desse ponto na curva, com o aumento da concentração, o número de raízes cresceu, segundo a regressão cúbica, até alcançar o maior comprimento de raiz na concentração 9,431 mM.L⁻¹ de cálcio. Após alcançar a coordenada com maior comprimento, a curva tendeu a decrescer, com diminuição do comprimento da maior raiz (Figura 79).

O comportamento da curva sugere que o CaCl₂.2H₂O na sua maior concentração utilizada, 3 mM.L⁻¹, prejudicou o crescimento das raízes. Conforme aumentamos a concentração de Ca(NO₃)₂.4H₂O a partir de 4,5 mM.L⁻¹, as raízes cresceram, mostrando o efeito benéfico do Ca(NO₃)₂.4H₂O. Essa constatação foi corroborada pela observação na diminuição da concentração de CaCl₂.2H₂O de 3 para 1,5 mM.L⁻¹, quando o comprimento da maior raiz mostrou, também, tendência ao crescimento. Da análise dos resultados, pode-se, também, inferir que o cloro pode estar em excesso nas plântulas, prejudicando o crescimento do sistema radicular, da mesma forma que o cálcio na concentração acima de 9,431 mM.L⁻¹.

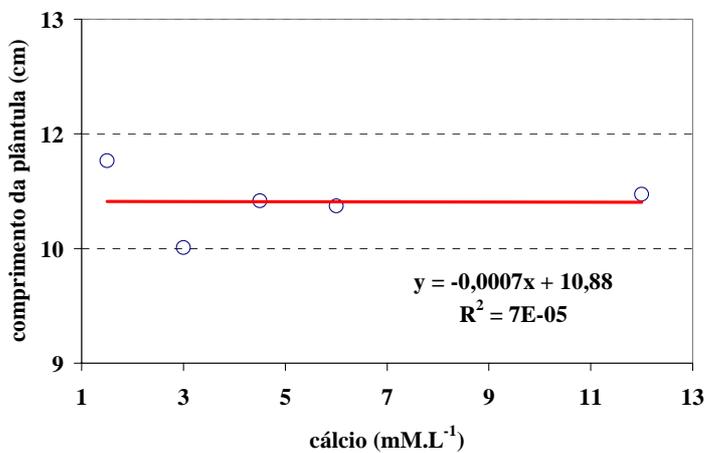


Figura 74 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da plântula em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

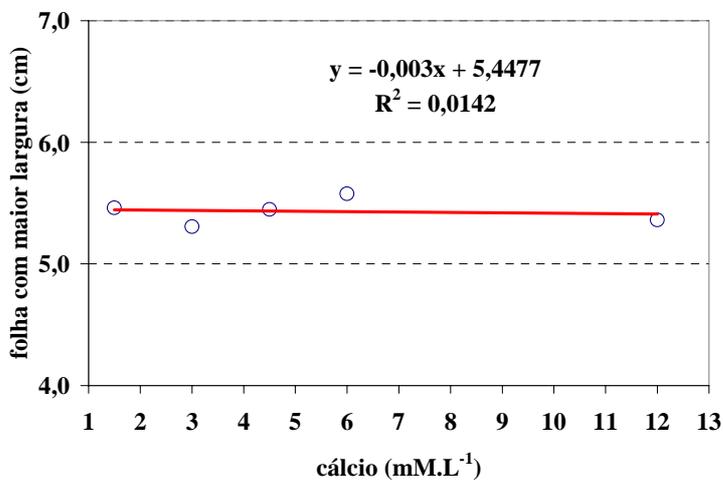


Figura 75 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável folha com maior largura em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

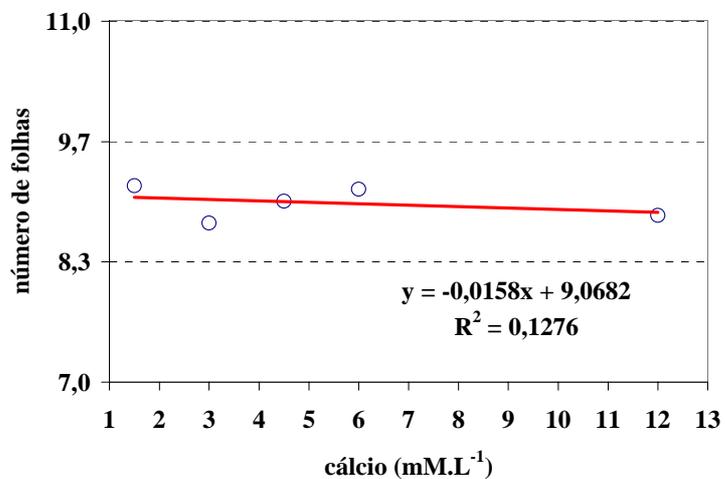


Figura 76 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de folhas em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

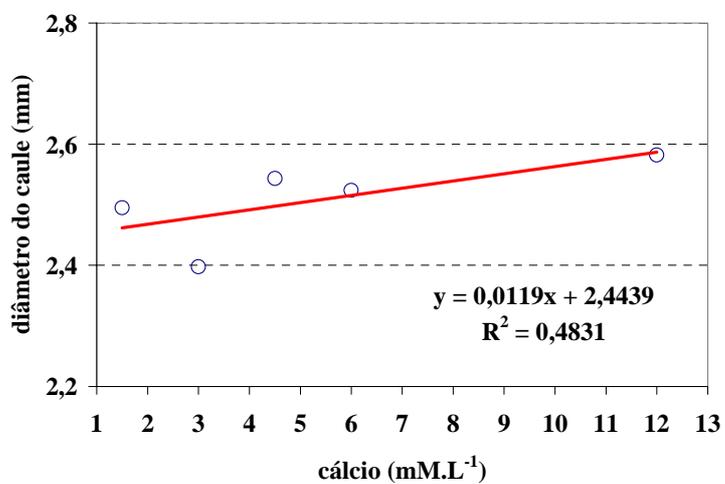


Figura 77 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável diâmetro de caule em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

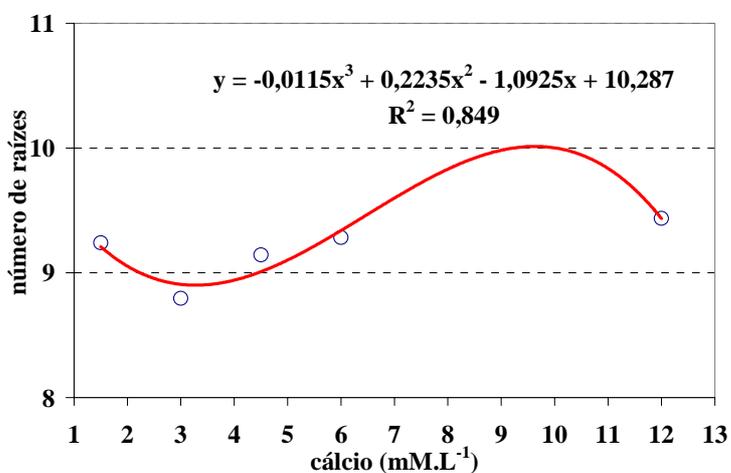


Figura 78 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável número de raízes em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

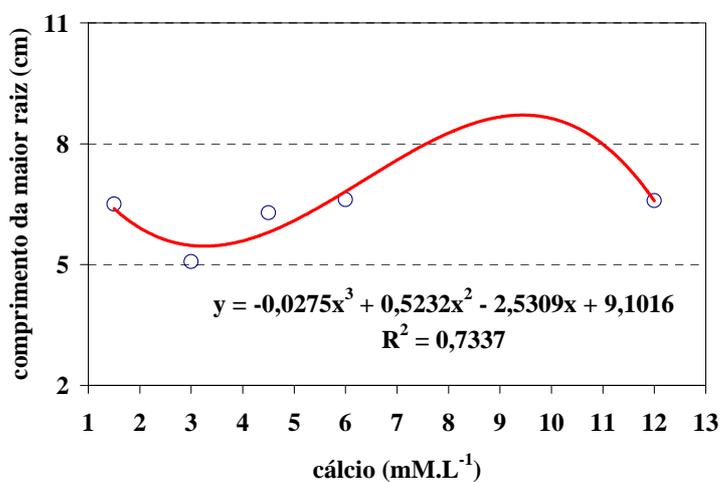


Figura 79 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável comprimento da maior raiz em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

4.4.2 Análise biométrica de massas

Os dados das variáveis biométricas de massas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 23.

Tabela 23. Médias das medidas biométricas de massas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de cálcio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

Ca (mM.L ⁻¹)	média da massa /plântula						
	fresca (g)		seca (mg)				
	folha	total	folha	caule	raízes	total	
1,5	0,60	0,77	26,154	2,2944	7,5657	36,0138	28,4480
3	0,53	0,65	24,029	2,0384	5,7489	31,8166	26,0677
4,5	0,58	0,72	25,080	2,3051	6,9397	34,3246	27,3849
6	0,59	0,75	25,608	2,3369	7,6979	35,6429	27,9450
12	0,57	0,75	23,857	2,6189	8,3150	34,7913	26,4763
cv (%)	6,993	7,205	7,680	7,5	13,797	7,356	7,229
teste F	ns	*	ns	**	*	ns	ns
linear	ns	ns	ns	***	*	ns	ns
quadrática	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
cúbica	*	*	ns	ns	*	*	ns

ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.4.2.1 Massa fresca das folhas

A análise de variância da regressão mostrou que na variável massa fresca das folhas, a regressão cúbica ($\alpha \leq 0,05$) foi significativa. No intervalo experimental

considerado ($1,5 \leq Ca \leq 12$), a regressão cúbica mostrou que a menor massa fresca da folha foi estimada na concentração $3,40 \text{ mM.L}^{-1}$ de cálcio. A partir desse ponto da curva, com o aumento da concentração, a produção de massa fresca da folha cresceu até alcançar a maior produtividade de massa fresca na concentração $9,67 \text{ mM.L}^{-1}$ de cálcio. Após alcançar a coordenada com maior massa, a curva tendeu a decrescer, diminuindo a produção de massa seca. (Figura 80).

4.4.2.2 Massa fresca total

A variável massa fresca total foi significativa somente na regressão cúbica ($\alpha \leq 0,05$), conforme os resultados da análise de variância da regressão. A menor massa fresca total foi estimada na concentração $3,473 \text{ mM.L}^{-1}$ de cálcio. A partir desse ponto, com o aumento da concentração de cálcio no meio MS ($1,5 \leq Ca \leq 12$), a massa fresca cresceu, segundo a equação cúbica, até alcançar a maior massa na concentração $9,574 \text{ mM.L}^{-1}$ de cálcio. Após alcançar a coordenada com maior massa fresca total, a curva tendeu a decrescer, diminuindo a produtividade de massa fresca (Figura 81).

No entanto, Dijk & Eck (1995a) trabalhando com orquídea *D. incarnata* mostraram que a biomassa das plântulas foi afetada significativamente pela concentração de cálcio ($0 \leq Ca \leq 2 \text{ mM.L}^{-1}$) no meio de cultura, encontrando um ponto máximo de produção na concentração intermediária de 1 mM.L^{-1} , enquanto que na concentração 2 mM.L^{-1} de cálcio não foi significativamente diferente da concentração 0 de cálcio.

Gribble et al. (2002) em cultivo *in vitro* de *G. paniculata* mostraram que a massa fresca alcançou o seu maior valor entre $0,64$ e $1,25 \text{ mM.L}^{-1}$ em concentração crescente de cálcio ($0 \leq Ca \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$) no meio de cultura.

4.4.2.3 Massa seca das folhas

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa na variável massa seca das folhas, não havendo diferença entre os tratamentos. O coeficiente de determinação permitiu deduzir que a variação da produção de massa seca foi explicada, em apenas 34,26%, pela regressão em função do aumento da concentração de cálcio ($1,5 \leq Ca \leq 12$). A média geral foi ajustada pela regressão linear em 25,72 mg (Figura 82).

Resultados semelhantes foram observados por Razzaque & Hanafi (2000) em cultura do abacaxizeiro, cv. 'Gandul', em que a aplicação de cálcio ($0 \leq Ca \leq 64$ de CaO kg/ha) no solo turfoso, não influenciou a massa seca da folha D.

4.4.2.4 Massa seca do caule

A variável massa seca do caule foi significativa somente na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$), conforme os resultados da análise de variância da regressão. No intervalo considerado ($1,5 \leq Ca \leq 12$), a massa seca cresceu com o aumento da concentração de cálcio. Para cada $mM.L^{-1}$ de cálcio acrescido ao meio de cultura, houve um acréscimo de 0,0422 mg de massa (Figura 83).

4.4.2.5 Massa seca da parte aérea

A análise de variância da regressão mostrou que nenhuma tendência significativa foi observada para a variável massa seca da parte aérea, não havendo diferença entre os tratamentos. O coeficiente de determinação mostrou que a variação na massa seca das

folhas foi explicado em apenas 17,1% pela regressão linear com o aumento da concentração de cálcio ($1,5 \leq \text{Ca} \leq 12$). A média geral foi ajustada pela regressão em 27,811 mg (Figura 84).

4.4.2.6 Massa seca das raízes

Os resultados da análise de variância da regressão mostrou que a variável massa seca das raízes foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,05$) e cúbica ($\alpha \leq 0,05$). Optou-se pela regressão polinomial cúbica com maior coeficiente de determinação, na qual a menor massa seca das raízes foi estimada na concentração $3,323 \text{ mM.L}^{-1}$ de cálcio. A partir desse ponto, com o aumento da concentração de cálcio, a massa seca cresceu, segundo a regressão cúbica, até alcançar a maior massa seca das raízes na concentração $9,628 \text{ mM.L}^{-1}$. Após alcançar a coordenada com maior massa, a curva tendeu a decrescer, diminuindo a produção de massa seca (Figura 85).

4.4.2.7 Massa seca total

A análise de variância da regressão mostrou que somente a regressão cúbica ($\alpha \leq 0,05$) foi significativa. No intervalo experimental considerado, a menor massa seca total foi estimada na concentração $3,404 \text{ mM.L}^{-1}$ de cálcio. A partir desse ponto, com o aumento da concentração de cálcio, a massa seca cresceu, segundo a equação cúbica, até alcançar a maior massa seca total na concentração $9,382 \text{ mM.L}^{-1}$. Após alcançar a coordenada com maior massa, a curva tendeu a decrescer, diminuindo a massa seca (Figura 86).

López-Lefebvre et al. (2001) estudando a dinâmica do estado nutricional e produção de biomassa em plantas de fumo, através da aplicação de várias concentrações

de cloreto de cálcio ($1,25 \leq \text{Ca} \leq 3,5 \text{ mM.L}^{-1}$) em solução nutritiva, mostraram que o efeito de cálcio na produção de biomassa dependeu do órgão analisado.

Na espécie *G. paniculata* cultivada *in vitro*, a massa seca aumentou até a concentração $1,25 \text{ mM.L}^{-1}$, após a qual teve pouca variação, na concentração crescente de cálcio ($0 \leq \text{Ca} \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$) no meio, segundo Gribble et al. (2002).

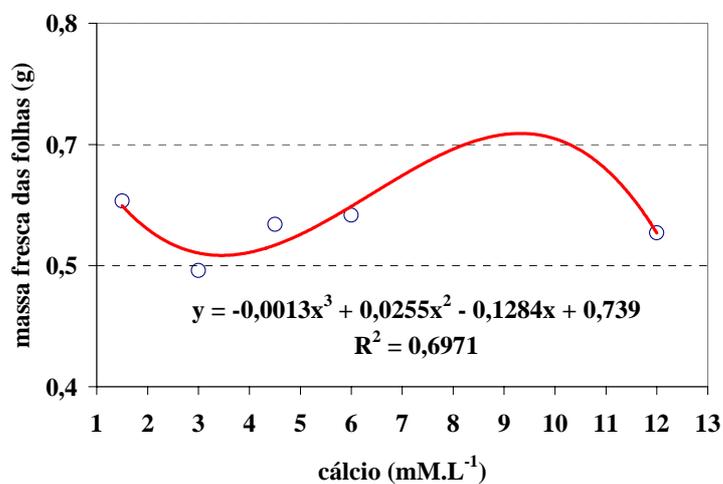


Figura 80 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca das folhas em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

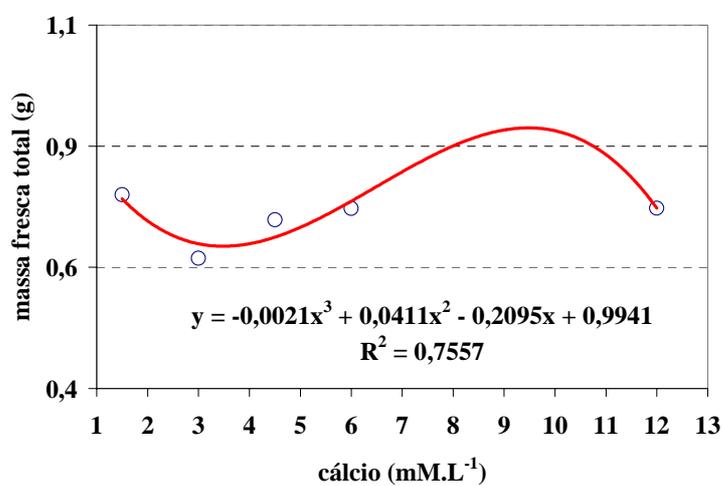


Figura 81 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa fresca total em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

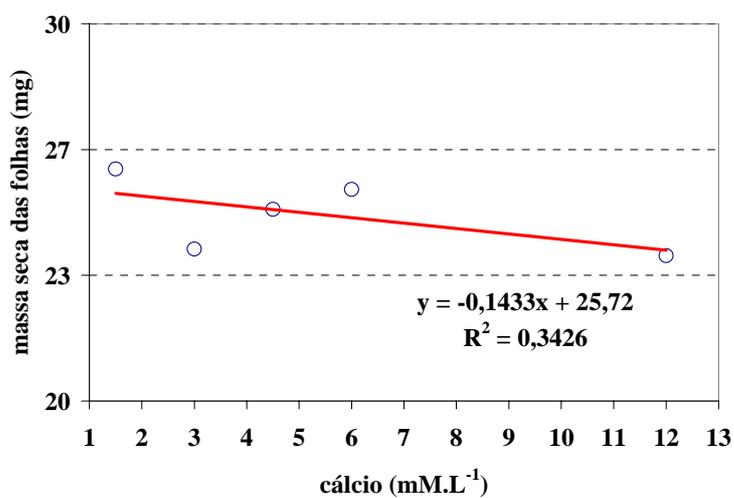


Figura 82 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca das folhas em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

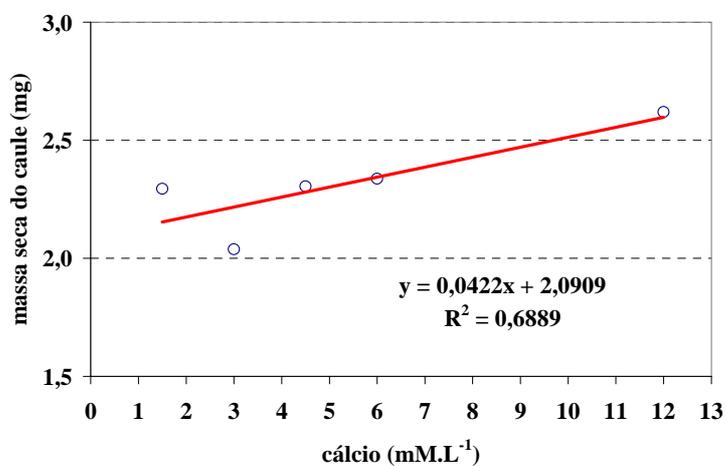


Figura 83 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável massa seca do caule em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

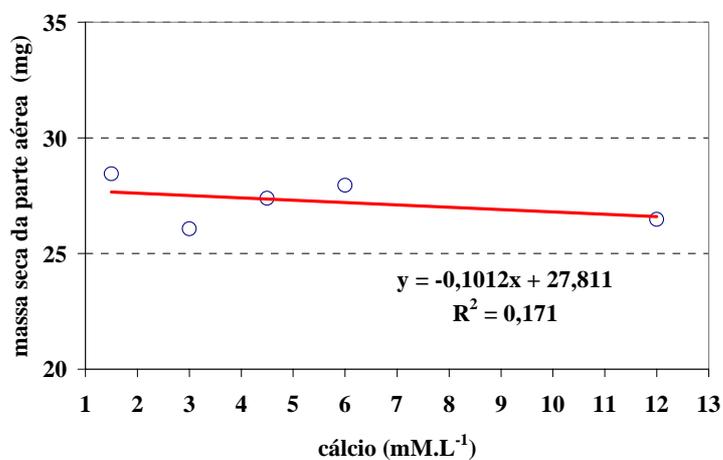


Figura 84 - Médias observadas e funções *ajustadas* para a variável massa seca da parte aérea em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

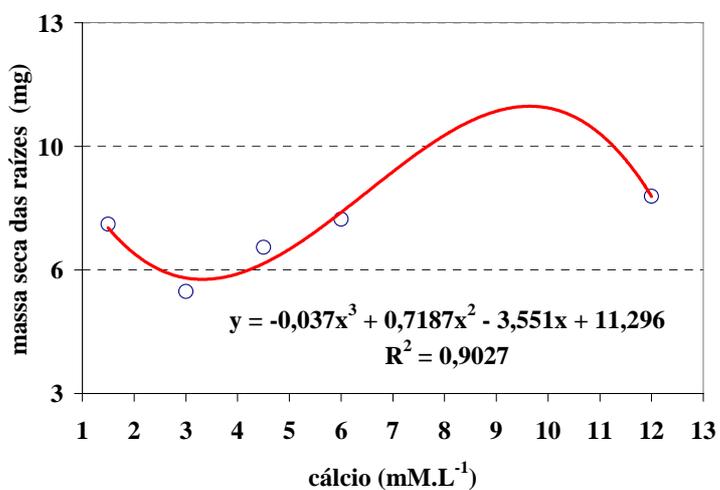


Figura 85 - Médias observadas e funções *ajustadas* para a variável massa seca das raízes em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

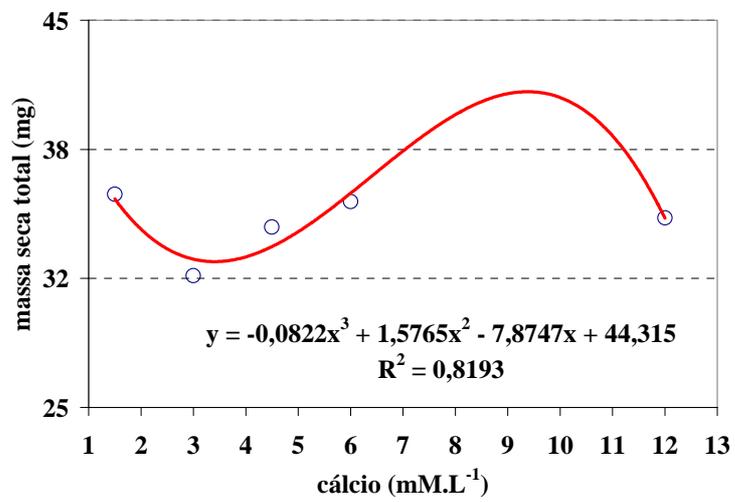


Figura 86 - Médias *observadas* e funções ajustadas para a variável massa seca total em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

4.4.3 Teor de macronutrientes nas folhas

Os dados das variáveis de teor de macronutrientes nas folhas foram submetidos à análise exploratória dos dados e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 24.

Tabela 24. Médias dos teores de macronutrientes nas folhas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de cálcio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

Ca (mM.L ⁻¹)	média					
	macronutriente (g.kg ⁻¹)					
	N	P	K	Ca	Mg	S
1,5	30,2	4,3	57,9	2,0	1,4	3,5
3	31,9	4,5	62,7	4,3	1,2	3,3
4,5	30,2	4,2	62,5	5,3	1,7	3,4
6	27,8	4,4	66,7	6,5	1,9	3,4
12	26,9	4,2	58,9	9,2	2,4	2,9
cv (%)	9,242	8,207	9,992	9,504	10,681	9,061
teste F	ns	ns	ns	***	***	ns
linear	*	ns	ns	***	***	*
quadrática	ns	ns	*	***	ns	ns
cúbica	ns	ns	ns	ns	**	ns

ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.4.3.1 Nitrogênio

A análise de variância da regressão mostrou que na variável nitrogênio, somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,05$) foi significativa. A regressão linear para a variável decresceu linearmente com o aumento da concentração de cálcio no meio de cultura, no intervalo experimental considerado ($1,5 \leq \text{Ca} \leq 12$). A cada mM.L^{-1} de cálcio acrescida ao meio, houve um decréscimo de $0,4126 \text{ g.kg}^{-1}$ de teor de nitrogênio em folhas de *A. blanchetiana* (Figura 87).

Porém, López-Lefebre et al. (2001) estudando a dinâmica do estado nutricional em *N. tabacum*, através da aplicação de várias concentrações de cloreto de cálcio ($1,25 \leq \text{Ca} \leq 3,5 \text{ mM.L}^{-1}$) em solução nutritiva, mostraram que houve um leve aumento na teor de nitrogênio orgânico.

4.4.3.2 Fósforo

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa para a variável teor de fósforo, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. O coeficiente de determinação mostrou que apenas 36,94% da variação do teor de fósforo foi explicado pela regressão linear em função do aumento da concentração de cálcio ($1,5 \leq \text{Ca} \leq 12$). A média geral foi ajustada pela regressão linear em 4,399 mg (Figura 88).

Da mesma forma, o teor de fósforo nas plântulas de *G. paniculata* não mostrou nenhuma tendência com o aumento da concentração de cálcio ($0 \leq \text{Ca} \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$) no meio de cultura, segundo os dados apresentados por Gribble et al. (2002).

Diferente dos resultados encontrados em *A. blanchetiana*, nas plantas de *N. tabacum*, o aumento da concentração de cálcio ($1,25 \leq \text{Ca} \leq 3,5 \text{ mM.L}^{-1}$) na solução

nutritiva causou um gradual declínio no teor de fósforo, segundo López-Lefebvre et al. (2001).

4.4.3.3 Potássio

Os resultados da análise de variância da regressão mostraram que a variável teor de potássio foi significativa somente na regressão quadrática ($\alpha \leq 0,05$). No intervalo experimental considerado ($1,5 \leq Ca \leq 12$), o teor de potássio cresceu, segundo uma regressão quadrática, alcançando o maior teor de potássio na concentração 6,91 mM.L⁻¹ de nitrogênio, após o que decresceu (Figura 89).

Segundo Malavolta et al. 1997, nas interações interiônicas o cálcio em altas concentrações inibe a absorção de potássio pelas plantas e em baixas concentrações tem efeito de sinergismo, aumentando a absorção de potássio. O cálcio em concentração relativamente alta, entre 1 e 5 mM.L⁻¹ é exigido para proteger a membrana dos efeitos deletérios do baixo pH, da salinidade, de íons tóxicos e de desequilíbrios nutricionais. Portanto, essas interações interiônicas, inibição em altas concentrações e sinergismo em baixas concentrações, pode ter contribuído para manter o teor de potássio nas folhas em níveis não significativos, conforme o aumento da concentração de cálcio no meio.

Houve pouca mudança no teor de potássio com o aumento da concentração de cálcio ($1,25 \leq Ca \leq 3,5$ mM.L⁻¹) na solução nutritiva em cultura de *N. tabacum* no experimento conduzido por López-Lefebvre et al. (2001).

Os dados colhidos por Gribble et al. (2002) mostraram que o teor de potássio decresceu com o aumento da concentração de cálcio ($0 \leq Ca \leq 20$ mM.L⁻¹) em plântulas de *G. paniculata* cultivadas em meio de cultura, com possível efeito antagônico de cálcio na absorção de magnésio (Marschner, 1995). Porém, não prejudicou o crescimento, mesmo nas concentrações mais altas de cálcio.

4.4.3.4 Cálcio

A análise de regressão da variável cálcio foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e quadrática ($\alpha \leq 0,001$), sendo que o modelo de segundo grau apresentou maior coeficiente de determinação. Assim, optou-se pela regressão quadrática. No intervalo experimental considerado ($1,5 \leq \text{Ca} \leq 12$), o teor de cálcio nas folhas cresceu com o aumento da concentração de cálcio no meio MS modificado, segundo a regressão quadrática, alcançando o ponto máximo de teor de cálcio na concentração 12 mM.L^{-1} do meio MS modificado (Figura 90).

Da mesma forma, López-Lefebvre et al. (2001) estudando a dinâmica do estado nutricional e produção de biomassa em plantas de fumo, através da aplicação de várias concentrações de cloreto de cálcio ($1,25 \leq \text{Ca} \leq 3,5 \text{ mM.L}^{-1}$) em solução nutritiva, mostraram que como esperado, o cálcio acumulou-se progressivamente com o aumento da concentração desse elemento no meio de cultura. Também, Gribble et al. (2002) mostraram que o teor de cálcio aumentou em plântulas de *G. paniculata* cultivadas em meio de cultura, quando a concentração cálcio foi crescente ($0 \leq \text{Ca} \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$).

Razzaque & Hanafi (2000) observaram em cultura do abacaxizeiro, cv. 'Gandul', semelhante comportamento no qual a aplicação de cálcio ($0 \leq \text{Ca} \leq 64$ de CaO kg/ha) no solo influenciou significativamente o teor de cálcio na folha D, atingindo o maior teor na aplicação de 32 kg de CaO/ha.

4.4.3.5 Magnésio

A análise de variância da regressão da variável magnésio foi significativa nas regressões linear ($\alpha \leq 0,001$) e cúbica ($\alpha \leq 0,01$). Optou-se pelo modelo de regressão cúbica por apresentar maior coeficiente de determinação. No intervalo experimental considerado ($1,5 \leq \text{Ca} \leq 12$), o teor de magnésio nas folhas foi menor na concentração 2,44

mM.L⁻¹ de cálcio do meio de cultura. Após o que, a curva seguiu crescendo, segundo a regressão cúbica, até atingir o máximo de teor de magnésio na concentração 10,04 mM.L⁻¹, quando então tendeu a decrescer (Figura 91).

López-Lefebre et al. (2001) estudando plantas de *N. tabacum*, através da aplicação de várias concentrações de cloreto de cálcio ($1,25 \leq \text{Ca} \leq 3,5$ mM.L⁻¹) em solução nutritiva, mostraram que o aumento do cálcio causou um gradual declínio na concentração de magnésio. Entretanto, os dados colhidos por Gribble et al. (2002) mostraram que o teor de magnésio decresceu com o aumento da concentração de cálcio ($0 \leq \text{Ca} \leq 20$ mM.L⁻¹) em plântulas de *G. paniculata* cultivadas em meio de cultura, com possível efeito antagônico de cálcio na absorção de magnésio (Marschner, 1995). Porém, não prejudicou o crescimento, mesmo nas concentrações mais altas de cálcio.

4.4.3.6 Enxofre

A análise de variância da regressão mostrou que somente a regressão linear ($\alpha \leq 0,05$) foi significativa. Assim, o teor de enxofre decresceu linearmente, com o aumento da concentração de cálcio no meio de cultura ($1,5 \leq \text{Ca} \leq 12$), sendo que para cada mM.L⁻¹ de cálcio presente no meio de cultura, houve um decréscimo de 0,0483 g.kg⁻¹ de teor de enxofre nas folhas (Figura 92).

Resultado semelhante foi encontrado por Gribble et al. (2002) em que o teor de enxofre nas plântulas de *G. paniculata* mostrou tendência ao decréscimo com o aumento da concentração de cálcio ($0 \leq \text{Ca} \leq 20$ mM.L⁻¹) no meio de cultura.

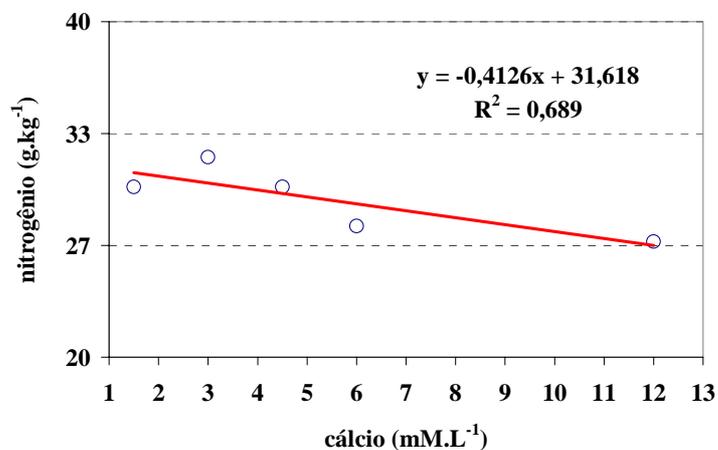


Figura 87 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável nitrogênio em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

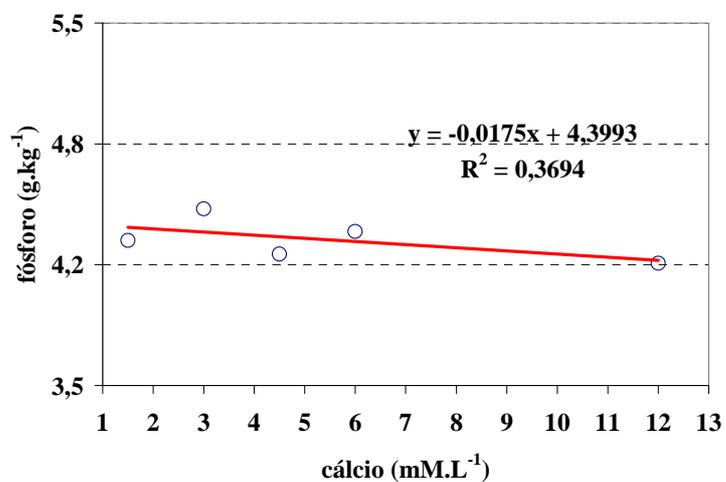


Figura 88 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável fósforo em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

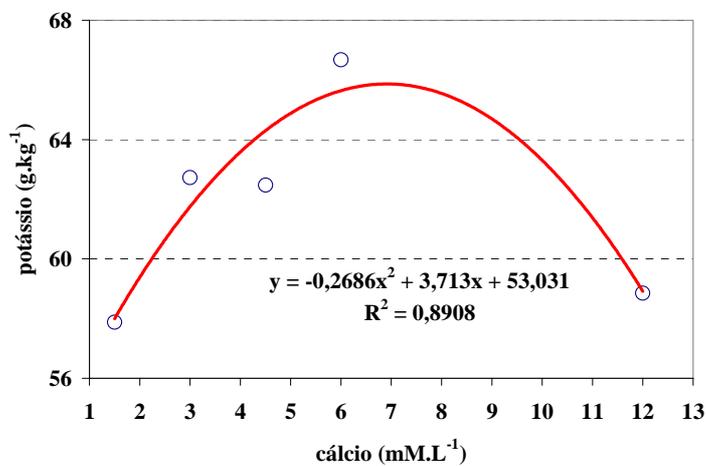


Figura 89 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável potássio em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

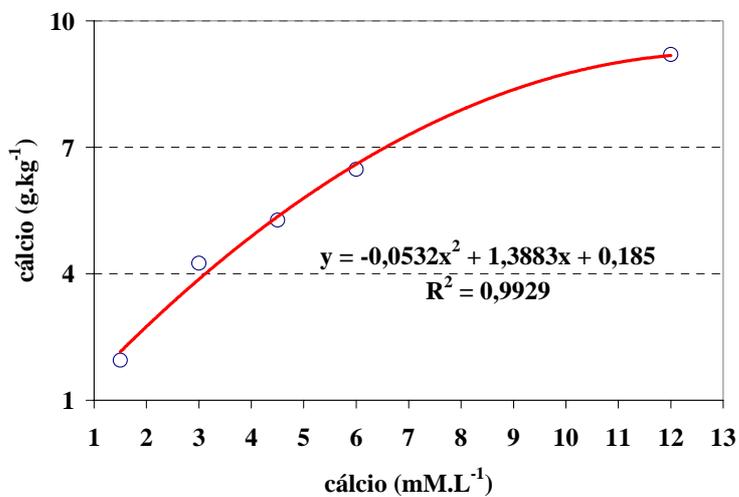


Figura 90 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável cálcio em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

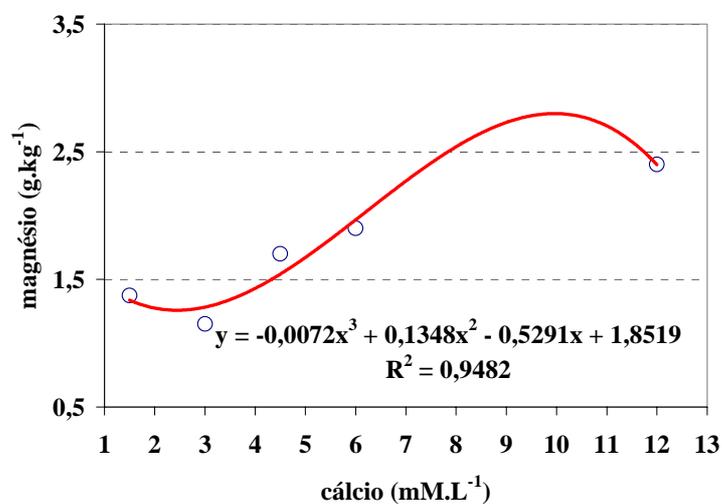


Figura 91 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável magnésio em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

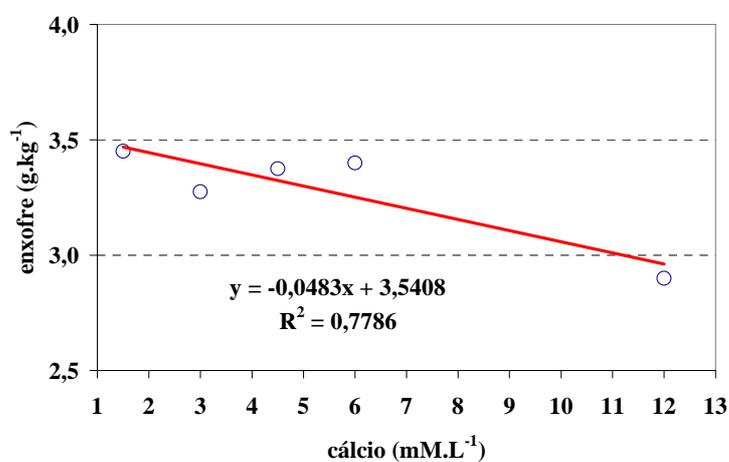


Figura 92 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável enxofre em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

4.4.4 Teor de micronutrientes nas folhas

Os dados das variáveis de teor de micronutrientes nas folhas foram submetidos à análise exploratória e posteriormente à análise da variância da regressão, sendo que as significâncias dos efeitos da regressão e teste F estão dispostas na Tabela 25.

Tabela 25. Médias dos teores de micronutrientes nas folhas da espécie *A. blanchetiana* em função de diferentes concentrações de cálcio no meio de cultura, significância dos efeitos de regressão e teste F

Ca (mM.L ⁻¹)	média					
	micronutriente (mg.kg ⁻¹)					
	B	Cu	Fe do	Fe log [Fe]	Mn	Zn
1,5	43,6	12,4	541,5	2,734	183,7	118,4
3	39,4	13,3	493,8	2,694	201,0	126,4
4,5	45,5	12,9	496,3	2,696	172,2	103,6
6	46,0	12,2	463,8	2,666	160,7	95,5
12	41,9	12,9	455,0	2,658	147,6	81,8
cv (%)	12,167	8,079	—	2,379	8,871	9,064
teste F	ns	ns	—	ns	**	***
linear	ns	ns	—	ns	***	***
quadrática	ns	ns	—	ns	ns	ns
cúbica	ns	ns	—	ns	*	*

do= dados originais; ns = não significativo ($\alpha > 0,05$); * = significativo a 5% ($\alpha \leq 0,05$); ** = significativo a 1% ($\alpha \leq 0,01$), *** = significativo a 0,1% ($\alpha \leq 0,001$)

4.4.4.1 Boro

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. O coeficiente de

determinação 0,001, próximo a zero, mostrou que não houve inclinação na reta ajustada na variável teor de boro com o aumento da concentração de cálcio ($1,5 \leq Ca \leq 12$). Dessa forma, deduziu-se que o intercepto da regressão linear ajustou o teor médio de boro nas folhas em $43,389 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Figura 93).

No entanto, López-Lefebre et al. (2001) em plantas de *N. tabacum*, através da aplicação de várias concentrações de cloreto de cálcio ($1,25 \leq Ca \leq 3,5 \text{ mM.L}^{-1}$) em solução nutritiva, mostraram que o boro foi influenciado positivamente com o aumento do cálcio. Uma notável relação sinérgica foi encontrada entre cálcio e boro.

Os dados colhidos por Gribble et al. (2002) mostraram que o teor de boro tendeu a diminuir em plântulas de *G. paniculata* cultivadas em meio de cultura com concentração crescente de cálcio ($0 \leq Ca \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$).

4.4.4.2 Cobre

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa para a variável teor de cobre, não havendo diferença significativa entre os efeitos dos tratamentos. O valor 0,0065 do coeficiente de determinação, próximo a zero, mostrou que não houve inclinação na reta ajustada no teor de cobre com o aumento da concentração de cálcio ($1,5 \leq Ca \leq 12$). Deduziu-se que o intercepto da regressão linear estimou o teor médio de cobre nas folhas em $12,679 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Figura 94).

Segundo Malavolta et al. 1997, o cálcio diminui a absorção exagerada de cobre, evitando a fitotoxidez, fenômeno conhecido como antagonismo. Portanto, esse efeito pode estar relacionado à falta de variação do teor de cobre observada nas folhas de *A. blanchetiana*, conforme o aumento do teor de cálcio no meio.

Entretanto, López-Lefebre et al. (2001) estudando a dinâmica do estado nutricional em plantas de fumo, através da aplicação de várias concentrações de cloreto de cálcio ($1,25 \leq Ca \leq 3,5 \text{ mM.L}^{-1}$) em solução nutritiva mostrou que a concentração de cobre nas raízes declinou significativamente com o aumento da aplicação de cálcio.

4.4.4.3 Ferro

A análise de variância da regressão não mostrou nenhuma tendência significativa, não havendo diferença entre os efeitos dos tratamentos. A média geral foi ajustada em 528,445 mg (antilog de 2,723) pela regressão linear (Figura 95).

Diferente dos resultados encontrados em *A. blanchetiana*, Gribble et al. (2002) mostraram que o teor de ferro tendeu a aumentar em plântulas de *G. paniculata* cultivadas em meio de cultura com concentração crescente de cálcio ($0 \leq \text{Ca} \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$). Da mesma forma, López-Lefebre et al. (2001) trabalhando com plantas de *N. tabacum*, em várias concentrações de cloreto de cálcio ($1,25 \leq \text{Ca} \leq 3,5 \text{ mM.L}^{-1}$) em solução nutritiva, mostraram que o teor do micronutriente ferro cresceu com o aumento da concentração de cálcio.

4.4.4.4 Manganês

Os resultados da análise de variância da regressão mostraram que a variável massa seca das raízes foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e cúbica ($\alpha \leq 0,05$). Optou-se pelo modelo linear por representar melhor o comportamento biológico. Portanto, com o aumento da concentração de cálcio no meio, o teor de manganês nas folhas decresceu linearmente. Para cada mM.L^{-1} de cálcio acrescido ao meio de cultura, houve um decréscimo de 4,30 mg de manganês nas folhas (Figura 96).

Diferente dos resultados obtidos em *A. blanchetiana*, López-Lefebre et al. (2001) mostraram que o teor de manganês em plantas de *N. tabacum* cresceu com o aumento da concentração de cálcio no meio de cultivo. Para tanto, foram aplicadas várias concentrações de cloreto de cálcio ($1,25 \leq \text{Ca} \leq 3,5 \text{ mM.L}^{-1}$) em solução nutritiva.

Dados colhidos por Gribble et al. (2002) mostraram que o menor teor de manganês foi na maior concentração de cálcio, enquanto que nas demais concentrações

não diferiram entre si nas plântulas de *G. paniculata* cultivadas em meio de cultura com concentração crescente de cálcio ($0 \leq \text{Ca} \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$).

4.4.4.5 Zinco

Os resultados da análise de variância da regressão mostraram que a variável zinco foi significativa na regressão linear ($\alpha \leq 0,001$) e cúbica ($\alpha \leq 0,05$). Optou-se pela regressão polinomial linear por melhor representar o comportamento biológico, mostrando que com o incremento da concentração de cálcio no meio de cultura, o teor de zinco decresceu linearmente. Para cada mM.L^{-1} de cálcio acrescido ao meio MS modificado, houve um decréscimo de 3,9768 mg no teor de zinco nas folhas (Figura 97).

Da mesma forma, os dados colhidos por Gribble et al. (2002) mostraram que o teor de zinco diminuiu com o aumento da concentração de cálcio ($0 \leq \text{Ca} \leq 20 \text{ mM.L}^{-1}$), sendo que os maiores valores foram nos tratamentos 0 e $0,65 \text{ mM.L}^{-1}$ e os menores nos demais tratamentos em plântulas de *G. paniculata* cultivadas em meio de cultura. Entretanto, López-Lefebre et al. (2001) estudando plantas de *N. tabacum*, através da aplicação de várias concentrações de cloreto de cálcio ($1,25 \leq \text{Ca} \leq 3,5 \text{ mM.L}^{-1}$) em solução nutritiva, mostraram que o teor de zinco foi influenciado positivamente com o aumento da concentração de cálcio no meio.

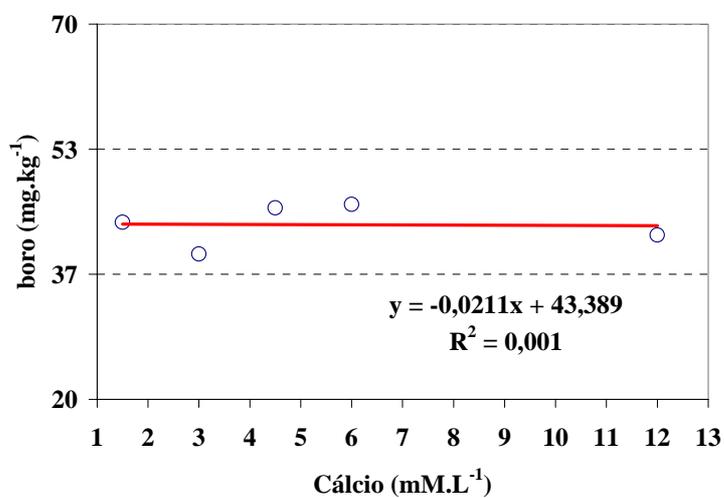


Figura 93 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável boro em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

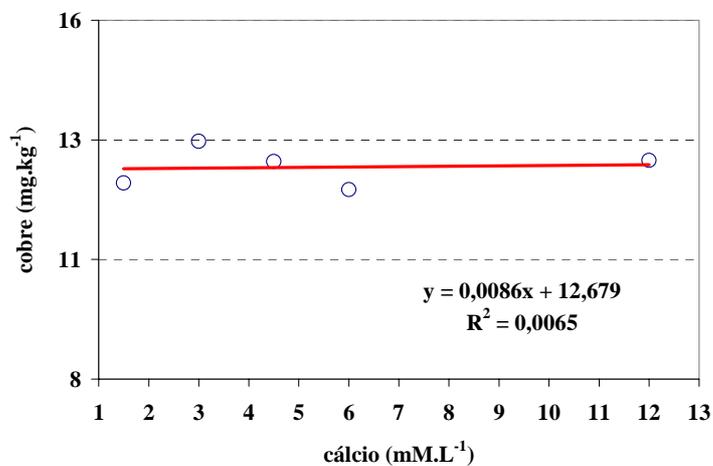


Figura 94 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável cobre em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

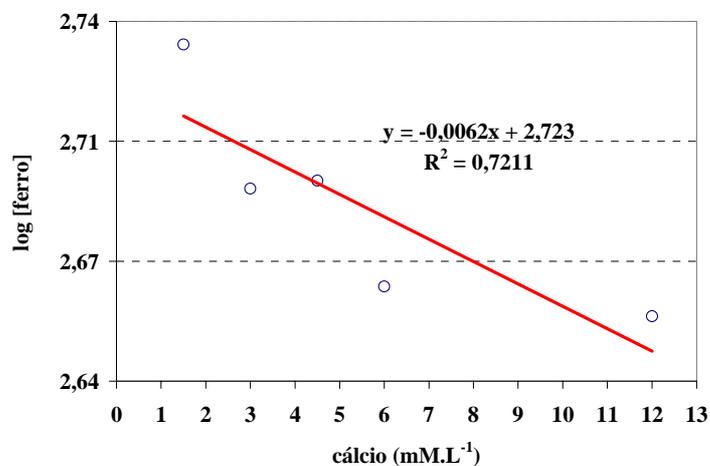


Figura 95 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável ferro em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

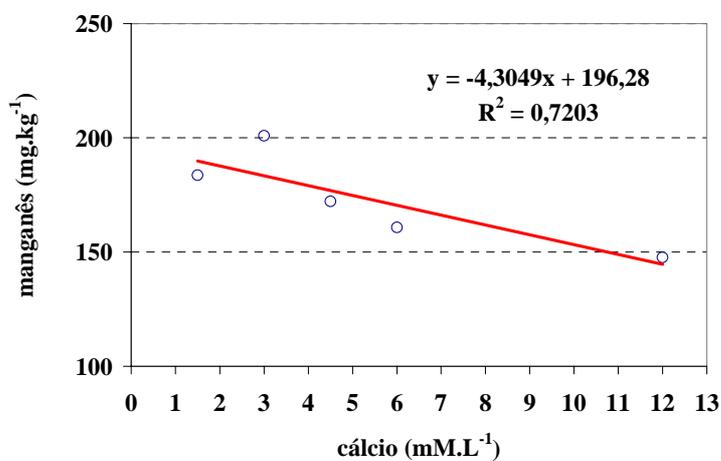


Figura 96 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável manganês em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

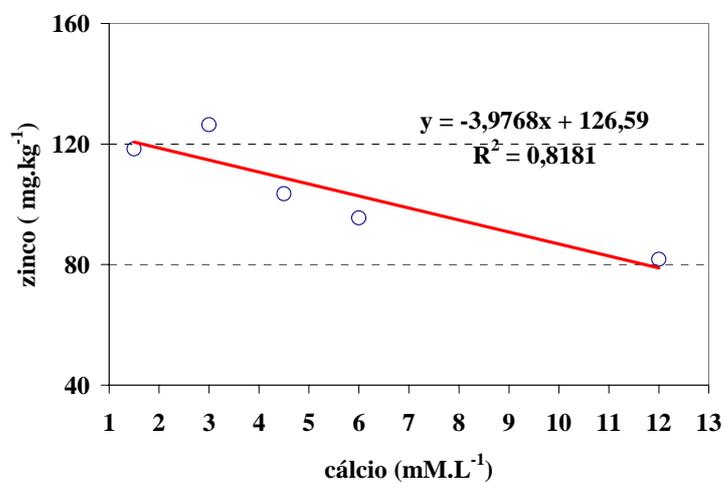


Figura 97 - Médias observadas e funções ajustadas para a variável zinco em função da concentração de cálcio na espécie *A. blanchetiana*

4.5 Considerações gerais

A concentração ideal para o crescimento *in vitro* das plântulas de *A. blanchetiana* foi $7,5 \text{ mM.L}^{-1}$ de nitrogênio no meio MS modificado. Promoveu a maior produção de massa seca e fresca, tanto da parte aérea como radicular, sendo que concentrações maiores mostraram-se excessivas.

Os teores de magnésio, boro, manganês e zinco decresceram, enquanto que os teores de nitrogênio, potássio e cobre nas folhas de *A. blanchetiana* cresceram com o aumento da concentração de nitrogênio no meio MS modificado.

Os teores de fósforo, cálcio e ferro nas folhas de *A. blanchetiana* não foram influenciados pelo aumento da concentração de nitrogênio no meio MS modificado.

O teor de potássio nas folhas de *A. blanchetiana* cresceu até alcançar valor máximo na concentração $73,0 \text{ mM.L}^{-1}$ e decresceu conforme o aumento de nitrogênio no meio MS modificado.

A concentração ideal para o crescimento *in vitro* das plântulas de *A. blanchetiana* foi $2,5 \text{ mM.L}^{-1}$ de fosfato no meio MS modificado, que proporcionou a maior produção de massa fresca e seca, tanto na parte aérea como no sistema radicular.

Os teores de fósforo e enxofre nas folhas de *A. blanchetiana* cresceram, enquanto que o teor de zinco decresceu com o aumento da concentração de fosfato no meio MS modificado.

Os teores de nitrogênio, potássio, boro, cobre e ferro nas folhas de *A. blanchetiana* não foram alterados com o aumento da concentração de fosfato no meio MS modificado.

Os teores de cálcio, magnésio e manganês nas folhas de *A. blanchetiana* decresceram até as concentrações $1,77$; $1,59$ e $1,57 \text{ mM.L}^{-1}$ de fosfato respectivamente e posteriormente cresceram.

O diâmetro do caule e folha com maior largura cresceram, enquanto que o comprimento da plântula e número de raízes não foram influenciados no crescimento pelo aumento da concentração do fosfato no meio.

A concentração ótima de potássio no meio MS modificado foi de $32,60 \text{ mM.L}^{-1}$, em média, estimada a partir de massas dos diferentes órgãos de *A. blanchetiana*, sendo que as concentrações maiores mostraram os efeitos do excesso de potássio no meio de cultura MS modificado.

Os teores de nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco nas folhas de *A. blanchetiana* decresceram com aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, enquanto que o fósforo decresceu a partir de $25,09 \text{ mM.L}^{-1}$.

O teor de boro nas folhas de *A. blanchetiana* não modificou com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado.

O teor de potássio nas folhas de *A. blanchetiana* cresceu com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado.

O número de raízes, comprimento da maior raiz, diâmetro do caule, folha com maior largura, massa seca do caule e das raízes cresceram com o aumento da concentração de potássio no meio MS modificado, enquanto que o número de folhas decresceu.

O cálcio promoveu o maior incremento da massa fresca e seca na concentração $9,382 \text{ mM.L}^{-1}$, em média, e foi prejudicial após esse valor, mostrando os efeitos do excesso desse nutriente, enquanto o cloro no meio MS modificado, tendo como fonte o $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, foi essencial à produtividade da massa fresca e seca na concentração $3,35 \text{ mM.L}^{-1}$, em média. Assim, é recomendável a utilização de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ como fonte de cálcio no meio MS modificado para o crescimento *in vitro* de *A. blanchetiana*.

O comprimento da plântula, folha com maior largura, número de folhas, massa seca das folhas e da parte aérea não alteraram com o aumento da concentração de cálcio no meio MS modificado, enquanto que o diâmetro do caule e a massa seca do caule cresceram.

O teor de nitrogênio, enxofre, manganês e zinco nas folhas de *A. blanchetiana* decresceram com o aumento da concentração de cálcio no meio MS modificado.

O teor de potássio e magnésio nas folhas de *A. blanchetiana* cresceu até as concentrações 6,91 e 10,04 mM.L⁻¹ respectivamente, acima das quais a concentração de cálcio no meio MS modificado mostrou ser excessiva.

O teor de fósforo, boro, cobre e ferro nas folhas de *A. blanchetiana* não variou com o aumento da concentração no meio MS modificado.

O teor de cálcio nas folhas de *A. blanchetiana* cresceu com o aumento da concentração de cálcio no meio MS modificado.

O cultivo *in vitro* de plântulas de *A. blanchetiana*, mostraram que a concentração ótima de nitrogênio diminuiu e as concentrações com melhores resultados de fósforo, potássio e cálcio aumentaram em relação às concentrações utilizadas no meio MS básico. Dessa forma, para melhor compreender a relação entre os nutrientes é recomendável que sejam realizadas experimentos para determinar as interações entre o nitrogênio, fósforo, potássio e cálcio no cultivo *in vitro* das plântulas de *A. blanchetiana*.

5 CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que as diferentes concentrações de nitrogênio, fósforo, potássio e cálcio influenciaram o crescimento das plântulas de *A. blanchetiana* cultivadas *in vitro* no meio MS.

A concentração ótima para o crescimento das plântulas de *A. blanchetiana* foi 7,5 mM.L⁻¹ de nitrogênio no meio MS modificado, resultando na maior produção de massa seca e fresca, tanto da parte aérea como radicular.

A concentração 2,5 mM.L⁻¹ de fosfato no meio MS modificado favoreceu o crescimento das plântulas de *A. blanchetiana*, proporcionando a maior produção de massa fresca e seca, tanto na parte aérea como no sistema radicular.

A concentração ótima de potássio no meio MS modificado foi de 32,60 mM.L⁻¹, proporcionando a máxima produção de massa fresca e seca em plântulas de *A. blanchetiana*.

O cálcio promoveu a maior produção de massa fresca e seca em plântulas de *A. blanchetiana* na concentração 9,38 mM.L⁻¹ no meio MS modificado.

O íon cloro foi excessivo na concentração 3,35 mM.L⁻¹ no meio MS modificado, prejudicando a produção de massa fresca e seca em plântulas de *A. blanchetiana*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, A.F.C. Comportamento *in vitro* de explantes de matrizes de cenoura (*Daucus carota* L.) tratadas com variáveis níveis de potássio. Piracicaba, 2003. 103p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- AMIRI, M.E. Mineral uptake by banana (*Musa acuminata* L.) explant *in vitro*. **Acta Horticulturae**, n.529, p.387-389, 2000.
- ANDRADE, F.S.A.; DEMATTÊ, M.E.S.P. Estudo sobre produção e comercialização de bromélias nas regiões sul e sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.5, n.2, p.97-110, 1999.
- AVILA, A. de L.; PEREYRA, S.M.; ARGÜELLO, J.A. Nitrogen concentration and proportion of NH_4^+ -N affect potato cultivar response in solid and liquid media. **HortScience**, v.33, n.2, p.336-338, 1998.
- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 3.ed. Jaboticabal: Funep, 1995. 247p.
- BENZING, D.H. **Vascular epiphytes**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. 354p.

- BENZING, D.H. **Bromeliaceae**: profile of an adaptive radiation. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. 690p.
- CHAIRIDCHAI, P. The relationships between nitrate and molybdenum contents in pineapple grown on an inceptisol soil. **Acta Horticulturae**, n.529, p.211-216, 2000.
- CHONGPRADITNUN, P.; LUKSANAWIMOL, P.; LIMSMUTHCHAIPORN, P.; VASUNUN, S. Effect of fertilizers on the content of nitrate in pineapple fruit. **Acta Horticulturae**, n.529, p.217-220, 2000.
- COSTA, A.; FONTOURA, T. Bromélias do Rio de Janeiro. **Ciência Hoje**, n.9, p.8-9, 1989.
- DALLDORF, E.R. The effect of plant population and nitrogen fertilizer on growth, yield and fruit quality of smooth cayenne pineapple. **Acta Horticulturae**, n.334, p.221-226, 1993.
- DIJK, E.; ECK, N. Ammonium toxicity and nitrate response of axenically grown *Dactylorhiza incarnata* seedlings. **New Phytologist**, v.131, p.361-367, 1995a.
- DIJK, E.; ECK, N. Axenic *in vitro* nitrogen and phosphorus responses of some Dutch marsh orchids. **New Phytologist**, v.131, p.353-359, 1995b.
- DONATO, V.M.T.S.; ANDRADE, A.G. de; SOUZA, E.S. de; FRANÇA; J.G.E. de. Metabolismo de plantas de cana-de-açúcar cultivadas *in vitro* sob diferentes concentrações de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.12, p.1373-1379, dez. 2003.

- ELLIOT, G.C; SMITH, M A.; BRIDGEN, M.P. Growth response of *Alstroemeria* 'Parigro Pink' to phosphate supply *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.32, p.199-204, 1993.
- ENDRES, L.; SOUZA, B.M.; MERCIER, H. *In vitro* nitrogen nutrition and hormonal pattern in bromeliads. **In vitro Cellular and Development Biology**, v.38, p.481-486, Sept./Oct. 2002.
- EVANS, N.E. A preliminary study on the effects of nitrogen supply on the growth *in vitro* of nine potato genotypes (*Solanum* spp.). **Journal of Experimental Botany**, v.44, n.261, p.837-841, Apr. 1993.
- GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, v.50, p.151-158, Apr. 1968.
- GARCÍA, J.L.; SARMIENTO, R.; TRONCOSO, A; MAZUELOS, C. Effects of the nitrogen source and concentration on N fractions in olive seedlings. **Acta Horticulturae**, n.356, p.193-196, 1994.
- GIACOMETTI, D.C. Impacto atual da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, AC.; CALDAS, L.S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP; EMBRAPA, 1990. p.19-28.
- GOMES, M.A.N.; SHEPHERD, S.L.K. Estudo de nutrição mineral *in vitro* relacionado à adaptação de *Sinningia allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae) às condições de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v.23, n.2, p.153-159, jun. 2000.

- GRIBBLE, K.; CONROY, J.P., HOLFORD, P.; MILHAM, P.J. *In vitro* uptake of minerals by *Glypsophila paniculata* and hybrid eucalypts, and relevance to media mineral formulation. **Australian Journal of Botany**, v.50, p.713-723, 2002.
- GROSSI, F. Aspectos da nutrição nitrogenada *in vitro* e atividade da redutase de nitrato em uma espécie de bromélia. Piracicaba, 2000. 116p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.
- ILIEVA, M.; PAVLOV, A. Rosmarinic acid by *Lavandula vera* MM cell suspension: phosphorus effect. **Biotechnology Letters**, v.18, n.8, p.913-916, Aug. 1996.
- JONES Jr., J.B.; WOLF, B.; MILLS, H.A. **Plant analysis handbook**. Athens: Micro-macro Publishing, 1991, 213p.
- KANASHIRO, S. Efeitos de diferentes substratos na produção da espécie *Aechmea fasciata* (Lindley) Baker em vasos. Piracicaba, 1999. 79p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- KIYUNA, I.; FRANCISCO, V.L.F.S.; COELHO, P.J.; CASER, D.V.; ASSUMPCÃO, R.; ÂNGELO, J.A. Floricultura brasileira no início do século XXI: o perfil do produtor. **Informações Econômicas**, v.34, n.4, p.14-32, abr. 2004.
- LEIFERT, C. MURPHY, K.P.; LUMSDEN, P.J. Mineral and carbohydrate nutrition of plant cell and tissue cultures. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.14, n.2, p.83-109, 1995.
- LEME, E.M.C.; MARIGO, L.C. **Bromélias na natureza**. Rio de Janeiro: Marigo Comunicação Visual, 1993. 183p.

- LIU, S.; ZHONG, J.J. Effects of potassium ion on cell growth and production of ginseng saponin and polysaccharide in suspension cultures of *Panax ginseng*. **Journal of Biotechnology**, v.52, p.121-126, 1996.
- LÓPEZ-LEFEBRE, L.R. RIVIERO,; R.M.; GARCIA, P.C.; SÁNCHEZ, E.; RUIZ, J.M.; ROMERO, L. Effect of calcium on mineral nutrient uptake and growth of tobacco. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.81, p.1334-1338, Sept. 2001.
- LORENZI, H.; MELLO-FILHO, L.E. de. **As plantas tropicais de R. Burle Max.** Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2001. 488p.
- LORENZI, H.; SOUZA, H.M. de. **Plantas ornamentais no Brasil:** arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 1088p.
- MAGALHÃES, A.C.N. Análise quantitativa do crescimento. In: FERRI, M.G. (Ed.) **Fisiologia vegetal 1.** São Paulo: EPU;EDUSP, 1979. cap.8, p.331-350.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas.** São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas:** princípios e aplicações. 2.ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, 1997. 319p.
- MARCHAL, J.; ALVARD, D. Influence du rythme de renouvellement des solutions de culture *in vitro* d'ananas sur milieu liquide. **Fruits**, v.43, n.12, p.701-707, Dez. 1988.

- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2.ed. London: Academic Press, 1995. 500p.
- MATSUNAGA, M. Floricultura como alternativa econômica na agricultura. **Informações Econômicas**, v. 25, n.11, p. 94-98, nov. 1995.
- MELO, T.B. de As bromélias no paisagismo. **Bromélia**, n. 1, v.3, p.3-7, mar. 1996.
- MERCIER, H.; KERBAUY, G.B. Micropropagation of ornamental bromeliads (Bromeliaceae). In: BAJAJ, Y.P.S. (Ed.). **Biotechnology in agriculture and forestry 40: High Tech and Micropropagation VI**. Berlin: Springer-Verlag, 1997. p.43-57.
- MERCIER, H.; NIEVOLA, C.C. Obtenção de bromélias *in vitro* como estratégia de preservação. **Vidalia**, v.1, n.1, p.57-62, jul./dez. 2003.
- MILLS, H.A.; JONES, J.B. Jr. **Plant analysis handbook II**. Athens: Micro-macro Publishing, 1996. 422p.
- MONTEIRO, A.C.B.A.; HIGASHI, E.N.; GONÇALVES, RODRIGUEZ, A.P.M. A novel approach for the definition of the inorganic medium components for micropropagation of yellow passionfruit (*Passiflora edulis* Sims. *f. flavicarpa* Deg.). **In Vitro Cellular and Development Biology**, v.36, p.527-531, Nov./Dec. 2000.
- MONTORO, P.; ETIENNE, H.; CARRON, M.P. Effect of calcium on callus friability and somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* Mull. Arg.: relations with callus mineral nutrition, nitrogen metabolism and water parameters. **Journal of Experimental Botany**, v.46, n.283, p.255-261, 1995.

- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- NAIK, P.S.; SARKAR, D. Effect of potassium on potato microtuber production *in vitro*. **Biologia Plantarum**, v.41, n.1, p.121-125, 1998.
- NOGUEIRA, M.C.S. **Estatística experimental aplicada à experimentação agrícola**. Piracicaba: ESALQ, 1994. 204p.
- PAULA, M.B. de; MESQUITA, H.A. de; NOGUEIRA, F.D. Nutrição e adubação do abacaxizeiro. **Informe Agropecuário**, v.19, n.195, p.33-39, 1998.
- PASQUAL, M.; MOREIRA, M.A.; ANJOS SOBRINHO, A. dos. Biotecnologia aplicada à produção de mudas de abacaxi. **Informe Agropecuário**, v.19, n.195, p.20-23, 1998.
- PÉREZ, A.; NÁPOLES, C.; CARVAJAL, C.; HERNANDEZ, M.; LORENZO, J.C. Effect of sucrose, inorganic salts, inositol, and thiamine on protease excretion during pineapple culture in temporary immersion bioreactors. **In Vitro Cellular and Development Biology**, v.40, p.311-316, May/June 2004.
- PIMENTEL, G.F. **A estatística moderna na pesquisa agropecuária**. Piracicaba: Potafós, 1984. 157p.
- POOLE, R.T.; CONOVER, C.A. Nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization of the bromeliad *Aechmea fasciata* Baker. **HortScience**, v.11, n.6, p.585-586, 1976.
- RAMAGE, C.M.; WILLIAMS, R.R. Mineral nutrition and plant morphogenesis. **In Vitro Cellular and Development Biology**, v.38, p.115-124, 2002.

- RAZZAQUE, A.H.M.; HANAFAI, M.M. Effect of calcium on pineapple production in tropical peat soil. **Indian Journal of Horticulture**, v.57, n.2, p.110-113, 2000.
- REITZ, R. **Bromeliáceas e malária-bromélia endêmica**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1983. 808p.
- RUSSOWSKI, D.; NICOLOSO, F.T. Nitrogênio e fósforo no crescimento de plantas de ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] cultivadas *in vitro*. **Ciência Rural**, v.33, n.1, p.57-63, jan./fev. 2003.
- SARMIENTO, R.; GARCIA, J.L.; MAZUELOS, C.; LINAN, J.; TRONCOSO, A. Effect of the form and concentration of N on the growth and mineral composition of olive seedlings. **Acta Horticulturae**, n.356, p.156-161, 1994.
- SAS INSTITUTE **The SAS-system for windows**: release 6.11. Cary, 1996.
- SELAMAT, M.M.; RAMLAH, M. The response of pineapple cv. 'Gandul' to nitrogen, phosphorus, and potassium on peat soil in Malasia. **Acta Horticulturae**, n.334, p.247-254, 1993.
- SOUZA, L.F.S.; GONÇALVES, N.B.; CALDAS, R. C.; SOARES, A. G.; MEDINA, V.M. Influência da adubação potássica nos teores foliares de nutrientes do abacaxizeiro 'Pérola'. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., Belém, 2002. **Anais**. Belém http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/climassolosnutricao/522.htm (24 nov. 2004)
- SPIRONELLO, A.; QUAGGIO, J.A.; TEIXEIRA, L.A.J.; FURLANI, R.; SIGRIST, J.M.M. Pineapple yield and fruit quality effected by NPK fertilization in a tropical soil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.1, p.155-159, abr. 2004.

- SRISKANDARAJAH, S.; SKIRVIN, R.M.; ABU-QAOUD, H. The effect of some macronutrientes on adventitious root development on scion apple cultivars *in vitro*. **Planta Cell, Tissue and Organ Culture**, v.21, p.185-198, 1990.
- STANCATO, G.C.; FARIA, R.T. *In vitro* growth and mineral nutrition of the lithophytic orchid *Laelia cinnabarina* Batem. (Orchidaceae) I: Effects of macro and microelements. **Lindleyana**, v.11, p.41-43, 1996.
- SWEBY, D.L.; HUCKETT, B.I.; WATT, M.P. Effects of nitrogen nutrition on salt-stressed *Nicotiana tabacum* var. Samsun *in vitro* plantlets. **Journal of Experimental Botany**, v.45, n.276, p.995-1008, July 1994.
- TERRER, J.C.; TOMAS, D.F. Determination of macronutrients to be included *in vitro* culture media according to leaf concentrations. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v.76, n.4, p.484-488, 2001
- VITARI, M. Bromélia: produção e proteção. **Ecologia e Desenvolvimento**, v.3, n.37, p.15-17, mar. 1994.
- WILLIAMS, R.R. Factors determining mineral uptake *in vitro*. **Acta Horticulturae**, n.289, p.165-169, 1991.
- ZAIDAN, H.A.; OLIVEIRA, E.T. de; GALLO, L.A.; CROCOMO, O.J.; Comportamento fisiológico *in vitro* de bananeira (*Musa* sp. AAA e AAB) cvs. Nanica e Prata Anã: influência de diferentes níveis de potássio. **Scientia Agricola**, v.56, n.2, p.397-406, 1999.

- ZARRABEITIA, A.; LEJARCEGUI, X.; VERAMENDI, J.; MINGO-CASTEL, A.M.
Influence of nitrogen supply on micropropagation and subsequent microtuberization of four potato cultivars. **American Journal of Potato**, v.74, p.369-378, 1997.
- ZIMMER, K. Bromeliaceae (Ornamentals). In: HAVLEVY, A.H. **CRC Handbook of flowering**. Boca Raton: CRC Press, 1985. v.2, p.78-81.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **Manual do SANEST**: sistema de análise estatística para microcomputadores. Pelotas: UFPel, 1991. 102p.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)