

JOSÉ DARLAN RAMOS

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DO FRUTO, MICROPROPAGAÇÃO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DO PORTA-ENXERTO TANGERINA 'SUNKI' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.)

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de «Doutor».

Orientador

Prof. Dr. Moacir Pasqual

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1994

JOSE MARILAN RAMOS

DEPARTAMENTO
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

EXERCITO TANGERINA (Citrus sinensis Hort. ex Tam.)
PACIFIC E GERMINACAO DE SEMENTES DO PORTA-
CARACTERIZACAO FENOTIPICA DO FRUTO MICROPRO-

For apresentada a Faculdade Superior de Agronomia
com o objetivo de estudar as características do fruto
da Tangerina e a germinação das sementes.
Este trabalho foi realizado em Lavras, Minas Gerais,
em 1964.

Orientador:
Prof. Dr. Manoel Paschoal

[Faint handwritten notes and scribbles]

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1964

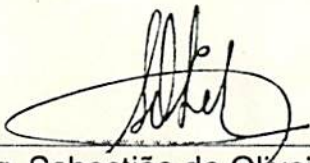


JOSÉ DARLAN RAMOS

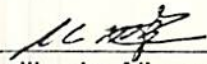
CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DO FRUTO, MICROPROPAGAÇÃO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DO PORTA-ENXERTO TANGERINA 'SUNKI'
(*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.)

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de "Doutor".

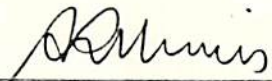
APROVADA: 28 de janeiro de 1994



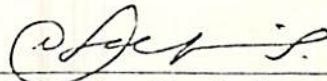
Pesq. Sebastião de Oliveira e Silva



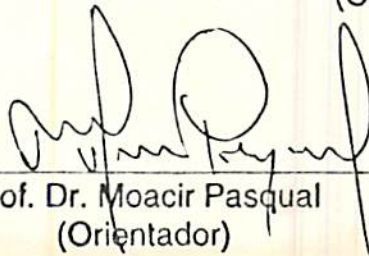
Pesq. Murillo de Albuquerque Regina



Prof. Dr. Augusto Ramalho de Moraes
(Co-orientador)



Prof. Dr. Nilton Nagib Jorge Chalfun
(Co-orientador)



Prof. Dr. Moacir Pasqual
(Orientador)

À

Deus, por tudo.

Aos meus pais José Ramos de Siqueira e

Anisia Faria de Siqueira,

OFEREÇO.

*À minha esposa Eneida, às
minhas filhas Priscila, Patrícia e
Paula, por todo carinho e
compreensão.*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura de Lavras e ao Departamento de Agricultura, pela acolhida.

À Comissão de Aperfeiçoamento e Pesquisa do Ensino Superior - CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG pelo financiamento da pesquisa realizada.

Ao orientador Prof. Moacir Pasqual, pela compreensão, apoio, amizade e dedicação.

Ao Prof. Nilton Nagib Jorge Chalfun, pelo agradável convívio, amizade e sugestões.

Aos Professores do Departamento de Agricultura, especialmente Paulo Cesar, Augusto, Carlos, Thadeu, Milton, Waldenor e Ramirez.

Ao Prof. Augusto Ramalho de Moraes pela amizade e apoio nas análises estatísticas.

Aos amigos Enilson, Ângelo, Luis Carlos, Daniel, Marcos, pelo alegre convívio.

Ao acadêmico Jorge Susumu Ishida pela amizade, convívio e ajuda na elaboração da tese.

Aos Laboratoristas Wantuil e Evaldo pelo convívio, amizade e apoio.

Às secretárias, Silvia, Viviane e Nelzi, pelo agradável convívio e apoio.

À todos que direta ou indiretamente ajudaram durante esta caminhada.

BIOGRAFIA DO AUTOR

JOSÉ DARLAN RAMOS, filho de José Ramos de Siqueira, nascido em Sapucaí-Mirim-MG, a 04 de março de 1951.

Concluiu seus estudos de Graduação em Engenharia Agrônômica na Universidade Federal de Viçosa - UFV em dezembro de 1977.

A partir de fevereiro de 1978 até 1983, exerceu atividades em Suinocultura, Bovinocultura, Reflorestamento, Implantação e Elaboração de projetos em coco, Fiscalização de Projetos e Batata-Semente.

Em julho de 1984, foi admitido na Superintendência de Agricultura e Produção da SAGRI-Sergipe, exercendo atividades de pesquisa com a cultura de Maracujazeiro e Citros até 1990.

Iniciou o curso de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas na ESAL-Lavras em 1987, concluindo-o em 1990.

De 1990 à 1991, foi Coordenador do Programa de Melhoramento de Plantas da CAF-Florestal LTDA. em Bom Despacho-MG.

Em março de 1991 iniciou o curso de Doutorado, área de concentração Fitotecnia/Melhoramento/Cultura de Tecidos, na ESAL.

Foi docente na disciplina Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade de Alfenas-Alfenas-MG, durante o primeiro semestre de 1992.

De maio de 1992 à março de 1993, foi pesquisador na área de Melhoramento/Fruticultura/Cultura de Tecidos, na EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS-EPAMIG - Uberaba-MG.

Atualmente é Professor Substituto, responsável pela disciplina de FRUTICULTURA GERAL E SUBTROPICAL na ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS - ESAL, desde de março de 1993.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
ABREVIATURAS	xiv
RESUMO	xv
SUMMARY	xvi
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 - EXPERIMENTO 1: Caracterização fenotípica do porta - enxerto tangerina 'Sunki'	3
2.2 - EXPERIMENTO 2: Germinação de sementes imaturas "in vitro" do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	9
2.2.1 - Poliembrionia	13
2.3 - EXPERIMENTO 3: Efeito do Triadimenol e da Benzilaminopurina na proliferação de brotos "in vitro" do porta - enxerto tangerina 'Sunki' ..	14
2.4 - EXPERIMENTO 4: Uso do Ácido Giberélico na germinação de sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	18
2.4.1 - Germinação de sementes	18

	Página
2.4.2 - Substrato para germinação de sementes	20
2.4.3 - Giberelinas e suas aplicações na agricultura	21
3 - MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 - EXPERIMENTO 1: Caracterização do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	25
3.2 - EXPERIMENTO 2: Germinação de sementes imaturas "in vitro" do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	26
3.3 - EXPERIMENTO 3: Efeito do Triadimenol e Benzilamino-purina na proliferação de brotos "in vitro" do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	28
3.4 - EXPERIMENTO 4: Uso do Ácido Giberélico na germinação de sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	29
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1 - EXPERIMENTO 1: Caracterização do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	31
4.1.1 - Diâmetro do fruto	33
4.1.2 - Número de sementes	38
4.1.3 - Peso médio dos frutos	40
4.2 - EXPERIMENTO 2: Germinação de sementes imaturas "in vitro" do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	41
4.2.1 - Número médio de sementes por fruto	41
4.2.2 - Número de sementes germinadas	42
4.2.3 - Percentagem de sementes com calos	46
4.2.4 - Taxa de expressão da poliembrionia	47
4.3 - EXPERIMENTO 3: Efeito do Triadimenol e Benzilaminopurina na proliferação de brotos do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	47

	Página
4.4 - EXPERIMENTO 4: Uso do Ácido giberélico na germinação de sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	51
5 - CONCLUSÕES	58
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
APÊNDICE	81

LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	Quadrados médios da análise de variância das variáveis estudadas de três plantas de tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	32
2	Médias das variáveis estudadas em três posições, quatro quadrantes de três plantas de tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	34
3	Valores da correlação do diâmetro transversal do fruto com número de sementes viáveis obtidas de 1200 frutos amostrados da planta número três de tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG., 1993	36
4	Diâmetro transversal, longitudinal do fruto, número total de sementes por fruto, percentagem de sementes germinadas, percentagem de sementes com calogênese e taxa de poliembrionia em tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	41

Quadro	Página
5 Resumo da análise de variância para sementes germinadas e número de embriões em diferentes concentrações de ANA e BAP em meio básico MS. ESAL, Lavras, MG, 1993	43
6 Resumo das análises de variância para as variáveis número de brotos < 10 mm, número de brotos > 10 mm e número total de brotos de tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.) em diferentes concentrações do fungicida Triadimenol e Benzilaminopurina. ESAL, Lavras, MG, 1993	48
7 Quadrados médios das análises de variância obtidos das avaliações da percentagem de sementes germinadas do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	52
8 Resumo da análise de variância do comportamento dos efeitos das dosagens de GA ₃ na percentagem de germinação em relação ao tempo zero de imersão das sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	54
9 Resumo da análise de variância do comportamento dos efeitos das dosagens de GA ₃ na percentagem de germinação em relação a seis horas de imersão das sementes de tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	56

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Representação esquemática da distribuição das diferentes posições e quadrantes na planta de tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	26
2	Fruto, sementes e folhas do porta-enxerto tangerina 'Sunki'	32
3	Representação gráfica das médias obtidas por planta para as variáveis diâmetro transversal do fruto (DTF), diâmetro longitudinal do fruto (DLF), número total de sementes (NTS), número de sementes viáveis (NSV) e número de sementes inviáveis (NSI) do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	35
4	Representação gráfica das variáveis diâmetro transversal do fruto (DTF), diâmetro longitudinal do fruto (DLF), número total de sementes (NTS), número de sementes viáveis (NSV) e número de sementes inviáveis (NSI) obtidas em três posições da planta do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	36

Figura	Página	
5	Representação das médias das variáveis diâmetro transversal do fruto (DTF), diâmetro longitudinal do fruto (DLF), número total de sementes inviáveis (NSI) obtidas nos quadrantes da copa do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	37
6	Representação do número de sementes germinadas de tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.) nas diferentes dosagens de ácido naftalenoacético. ESAL, Lavras, MG, 1993	44
7	Representação do número de sementes germinadas de tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.) nas diferentes dosagens de Benzilaminopurina. ESAL, Lavras, MG, 1993	45
8	Representação do efeito das dosagens do Triadimenol no número de brotos menores que 10 mm, número de brotos maiores que 10 mm e número total de brotos, em explante de tangerina 'Sunki'. ESAL, Lavras, MG, 1993	49
9	Representação dos efeitos das dosagens de benzilaminopurina no número de brotos menores que 10 mm, número de brotos maiores que 10 mm e número total de brotos, em explante de tangerina 'Sunki' (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993	51

ABREVIATURAS

GA₃ - Ácido giberélico

AIB - Ácido indolbutírico

AIA - Ácido Indolacético

ANA - Ácido Naftalenoacético

BAP - Benzilaminopurina

cm - Centímetro

DL - Dia longo

DLF - Diâmetro longitudinal do fruto

DTF - Diâmetro transversal do fruto

2,4D- 2,4Diclorofenoxiacético

g/L - Grama por litro

MS - Meio básico (MURASHIGE & SKOOG 1962)

MT - Meio básico (MURASHIGE & TUCKER 1969)

µg - Micrograma

mg/L- Miligrama por litro

mm - Milímetro

NSI - Número de sementes inviáveis

NSV - Número de sementes viáveis

NTS - Número total de sementes

SLCC- Suco de Laranja Concentrado Congelado

RESUMO

RAMOS, José Darlan. D.S., Caracterização fenotípica do fruto, Micropropagação e Germinação de sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan). Lavras; ESAL, 1992. 108p. (Tese DS - Agronomia)*

Os experimentos foram conduzidos no pomar, laboratório de cultura de tecidos e câmara-de-germinação, da Escola Superior de Agricultura de Lavras-Lavras-MG, Brasil. As sementes e os explantes utilizados foram provenientes do clone de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.) estabelecido no pomar da ESAL. Foram realizados quatro experimentos, em delineamentos experimentais em blocos e inteiramente casualizados em esquema fatorial. Concluiu-se que os frutos da parte apical da planta apresentaram maior diâmetro transversal e longitudinal e maior número de sementes (total e viáveis); os reguladores ANA e BAP não foram eficientes para promover o desenvolvimento de sementes imaturas, uma vez que as sementes germinaram, sendo que em 19,33% delas desenvolveram-se calos; o uso do fungicida Triadimenol não foi adequado para promover a proliferação de brotos, o que foi conseguido com BAP; a completa germinação ocorreu no 15º dia após a colocação no germinador; um minuto foi suficiente para promover absorção do GA₃ pelas sementes; o aumento na dosagem de GA₃, proporcionou maior percentagem de sementes germinadas nos tempos zero e seis horas de imersão; a taxa de da poliembrionia foi de 1,72.

* Orientador: Moacir Pasqual. Co-orientadores: Nilton Nagib Jorge Chalfun e Augusto Ramalho de Moraes.

SUMMARY

Characterization, Micropropagation and Germination of the rootstock *Citrus sunki* Hort. ex. Tan. Lavras, ESAL, 1994. 108p. (Thesis DS - Agronomy)*.

The experiments were realized in the orchard, tissue culture laboratory and germination chamber, in "Escola Superior de Agricultura de Lavras" - Lavras - MG. Brazil. The seeds used and the explants were proceeding from the clone of "Sunki" tree tangerine (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.) established in the ESAL orchard. Four experiments were realized with experimental designs entirely randomized in factorial scheme. Concluded that the superior part of the plant present the greater transversal and longitudinal fruits diameter, the greater seeds number (total and normal seeds); ANA and BAP were not enough to complete seed developments, only 8% of the seeds germinated, there were callus development in 19,33% of the seeds; use of Baifidan was not satisfactory, to promote the sprouts multiplication, that was obtained with BAP; the complet germination occur on the 15 day after place in germination chamber; one minute was enough to promote GA₃ seeds absorption; the percentage of germinated seeds (zero and 6 hours in immersion) was increased with increasing GA₃ concentrations; the expression of poliembrionic rate was 1,72.

* Principal adviser: Moacir Pasqual. Advisers: Nilton Nagib Jorge Chalfun and Augusto Ramalho de Moraes.

1 - INTRODUÇÃO

A citricultura brasileira ocupa, atualmente, a primeira posição mundial em produção e exportação de suco de laranja concentrado congelado (SLCC).

A propagação dos cítricos é feita principalmente por mudas enxertadas, sendo que os porta-enxertos são multiplicados através de sementes. Esse método favorece um melhor desenvolvimento do sistema radicular pivotante, garantindo à futura planta uma boa ancoragem. De modo geral, a propagação seminífera favorece a segregação de caracteres na maioria das plantas cultivadas. Entretanto, na maioria das espécies cítricas ocorre poliembrionia, ou seja, formando mais de um embrião numa mesma semente. Assim o desenvolvimento de embriões nucelares, garante à descendência a identidade genética da planta matriz de origem.

São inúmeros os porta-enxertos usados na citricultura, entretanto, 80% das variedades-copas exploradas comercialmente estão enxertadas sobre o limão 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck. Apesar desse porta-enxerto ser o tradicionalmente utilizado, graças às suas inúmeras vantagens, precisa ser substituído, devido alguns de seus clones serem susceptíveis ao "declínio dos citros".

Isto traz uma crescente preocupação entre os pesquisadores no sentido de alertar sobre a necessidade de diversificação de porta-enxertos. Dentre as inúmeras alternativas existentes para obtenção de novos porta-enxertos o melhoramento

genético através de hibridações, ampliando a variabilidade genética. Porém, esses trabalhos demandam recursos e um longo tempo para obtenção de resultados.

Uma alternativa a médio prazo seria a utilização de outros porta - enxertos que a pesquisa já demonstrou serem promissores. Dentre esses a tangerineira 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.) parece reunir vários atributos favoráveis, principalmente, por ser, tolerante ao declínio. Esse porta-enxerto induz à variedade - copa boa produtividade; frutos de qualidade média; copa vigorosa e bom comportamento em solos argilosos. Entretanto, possui um pequeno número de sementes (média de 3 por fruto) e baixa adaptabilidade aos diferentes tipos de solos argilosos. Frutos imaturos desta tangerina tem apresentado um número de sementes mais elevado.

O presente trabalho teve como objetivos a caracterização fenotípica, principalmente do fruto; propiciar condições para o desenvolvimento e posterior germinação de sementes imaturas "in vitro"; a micropropagação de explantes já estabelecidos "in vitro" com uso do fungicida Triadimenol e do fitorregulador Benzilaminopurina e finalmente o emprêgo do ácido giberélico para acelerar a germinação de sementes do porta enxerto tangerina 'Sunki'.

2 - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 - EXPERIMENTO 1: Caracterização fenotípica do porta - enxerto tangerina 'Sunki'.

A citricultura destaca-se entre as principais atividades agrícolas mundiais, sendo expandida em uma ampla área geográfica, situada entre os paralelos de 35° de latitude norte e 35° de latitude sul, com exceção do Mediterrâneo, onde, devido às condições excepcionais de clima, a cultura é explorada em locais com até 42° de latitude Norte (CAMPOS 1976).

Dentre os países produtores, o Brasil ocupa a expressiva posição de primeiro produtor (AMARO et al. 1991) e exportador de suco de laranja concentrado congelado (SLCC) GREVE et al. (1991).

O sucesso da citricultura nacional é resultado da baixa oferta de matéria-prima para as indústrias americanas, especialmente da Flórida, devido à instabilidade climática existente naquela região.

Os Estados Unidos ocupam a segunda posição na produção de sucos cítricos, sendo também os maiores importadores de SLCC do Brasil.

Nesse contexto verifica-se que a oscilação de preços que ocorre no mercado internacional de sucos é dependente de três fatores básicos: produção, importação americana e influência do consumo europeu (NEVES et al. 1991).

Por esta razão há uma constante despreocupação com a qualidade do produto nacional, e conseqüente expansão desordenada da área plantada.

Para melhorar o quadro existente há a necessidade de se intensificar pesquisas principalmente nas áreas de melhoramento de copas e porta-enxertos buscando cultivares compatíveis e adaptadas às várias regiões com alto potencial citrícola no Brasil. A utilização de porta-enxertos adequados é imprescindível e a base da citricultura.

Inúmeros são os porta-enxertos utilizados, o que se deve à diversidade existente entre as copas utilizadas comercialmente, produto da facilidade de hibridação e alta taxa de mutação nas espécies e variedades cítricas (MOREIRA e PIO 1991).

O porta-enxerto exerce grande influência na variedade-copa provocando alterações no seu crescimento; tamanho; precocidade de produção; época de maturação e peso dos frutos; coloração da casca e do suco; teor de açúcares e de ácidos dos frutos; permanência dos frutos na planta; conservação do fruto pós-colheita; transpiração das folhas; fertilidade do pólen; composição química das folhas; capacidade de absorção; síntese e utilização de nutrientes; tolerância à salinidade, resistência à seca e ao frio; resistência e tolerância à moléstias e pragas e resposta à produtos de abscisão (POMPEU JÚNIOR 1991).

Comparando-se os diversos porta-enxertos utilizados na cultura de citros verifica-se que o limão 'Cravo' *Citrus limonia* Osbeck representa em 80% dos pomares implantados nos últimos anos (POMPEU JÚNIOR 1990). Apesar deste porta-enxerto não ser recomendado para regiões de ocorrência do declínio, face à sua suscetibilidade a essa doença.

Atualmente há necessidade de intensificar esforços no sentido de propiciar maior variabilidade, pois o uso constante do limão 'Cravo' como principal porta-enxerto acarreta uma vulnerabilidade genética (PASSOS 1980). Neste sentido a tangerina

'Sunki' ou mandarim 'Sunki' apresenta-se como uma alternativa, sendo muito explorada na China (GIACOMETTI 1980).

A tangerina 'Sunki' foi classificada por Tanaka em 1927, como *Citrus sunki* Tanaka, sendo posteriormente reclassificada como *Citrus sunki* Hort. ex. Tan. Possui os frutos pequenos e em geral com uma pequena quantidade de sementes.

Dentre seus atributos favoráveis como porta-enxerto pode-se destacar precocidade, maior volume de copa e boa produtividade (FIGUEIREDO et al. 1981); frutos de qualidade média (SALIBE e MISCHAN 1978), copa vigorosa (SALIBE 1978), bom comportamento em solos argilosos (POMPEU JÚNIOR et al. 1978) e alta tolerância ao declínio (TEÓFILO SOBRINHO 1991a). Entretanto, algumas características são consideradas como desvantagens, destacando-se dentre essas o seu pequeno número de sementes (3 por fruto) (TEÓFILO SOBRINHO 1991a) e a boa adaptação somente em solos argilosos (POMPEU JÚNIOR 1991).

Até a década de 40, a citricultura que estava concentrada no Estado de São Paulo, utilizava-se somente dois porta-enxertos, a laranja 'Azeda' *Citrus aurantium* Linn.) e a laranja 'Caipira' *Citrus sinensis*. A laranja 'Azeda' foi a mais difundida devido à susceptibilidade da laranja 'Caipira' à doença fúngica denominada de "gomose". Por volta de 1937, com a introdução do vírus da tristeza dos citros, transmitido pelo pulgão preto (*Toxoptera citricidus* Kirk.), todas as plantas enxertadas sobre a laranja 'Azeda' morreram com virose da tristeza. Posteriormente, vários porta-enxertos tolerantes à tristeza, como limão 'Cravo', laranja 'Caipira', tangerina 'Cleópatra' *Citrus reshni* Hort. ex. Tan., limão 'Rugoso' *Citrus jambhiri* L. Dentre esses o limão 'Cravo' se destacou pela suas excepcionais qualidades, tendo seu apogeu no final da década de 60, com uma ocupação de 99% dos pomares cítricos (POMPEU JÚNIOR 1991).

No início da década de 70, surgiu uma nova doença denominada "declínio dos citros", à qual o limão 'Cravo' mostrou-se altamente sensível. Nos anos 80, as pesquisas mostraram que a tangerina 'Cleópatra' apresentava média tolerância,

enquanto que a tangerina 'Sunki' e a laranja 'Caipira' mostraram-se altamente tolerantes à doença. Em função dessa tolerância a tangerina 'Sunki' e laranja 'Caipira', são promissoras para a diversificação de porta-enxertos na citricultura brasileira (PASSOS 1980).

Alguns trabalhos têm sido conduzidos com o intuito de caracterizar os frutos e determinar o número de sementes e a sua taxa de poliembrionia.

Recentes estudos têm mostrado que diversos fatores afetam o tamanho dos frutos nas plantas frutíferas.

MONTENEGRO et al. (1959) constataram influência de certas combinações enxerto/porta-enxerto no número de sementes obtidas dos frutos na variedade-copa. A variedade de laranja 'Baianinha' (*Citrus sinensis* Osbeck) quando utilizada como copa sobre o tângelo 'Sampson' (*Citrus paridisi* Macf. X *Citrus reticulata* Blanco) e a 'Maracanã' (*Citrus sinensis* Osbeck) sobre a laranja 'Pera' (*Citrus sinensis* Osbeck), apresentaram maior número de sementes do que quando enxertadas sobre outros porta-enxertos. Esses autores deduziram que o aumento no número de sementes está relacionado com o aumento da fertilidade do pólen, graças à ação fisiológica proveniente do conjunto enxerto/porta-enxerto.

A quantidade de sementes no fruto das várias espécies cítricas, de acordo com WONG (1940), varia com as condições de fertilização e clima. Os frutos com maior número de sementes são encontrados em plantações com mais de uma variedade. A ausência de sementes é governada, principalmente, por fatores hereditários, fatores evolucionários, ambientais e fisiológicos. Corroborando afirmações anteriores de WONG (1940) e DEIDDA (1970) utilizando as variedades laranja 'Azeda', 'Biondo comum', laranja 'Sanguínea' e 'Trifoliata' como progenitores masculinos nos cruzamentos com da 'Washington Navel', 'Tarocco' e 'Clementina', provaram que a polinização cruzada aumenta o número de sementes, tamanho dos frutos, o teor total de sólidos solúveis reduzindo a quantidade de suco e acidez dos frutos.

MOFFET e RODNEY (1971), intercalando a variedade de tangerina 'Fairchild' com variedades fornecedoras de pólen, além da colocação de colméias, obtiveram um aumento de seis vezes na produção de frutos e dez vezes no número de sementes por fruto. Entretanto, quando se utilizou o tângelo 'Orlando' como progenitor masculino e abelhas, o aumento foi de tres a cinco vezes em sementes por fruto em comparação com plantas de polinização aberta. Estudos sobre a relação entre número de sementes e tamanho do fruto realizados por Ham e Reece, em 1967, citados por HODSON e FROST (1968) mostraram que há diferença quanto à variedade polinizadora utilizada. Os frutos de tangerina 'Page', resultantes da polinização cruzada com tangerina 'Lee', foram maiores em tamanho e com maior número de sementes que os resultantes da polinização cruzada com tângelo 'Orlando' e tangor 'Temple' (*Citrus sinensis* Osbeck X *Citrus reticulata* Blanco).

Estudando o efeito do número de sementes sobre o desenvolvimento do fruto, LANGE e VICENT (1972) provaram que os frutos resultantes da polinização cruzada apresentavam maior número de sementes. Conclusões importantes foram relatadas por esses mesmos autores de que o tamanho inicial do ovário não influenciou no tamanho final do fruto. Pesquisas feitas por CAMERON et al. (1960), sobre a relação que existe entre tamanho dos frutos e número de sementes em laranja 'Valência' (*Citrus sinensis* Osbeck e outras variedades, concluíram que há uma relação positiva entre o número de sementes e o tamanho dos frutos. Foi concluído também, nesse mesmo trabalho, que frutos resultantes de polinização cruzada apresentavam maior número de sementes porém com tamanho inalterado.

KREZDORN (1967/68), em estudos semelhantes com algumas variedades cítricas e o tângelo 'Orlando', concluiu que houve aumento no número de sementes e no tamanho de frutos. CHALFUN (1975) concluiu que quanto maior o diâmetro dos frutos, maior é o número de sementes em tangerina 'Satsuma'. Mais recentemente, pesquisa realizada por RAMOS (1990), com os porta-enxertos *Citrus limonia* Osbeck

cv. cravo e *Poncirus trifoliata* (L.) RAF, com polinização aberta, mostrou correlação positiva entre diâmetro do fruto e número de sementes viáveis para o primeiro e negativa para o segundo porta-enxerto. Por outro lado, o resultado da correlação desses parâmetros no híbrido obtido entre os dois porta-enxertos não foi significativo.

Trabalhos realizados com a cultivar Pera, utilizando polinização cruzada, com algumas variedades progenitoras masculinas e abelhas, obtiveram um aumento de 80% na produção de frutos com sementes. Verificou-se também um aumento significativo na produção, tamanho e desenvolvimento mais rápido dos frutos quando comparado com partenocarpia.

Em pesquisas com maçã, (HEINICKE 1916) concluiu que o maior desenvolvimento do fruto foi influenciado pelo maior número de sementes, conferindo-lhe ainda resistência à abscisão e perda de água, enquanto que, a polinização cruzada resultou em embriões mais vigorosos.

MURNEEK e SCHOWENGERDT (1935), estudando várias plantas localizadas tanto no centro como na periferia dos pomares, verificaram que frutos provenientes de plantas do centro eram maiores e apresentavam maior número de sementes e com embriões vigorosos, provavelmente, em decorrência da polinização cruzada.

Significativa correlação entre tamanho do fruto e número de sementes foi encontrada por MOORE et al. (1972), em pesquisas com cerejas, principalmente em cultivares de maturação precoce. Eles observaram ainda que havia variação no tamanho das sementes entre os diversos cultivares, com maior percentagem de sementes viáveis ou normais nos maiores frutos. WEBB (1971) concluiu que a baixa percentagem de polinização reduz o número de sementes em groselha preta.

2.2 - EXPERIMENTO 2: Germinação de sementes imaturas "in vitro" do porta-enxerto tangerina 'Sunki'.

Os cítricos pertencem a inúmeros gêneros, dos quais se destacam os *Citrus*, *Fortunella*, *Poncirus*, *Eremocitrus*, *Microcitrus* e *Clymenia* (CHAPOT 1975), sendo que os principais são *Citrus*, *Poncirus* e *Fortunella* (MOREIRA e PIO 1991). Dentro do gênero *Citrus*, centenas são as espécies de interesse tanto para copa como para porta-enxertos. Alguns trabalhos de hibridação têm sido feitos no sentido de ampliar a base genética, objetivando maior diversificação de porta-enxertos. Inúmeros Citranges, Citrangequats e Citrumelos, já estão sendo testados, com esta finalidade e têm apresentado resultados satisfatórios. Recentemente foram feitas hibridações controladas entre *Citrus limonia* Osbeck cv. Cravo x *Poncirus Trifoliata* (L.) RAF., obtendo-se o híbrido denominado 'Citravo' (RAMOS 1990). Com a conscientização da necessidade de diversificação, dentre os inúmeros porta-enxertos promissores inclui-se a tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.) que é utilizada com intensidade na China (GIACOMETTI 1980). Este porta-enxerto constitui-se uma boa opção, uma vez que em ensaios realizados em Botucatu - SP, resultados satisfatórios foram obtidos utilizando como copa a laranja doce (SALIBE et al. 1988) considerando que o porta-enxerto altera algumas características na variedade-copa SALIBE e MISCHAN (1978) observaram que as combinações 'Sunki' com laranjas Hamlin, Baianinha, Westin, Ruby e Itaboraí levaram à produção de frutos com casca mais fina, melhor coloração e um menor número de sementes. Resultados semelhantes foram obtidos por FIGUEIREDO et al. (1981) em estudo de precocidade de produção.

Outras vantagens atribuídas a esse porta-enxerto são; resistência à tristeza quando como copas as laranjas doces (GRANT et al. 1961), maior volume de copa em combinação com laranja 'Valência' (TEÓFILO SOBRINHO et al. 1973), bom comportamento em solos argilosos (POMPEU JÚNIOR et al. 1978), copa vigorosa

(SALIBE 1978), ausência de sintomas de declínio (POMPEU JÚNIOR 1988), maturação mais tardia dos frutos (POMPEU JÚNIOR 1991).

Esse porta-enxerto, apesar das inúmeras vantagens, apresenta algumas limitações, sobressaindo seu pequeno número de sementes viáveis, em torno de três (TEÓFILO SOBRINHO 1991b), além da baixa resistência à gomose e à seca, baixa capacidade de adaptação à diversos tipos de solos (POMPEU JÚNIOR 1991).

Esse pequeno número de sementes viáveis encontrado em frutos na fase final de maturação é contrastante com aquele observado em frutos imaturos, cujo o número de sementes é bem maior, chegando, inclusive a quinze sementes por fruto.

Nesse contexto a biotecnologia vegetal, especificamente a cultura de tecidos através da propagação vegetativa e o desenvolvimento "in vitro" de sementes imaturas em meio propício poderá contornar o problema do baixo número de sementes, produção de grande quantidade de plantas em curto espaço e tempo (CRÓCOMO 1991).

As pesquisas com *Citrus* "in vitro" foram incrementadas a partir da descoberta dos meios de MURASHIGE e SKOOG (1962) "MS" e MURASHIGE e TUCKER (1969) "MT". Os ensaios de um modo geral são feitos a partir do meio básico MS ou MT, suplementados com reguladores de crescimento, de acordo com cada objetivo. Os sais do meio MS tem proporcionado desenvolvimento satisfatório em ensaios de laboratório (GRINBLAT 1972; ALTMANN e GOREN 1974) podendo sua a concentrações serem adequadas conforme os diferentes objetivos (CHATUVERDI e MITRA 1974; KITTO e YOUNG 1981).

Para multiplicação de brotos "in vitro" os reguladores de crescimento são os constituintes orgânicos de maior relevância. O equilíbrio entre auxina-citocinina, aparentemente demonstra ser uma constante nas espécies vegetais para o controle da rizogênese e calogênese (MURASHIGE 1974).

Dentre os reguladores de crescimento usados cita-se o ANA (Ácido Naftalenoacético), o BAP (Benzilaminopurina), o AIA (Ácido indolacético).

BOUZID (1975) obteve resultados satisfatórios no desenvolvimento de gemas e ramos de *Citrus aurantium* a partir de segmentos nodais e internodais juvenis com ANA e cinetina a 1,0 mg/L.

TEIXEIRA e LANI (1986), regeneraram plantas a partir de gemas adventícias de segmentos internodais juvenis de *Citrus sinensis* 'Pera', usando 0,3 mg/L de BAP. CHATUVERDI e MITRA (1974), utilizando gemas de *Citrus grandis*, obtiveram 20 a 30 novas gemas por explante, com 0,25 mg/L de BAP e 0,1 mg/L de ANA acrescidos ao MS. AIA suplementado ao meio MT, promoveu a brotação e o abrolhamento, ao passo que Ácido Giberélico-3 promoveu o alongamento dos internódios (ALTMAN e GOREN 1977).

Trabalhos feitos por KITTO e YOUNG (1981), com extremidades de ramos de plântulas de citrange 'Carrizo' (*Citrus sinensis* Osbeck X *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) utilizando BAP 5,0 mg/L, registraram a proliferação de cerca de 3 a 4 brotos por explante. A multiplicação de gemas axilares obtidas de plântulas da 'Valência' germinadas "in vitro" foi estimulada por BAP a 0,2 mg/L e ANA a 0,2 mg/L e para 'Trifoliata', esse estímulo foi conseguido com BAP e ANA, ambos na dosagem de 1,0 mg/L (PASQUAL 1985). Brotações do porta-enxerto tangerina 'Sunki' enraizaram-se com metade dos sais do meio MT acrescido de 0,5 mg/L de AIB (Ácido Indolbutírico) (GRATTAPAGLIA e CALDAS 1987).

Uma combinação hormonal entre AIA, GA₃ e BAP no meio "MT" suportaram crescimento de explantes de frutos de *Citrus*, por um período superior a um ano (GULSEN et al. 1981). No entanto ALTMAN e GOREN (1974), estudando o comportamento do ciclo do crescimento e de dormência em gemas de *Citrus* "in vitro", bem como seu controle hormonal, verificaram que as gemas coletadas no verão, apresentavam retardamento na brotação, quando na presença de AIA e GA₃. Com o

GA₃ este comportamento foi acentuado, além de ter proporcionado o alongamento do broto.

Alguns trabalhos têm sido feitos, relacionados com a cultura de embriões e embriogênese somática. O termo embriogênese somática pode ser denominado de embriogênese assexual, embriogenia adventícia ou ainda embriogenia somática que significa o processo pelo qual células somáticas haplóides ou diplóides produzem estruturas semelhantes à embriões (SANTOS 1987).

Considerando-se que há desenvolvimento natural de embriões a partir das células do nucelo, este é o tecido mais usado para obtenção de embrióides. Nucelo é o corpo do óvulo que contém o saco embrionário, sendo a principal fonte de energia para o embrião durante o seu desenvolvimento (POPINIGIS 1985).

Os primeiros trabalhos usando nucelo para este propósito foram feitos por RANGA SWAMY (1958, 1959, 1961). A adição de cinetina e 2,4-D.

Ácido 2,4 Diclorofenoxiacético) inibiu a embriogênese em nucelo de citros da cultivar de laranja 'Valência' (PASQUAL et al. 1987) e o melhor estímulo ao enraizamento dos embriões foi proporcionado por ANA (1,0 mg/L) e o GA₃ 1,0 e 5,0 mg/L.

Embriões de sementes imaturas de 'Satsuma' (*Citrus unshiu* Marc.) polinizada com *Poncirus trifoliata* (L.) RAF., mostraram desenvolvimento satisfatório quando isolados aos 90 a 120 dias após a polinização em meio "MS" acrescido de suco de pepino a 20% (HORIUCHI et al. 1976).

Verificou-se que a presença de auxinas e citocininas inibe a embriogênese em nucelos e o desenvolvimento de embrióides (PASQUAL 1985). Embriões somáticos de citros no entanto podem desenvolver diretamente a partir do nucelo (BAKRY 1986), sendo encontrados de 1 a 40 embrióides (OHTA e FURUSATO 1957). A quantidade de embriões encontrados é muito variável e depende do estado nutritivo do fruto, de fatores ambientais e cultivar polinizadora (FROST e SOOST 1968). PASQUAL et al.

(1987) obtiveram "in vitro", sem adição de reguladores de crescimento, até 12 embriões. RAMOS (1990) recuperou híbridos através do cultivo de embriões "in vitro" utilizando o meio 'MS' de cultura.

2.2.1 - Poliembrionia

A ocorrência da poliembrionia é muito comum na maioria das espécies cítricas; é caracterizada pela presença de dois ou mais embriões na mesma semente (MOREIRA et al. 1947; GURGEL e SOUBIHE SOBRINHO 1951; GURGEL 1952; SOUBIHE SOBRINHO e GURGEL 1953; RANGAN et al. 1969; CHAPOT 1975; HEARN 1977; SOARES FILHO 1982).

MOREIRA et al. (1947) citam que a poliembrionia foi registrada pela primeira vez por Strassburger em 1878. As sementes dos cítricos apresentam um embrião sexual e os demais de natureza agâmica, provenientes das células do nucelo (GURGEL 1952). O desenvolvimento desses embriões ocorre concomitantemente com o embrião sexual, na extremidade micropilar do nucelo, projetando-se para dentro do saco embrionário (MAHESHWARI e RANGA SWAMY 1958).

Raramente ocorre a formação de mais de um embrião sexuado, quando ocorre é devido ao desenvolvimento de dois sacos embrionários ou pela clivagem do zigoto (MOREIRA et al. 1947; SOUBIHE SOBRINHO 1953). Em algumas variedades de citros pode-se encontrar de 1 a 40 embriões por nucelo (OHTA e FURUSATO 1957).

O número de embriões contidos numa semente pode ser influenciado pela cultivar, estado nutritivo do fruto, fatores ambientais e cultivar polinizadora (FROST e SOOST 1968; OGATA 1981; ABRAMOF et al. 1978).

O tamanho e o número de embriões por sementes são muito variáveis, porém apenas três ou quatro chegam a germinar (SALIBE 1970).

O caráter poliembriônico é controlado por genes recessivos e ligados a uma série de genes múltiplos (MAHESHWARI e RANGA SWAMY 1958), que regulam a síntese de um inibidor da embriogênese (ESAN 1973), em células nucleares de variedades monoembriônicas. Em contraste, diversos trabalhos mediante cruzamentos controlados entre cultivares mono e poliembriônicos, mostram que a poliembrionia é dominante (PARLEVIET e CAMERON 1959; CAMERON e FROST 1968; SOOST e CAMERON 1975; CAMERON e SOOST 1969).

Tangerinas e trifoliatas são altamente poliembriônicos. O limão 'Cravo', entretanto, possui baixa e constante percentagem de

poliembrionia (PRATES e POMPEU JUNIOR 1981). Segundo o trabalho desenvolvido por RAMOS (1990), para determinação da taxa de poliembrionia, o limão 'Cravo' e o 'Trifoliata' possuem, em média de 1 a 3 embriões por semente.

2.3 - EXPERIMENTO 3: Efeito do Triadimenol e da Benzilaminopurina na proliferação de brotos "in vitro" do porta - enxerto tangerina 'Sunki'.

Os trabalhos utilizando as técnicas de cultura de tecidos tiveram início na década de 1950 (SCHROEDER e SPECTOR 1957; KORDAN 1959; RANGA SWAMY 1961). Entretanto, grande impulso foi dado a partir do desenvolvimento dos meios de cultura, denominados de "MS" (MURASHIGE e SKOOG 1962) e "MT" (MURASHIGE e TUCKER 1969).

A biotecnologia, especificamente a cultura de tecidos, conta com várias técnicas já consagradas e outras em desenvolvimento amplamente utilizadas para os citros. O uso de reguladores de crescimento acrescentados aos meios básicos "MS" e/ou "MT" têm sido uma constante em trabalhos de cultura de tecidos das espécies cítricas.

Os reguladores de crescimento mais importantes são as auxinas e as citocininas, em regra geral um determinado balanço entre ambos pode favorecer a calogênese ou rizogênese a depender da espécie (MURASHIGE 1974).

De acordo com GRINBLAT (1972), as citocininas são eficientes em promover a formação de ramos, tanto por via indireta como direta. Skoog e Miller (1957), citados por (TEIXEIRA 1981), demonstraram que a diminuição na concentração da cinetina, de 1,0 mg/L para 0,2 mg/L; e o aumento do AIA (Ácido indolacético), de 0,2 mg/L para 3,0 mg/L, induz a formação de raízes, em detrimento da iniciação de ramos.

GRINBLAT (1972), trabalhando com BAP e ANA concentrações de BAP - 10 mg/L e de 0,1 mg/L, respectivamente observou uma máxima formação de gemas adventícias em segmentos internodais de *Citrus madurensis*. Já BHANSALY e ARYA (1979) obtiveram resultados semelhantes em *Citrus limettioides*, usando no meio de cultura com BAP (0,25 mg/L), cinetina (0,25 g/L) e ANA (0,2 mg/L).

O meio "MS" suplementado com BAP a 10 mg/L e ANA 1,0 mg/L resultou na formação de ramos a partir de segmentos de raízes de citrange "Troyer", sem formação de calos (EDRISS e BURGER 1984).

Gemas adventícias foram regeneradas à partir de segmentos internodais juvenis de *Citrus sinensis* cv. Pêra, com o emprego de somente 0,3 mg/L de BAP (TEIXEIRA e LANI 1986).

Estudando várias citocininas na proliferação de ramos a partir da cultura de ápices caulinares de plântulas de *Citrus aurantium*, *Citrus reshni* e citrange 'Carrizo', KITTO e YOUNG (1981) verificaram que somente o citrange "Carrizo" apresentou resposta positiva e a única citocinina que promoveu tal efeito foi BAP a 5,0 mg/L, obtendo-se neste caso três a quatro ramos por explante.

Inúmeros são os trabalhos já desenvolvidos com esses reguladores de crescimento, isoladamente ou associados entre si, ou com outros hormônios acrescidos aos meios para regeneração de plantas "in vitro".

Além dos fatores ligados à composição do meio de cultura, as respostas morfogênicas são alteradas de acordo com às condições as quais são submetidas as culturas.

Dentre esses inúmeros fatores, MURASHIGE e TUCKER (1969) verificaram que a intensidade luminosa elevada reduziu a proliferação de calos de albêdo, enquanto que BRUNET e IBRAHIM (1973) constataram o mesmo efeito em vesículas de suco e flavêdo.

Um outro aspecto a ser considerado na morfogênese é a contaminação do meio de cultura, principalmente para explantes provenientes diretamente do campo.

GILADI et al. (1979) concluíram que plantas desenvolvidas em condições de campo são muito mais contaminadas por bactérias e fungos, sendo a grande maioria deles não-patogênica em condições naturais. Para minimizar os problemas de contaminação algumas tentativas têm sido feitas com a incorporação de produtos ao meio de cultura, do próprio meio e do material vegetal.

Às vezes fungicidas e bactericidas são incorporados no meio de cultura para evitar contaminações na cultura de tecidos. Entretanto, têm-se verificado que estes produtos apresentam efeitos sobre brotações de plantas cultivadas tanto "in vitro" como "in vivo". Pode-se mencionar à título de exemplo o Benomyl, que, segundo Solel (1973), citado por YANG (1976), é absorvido e translocado por células.

YANG (1976) afirma que, além de proteger o meio de cultura, o fungicida protege também o material vegetal. O Benomyl possui propriedades fúngicas, pois, apresenta amplo espectro de ação, sendo pouco tóxico às culturas nas concentrações para controle de fungos (GRATTAPAGLIA e MACHADO 1990). Assim Hauptman et al. (1985), citados por GRATTAPAGLIA e MACHADO (1990) trabalhando com várias espécies utilizando a fusão de protoplastos e adicionando ao meio concentração de 50 mg/L de Benomyl, 990), controlaram a contaminação de *PENICILLIUM*.

YANG (1976) concluiu, após revisão de vários trabalhos que o fungicida Benomyl possuía algumas propriedades reguladoras de crescimento, comumente não observadas e nem a ele atribuídas. De acordo com as afirmações de SKENE (1972), o efeito hormonal deste fungicida pode ser uma consequência da intensidade de manipulação durante o preparo do meio ou outros fatores desconhecidos. Scruff (1970), citado por THOMAS (1973), afirma que esse efeito de regulador de crescimento pode ser devido à semelhança estrutural do Benomyl com as citocininas.

Alguns pesquisadores tem trabalhado intensamente no sentido de esclarecer as características de regulador de crescimento em várias culturas e em diversos tipos de tecidos atribuídas ao Benomyl. O trabalho de SKENE (1972) realizado com soja, concluiu que a máxima formação de calos ocorreu com as dosagens de 25 a 50 mg/L de Benomyl. Efeito semelhante é observado com uma dosagem aproximada de 0,003 mg/L de cinetina, demonstrando que a cinetina é 5000 vezes mais ativa do que o Benomyl para o desenvolvimento de calos.

O mesmo autor obteve a resposta máxima com 150 mg/L do fungicida em cotilédones de rabanete, que foi equivalente a 5 mg/L de cinetina, sendo, nesse caso, a cinetina 30 vezes mais ativa do que o fungicida.

MOREIRA (1993), trabalhando com explantes de tangerina 'Sunki', concluiu que o melhor tratamento para produção de brotos maiores do que 10 mm, foi com a dosagem de 239 mg/L de Benomyl, obtendo-se 6,6 brotos por explante, em média. Enquanto que, para o número total de brotos a melhor dosagem foi de 242 mg/L com a obtenção de 9,6 brotos por explante.

Observa-se assim, que há a necessidade não somente de aprofundar-se nos estudos referentes ao Benomyl, como também de outros fungicidas que possam atuar como regulador de crescimento "in vitro". Há evidências de que o Triadimenol, da mesma forma que o Benomyl, exerce influencia sobre o vigor de plantas no campo. Segundo ANDREI (1987), o Triadimenol é um fungicida sistêmico, do grupo dos

triazóis, com fórmula $B - (4\text{-clorofenoxi}) - x - (1,1\text{-dimetil - etil}) 1,4, 1,2,4$ Aniazole-1-etanol. O Triadimenol é comercializado como Bayfidan sendo um concentrado emulsionável, classe toxicológica II, inflamável 1B. Tem efeito preventivo, curativo e erradicativo, apresentando ainda um largo espectro de ação e longo efeito residual. É recomendado para o controle da ferrugem, oídio, septorioses de trigo e ferrugem do café.

2.4 - EXPERIMENTO 4: Uso do Ácido Giberélico na germinação de sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki'.

2.4.1 - Germinação de sementes

A germinação da semente é o reinício do crescimento do embrião paralisado nas fases finais da maturação do fruto (POPINIGIS 1977).

STREET e OPIK (1974) conceituam germinação como sendo a retomada da atividade metabólica e crescimento dos tecidos da semente. Este processo envolve reidratação, utilização de reservas nutritivas e o gradual desenvolvimento de sistemas sintetizantes os quais permitem, à jovem planta, assumir uma existência autotrófica.

Em tecnologia de sementes, a germinação é definida como a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, manifestando sua capacidade para dar origem a uma plântula normal, sob condições ambientais favoráveis (MARCOS FILHO 1987).

BONNER e GALSTON (1955) definem dormência como sendo a suspensão temporária do crescimento dos tecidos ou órgãos de plantas, quando não são atendidas todas as condições ordinariamente consideradas como necessárias para o seu desenvolvimento.

O mecanismo de dormência das sementes depende do genótipo de dormência das sementes depende do genótipo envolvido, com diferentes manifestações, podendo ser, inclusive, um processo de sobrevivência de algumas espécies em determinados ambientes (STEIN et al. 1974). O período de dormência pode ser rápido estender-se por muito tempo, dependendo das condições ambientais. Sementes dormentes são mais resistentes aos ambientes desfavoráveis, com maiores possibilidades de perpetuação da espécie (TOLEDO e MARCOS FILHO 1977).

As principais vantagens da dormência são de permitir que as plantas passem o inverno na condição de sementes e evitar que embriões ~~embriões~~ continuem a crescer e germinem ainda na planta- mãe. Como desvantagens citam-se os longos períodos necessários para que determinado lote de sementes supere a dormência, acarretando atrasos em plantios permitindo maior longevidade de plantas invasoras, (POPINIGIS 1977).

Segundo o mesmo autor, as causas da dormência são: tegumentos impermeáveis à água, como as sementes de leguminosas, embrião imaturo ou rudimentar, embrião impermeável ao oxigênio, restrições mecânicas, embriões dormentes e interação de fatores.

Existem inúmeros métodos para superar a dormência, e dentre eles destacam-se a escarificação mecânica, a escarificação ácida, o tratamento com água quente, a lavagem em água corrente, a secagem prévia, o pré-resfriamento, a estratificação, a germinação à temperatura ideal, a exposição à luz e a excisão do embrião, substâncias reguladoras (giberelinas) conforme (POPINIGIS 1977; KHAN 1971).

2.4.2 - Substrato para germinação de sementes

Além de outros fatores já citados anteriormente, o substrato para germinação se reveste de uma importância fundamental que deve ser considerado. Os diferentes substratos utilizados variam de acordo com sua composição, toxicidade às sementes, associação com patógenos, aeração e capacidade de retenção de umidade determinando assim um série de interações com as sementes que depende da espécie considerada (JUSTICE 1972; MIAN e HOQUE 1970). Os substratos mais utilizados para germinação de sementes de árvores são a turfa, a areia e a terra vegetal, entretanto são também utilizados papel filtro, mata-borrão, papel toalha, algodão pano e espuma de naylor (TOUMEY e KORSTIAN 1954; ESTADOS UNIDOS 1974; BRASIL 1976; ZAPPIA 1979).

As maiores percentagens de germinação de *Piptadenia macrocarpa* Benth, foram conseguidas com temperatura de 30°C, em substrato de papel toalha (REIS e WETZEL 1981).

SANTOS et al. (1980) utilizando papel toalha como suporte para germinação de limão 'Cravo' e tangerina 'Cleópatra' com sementes normais e despeletizadas, resultou numa percentagem média de poliembriônica de 8,2% com tegumento e 10,1% sem tegumento para o limão 'Cravo'. Enquanto que para tangerina 'Cleópatra' foi de 13,2% com tegumento e 10,01% sem tegumento. A retirada ou não do tegumento não influenciou significativamente a expressão poliembriônica.

PORTO e MOREIRA (1978), testando a influência de métodos de semeadura na germinação e expressão do potencial poliembriônico de sementes de limão 'Cravo', utilizando como substrato a areia lavada de granulação média e germinador "Stults", concluiu que o ambiente influi na expressão do potencial poliembriônico e que o substrato areia lavada conferiu menores velocidade e percentagem de germinação. Esse trabalho sugeriu também que para o estudo do grau de poliembriônica, pelo

método de contagem de embriões germinados, o emprego do germinador "Stults" fornece uma informação mais real do potencial poliembriônico da semente, quando comparado ao método de semeadura em condições de campo.

Pesquisa feita por NILO GONZALES (1978), testando a influência do substrato sobre a germinação e a expressão poliembriônica de sementes de *Citrus* spp., mostrou que o limão 'Cravo' e o limão 'Volcameriano' foram os porta-enxertos mais rápidos na germinação, tanto em germinador como em casa-de-vegetação. Resultados do mesmo trabalho evidenciam que não houve diferenças significativas nas características avaliadas com referência aos substratos empregados.

2.4.3 - Giberelinas e suas aplicações na agricultura

As giberelinas foram primeiramente descobertas no Japão em estudos com plantas de arroz debilitadas, denominada de "Bakanae" (plantinha boba), apresentando crescimento excessivo. Relacionou-se esse crescimento excessivo com o fungo *Gibberella fujikuroi* E. Kurosawa, um patologista vegetal, observou em 1926, que extratos de fungo aplicados à planta sadia de arroz causavam os mesmos sintomas que aqueles provocados pelo fungo, demonstrando que uma substância química definida era responsável pela enfermidade. Em 1930, T. Yabuta e T. Hayadi isolaram e identificaram um composto ativo a partir do fungo, o qual denominaram de giberelina (SALISBURY e ROSS 1978).

As giberelinas são compostos diterpênicos cíclicos com estrutura química complexa, sintetizados a partir de unidades acetato de acetil coenzima A. Apresentam uma estrutura ent-giberelana, atualmente denominada de ent-Kaureno. Cerca de 80 giberelinas já foram identificadas, todas possuindo 19 ou 20 átomos de carbono agrupados em um total de quatro ou cinco sistemas de anéis, cada um com um ou mais grupos carboxílicos. São representadas graficamente como GA e possuem um

sistema para distinguí-las umas das outras como GA_1 , GA_2 , GA_3 , ... GA_n . Todas poderiam ser denominadas de ácido giberélico, entretanto, somente a mais estudada delas, o GA_3 , é identificada com esse nome (SALISBURY e ROSS 1978).

Devido à complexidade da sua estrutura molecular provavelmente num futuro próximo, nenhuma giberelina deverá ser produzida sinteticamente. Por isso, as giberelinas usadas comercialmente são biologicamente sintetizadas e resultam da secreção do fungo *Gibberella fujikuroi* (FERRI 1979).

As giberelinas participam do controle de importantes mecanismos durante o desenvolvimento das plantas, estando envolvidas florescimento (MICHENIEWICZ e LANG 1962; LOPER e WALLER 1983), na dormência de gemas e sementes (FRAKLAND 1961 e AUNG et al. 1969; KHAN 1971; MAYER e POLJAKOFF-MAYBER 1989) e no crescimento vegetativo (GONZALEZ e MARX 1983).

Segundo METIVIER (1979) e WATKINS et al. (1983), embora não se conheça completamente o mecanismo de ação do ácido giberélico (GA_3), as giberelinas parecem agir em quase todos os órgãos das plantas, entretanto, os efeitos mais notáveis relacionam-se com a alongação do caule e com o florescimento. As giberelinas apresentam ampla aplicação na agricultura, podem ser usadas nas induções de florescimento, partenocarpia e retardamento da senescência e abscisão dos frutos (FERRI 1979; COGGINS JUNIOR 1990; EL-OTMANI et al. 1990). Sabe-se hoje que as giberelinas tem um papel chave na germinação de sementes, estando envolvidas tanto na quebra de dormência como no controle da hidrólise de reservas, da qual depende o embrião em crescimento. Em sementes dormentes, sob vários tratamentos, envolvendo aplicação das giberelinas, aplicadas externamente, as mais efetivas foram GA_3 e GA_{4+7} (MAYER e POLJAKOFF-MAYBER 1989).

Alguns trabalhos evidenciam o uso das giberelinas em diferentes eventos nas plantas e seu uso na agricultura é fundamental. A giberelina teve efeito retardando a senescência, afetando principalmente as mudanças de cor, retardando a perda de

clorofila, acúmulo de carotenóides e o amaciamento da casca de frutos (CHITARRA e CHITARRA 1990). Resultados semelhantes foram obtidos por Sheviter et al., citados por ABELES et al. (1992), que observaram redução do envelhecimento prevenindo a degradação de clorofila em frutos de citros. KHALIFAH (1966), a existência de duas substâncias semelhantes às giberelinas que afetaram o desenvolvimento de banana. Corroborando esses resultados Weaver, citado por PINTO (1978) observou que o GA_3 retarda o amadurecimento de muitos frutos climatéricos, principalmente o ácido giberélico (GA_3).

As giberelinas têm sido empregadas para o retardamento da maturação de frutos de diversas culturas em concentrações que variam de 3 a 300 ppm (AWAD e ANEMORY 1971; AWAD e COMPAGNO 1983; PAULSON et al. 1980; PINTO 1978). A aplicação de ácido giberélico adianta o amadurecimento de frutos de quatro até seis dias (AWAD e AMENOMORY 1971; MIRANDA NETO e CHAVES 1969; TEARE e WILSON 1970; AGELES et al. 1977).

Diversos trabalhos com cultivares bienais de cenouras confirmaram o efeito da giberelina na indução do florescimento, aumento no comprimento da haste floral e aumento do poder germinativo de sementes (BUKOVAC e WITTEWER 1958; LANG 1960; KRUZILIN e SUEDSKAJA 1964; SCHWAB e NEWMANN 1975; AZEVEDO 1991).

Segundo CASTRO e ANDREWS (1971), o ácido giberélico tem-se mostrado com um efeito considerável na expressão do sexo das Cucurbitáceas. Esse regulador vegetal mostrou-se capaz de adiantar o florescimento masculino e inibir o florescimento feminino.

GLOBERSON e VENTURA (1973) testaram o ácido giberélico em alface para promover o desenvolvimento da haste floral. Duas aplicações a 5 ppm, uma na fase de 4 folhas e outra na fase de 6 folhas, aumentaram a proporção de plantas que

floresceram, a produção de sementes, a uniformidade de florescimento e a maturação das sementes.

PASQUAL et al. (1992), estudando o uso de benzilaminopurina e giberelina na propagação "in vitro" de *Coffea arábica* L. cv. Catuaí, concluíram que a elevação dos níveis de GA₃ diminuiu a percentagem de brotos menores e maiores do que 1 cm.

São poucos os trabalhos citados com relação à germinação de sementes das espécies cítricas. Dentre esses pode-se citar CHOUDHARI e CHAKRAWAR (1981), estudando o efeito de alguns químicos sobre a germinação de sementes de limão 'Cravo', concluíram que o uso de 40 ppm de GA₃ e ANA com imersão de 12 horas foi o melhor tratamento para germinação.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - EXPERIMENTO 1: Caracterização do porta-enxerto tangerina 'Sunki'.

Frutos maduros foram colhidos de três plantas de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.) do pomar da Escola Superior de Agricultura de Lavras-ESAL, Lavras-Minas Gerais. O município de Lavras está situado à 21°14'06" de latitude sul e 45°00'00" de longitude oeste, a uma altitude média de 900 metros. O clima da região segundo KÖEPPEN (1970), é do tipo Cwb.

As plantas utilizadas fazem parte de uma Coleção de Cultivares de porta-enxertos cítricos.

As copas das plantas foram divididas verticalmente em partes iguais, definidas como parte apical, mediana e basal. Posteriormente, foram subdivididas em Quadrantes (I, II, III e IV), de acordo com os pontos cardeais (Norte, Sul, Leste e Oeste) (Figura 1) e os frutos foram contados em cada quadrante nas diferentes posições.

O delineamento usado foi o de blocos casualizados com 12 tratamentos (3 posições e 4 quadrantes) e 3 repetições, (cada uma das três plantas constituiu uma repetição ou um bloco, nesse caso), constituindo-se num total de 36 parcelas. As análises de variância e as correlações foram realizadas de acordo com PIMENTEL GOMES (1985).

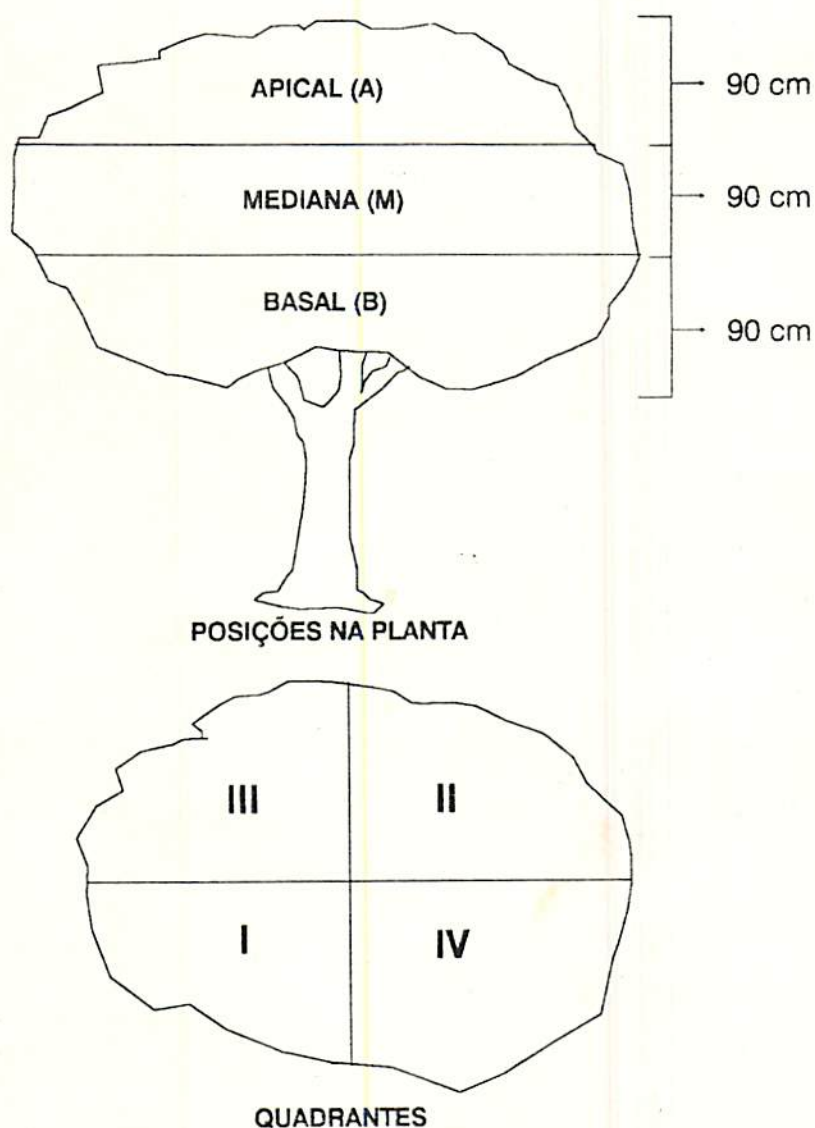


FIGURA 1 - Representação esquemática da distribuição das diferentes posições e quadrantes na planta de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

3.2 - EXPERIMENTO 2: Germinação de sementes imaturas "in vitro" do porta-enxerto tangerina 'Sunki'.

Os frutos imaturos com aproximadamente 10-12 semanas de tangerina 'Sunki' foram colhidos do pomar da Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, em Lavras - Minas Gerais.

Uma amostra de frutos de trinta (30) unidades foi tomada aleatoriamente na planta. De cada fruto foi mensurado o seu diâmetro transversal (DTF), o diâmetro longitudinal (DLF) e as sementes foram retiradas, contadas (número total de sementes - NTS) e posteriormente desinfestadas com hipoclorito de sódio a 1%, durante vinte minutos.

As sementes semeadas em um meio básico MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com ANA (Ácido Naftalenoacético) e BAP (Benzilaminopurina) em diferentes dosagens de um único fitohormônio ou reunidos em todas as combinações de dosagens dos dois reguladores de crescimento. As dosagens utilizadas foram: ANA 0; 0,01; 0,1 e 1,0 mg/L para o ANA e 0; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 mg/L para o BAP. Após a preparação do meio, este foi solidificado com agar na concentração de 8 g/L. O pH foi ajustado para 6,0 e o meio foi distribuído em tubos de ensaio com dimensões de 25 x 150 mm, contendo 10ml, os quais foram fechados com tampa plástica. Posteriormente os tubos de ensaio foram autoclavados a uma temperatura de 120° C, com 1,3 Kg cm⁻² de pressão durante 20 minutos. A inoculação foi feita em câmara de fluxo laminar, onde foi colocada uma semente cada por tubo. Em seguida os tubos foram

fechados e vedados com lâmina PVC esticável e colocados em sala de crescimento a uma temperatura 27°C e 3000 lux, com fotoperíodo de 16 horas de luz.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 4 x 5 (níveis de ANA e BAP, respectivamente), num total de 20 tratamentos com 5 repetições e 5 tubos por parcela. A avaliação foi feita 40 dias após a inoculação e as variáveis analisadas foram: número de sementes germinadas e número de plântulas desenvolvidas por semente.

3.3 - EXPERIMENTO 3: Efeito do Triadimenol e Benzilamino-purina na proliferação de brotos "in vitro" do porta-enxerto tangerina 'Sunki'.

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras-ESAL, Lavras-Minas Gerais.

O meio básico utilizado foi o MS (MURASHIGE e SKOOG 1962), suplementado com o fungicida Triadimenol (Bayfidan) nas dosagens de 0, 75, 150, 300 e 600 mg/L e BAP (Benzilaminopurina) nas dosagens de 0, 1, 2 e 4 mg/L. O meio foi solidificado com 8 gramas por litro de agar, sendo seu pH aferido para 6,0. Após preparado, o meio foi distribuído um volume de 10 ml em tubos de ensaio com dimensões de 25 x 150 mm. Os tubos foram fechados com tampa plástica e esterilizados em autoclave horizontal a uma temperatura de 120°C, 1,3 kg cm⁻², durante 20 minutos. Em seguida foram levados para câmara de fluxo laminar, onde foram inoculados com explantes constituídos de brotações de aproximadamente 2 cm contendo duas gemas.

O material vegetal utilizado foi brotações do porta-enxerto tangerina 'Sunki' proveniente de cultura já estabelecida "in vitro", a partir de um único genótipo. As extremidades das brotações foram removidas para evitar a dominância apical. Após a inoculação, os tubos foram fechados, com lâmina de PVC esticável para evitar possíveis contaminações, e levados posteriormente para sala de crescimento a uma temperatura constante de 27°C ± 1°C e 3.000 lux de iluminação, com um fotoperíodo de 16 horas de luz.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com os tratamentos (níveis de Triadimenol e BAP) em esquema fatorial 5 x 4, com quatro tubos por parcela, perfazendo um total de 80 parcelas (PIMENTEL GOMES 1985). A avaliação foi feita 30 dias após a inoculação, contando-se o número de brotações

menores do que 10 mm, o número de brotações maiores do que 10 mm e o número total de brotações. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão, sendo que para as três características os dados foram transformados para $(X + 0,5)^{1/2}$.

3.4 - EXPERIMENTO 4: Uso do Ácido Giberélico na germinação de sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki'

O presente ensaio foi conduzido em condições controladas na câmara de germinação do Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL.

As sementes utilizadas foram de plantas da tangerina 'Sunki', com cinco anos de idade, estabelecida no pomar da ESAL.

As sementes foram armazenadas em refrigerador a uma temperatura de 8°C, por um período de 47 dias. Após esse período elas foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 1%, durante vinte minutos. Depois de tratadas e secas à sombra foram colocadas em imersão, em soluções com diversas concentrações de GA³ em diferentes períodos de tempo. As dosagens do ácido giberélico foram; 0, 25, 50 e 100 mg/L e o tempo foi de 0, 6, 12 e 24 horas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com os tratamentos em esquema fatorial de 4 (dosagens de GA₃) x 4 períodos de tempo com quatro repetições, com 25 sementes por parcela.

Após a imersão, as sementes foram distribuídas em quatro papéis- toalha com dimensões de 28,5 x 38,5 cm e em seguida colocadas no germinador a uma temperatura constante de 28°C e umidade relativa de 95%.

As avaliações foram feitas no período de 26 de julho à 31 de agosto de 1993, a cada 5 dias, num total de sete avaliações, anotando-se o número de sementes germinadas, mortas ou normais. No final de 35 dias, que correspondeu à 7ª avaliação,

anotou-se o número de plantas obtidas de cada semente (taxa de expressão da poliembrionia).

Os dados foram submetidos à análise de variância (PIMENTEL GOMES 1985; STEEL e TORRES 1960).

4. - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - EXPERIMENTO 1: Caracterização do porta-enxerto tangerina 'Sunki'.

São poucos os trabalhos realizados no sentido de se caracterizar o fruto das variedades cítricas, principalmente para porta- enxertos, a exemplo da tangerina 'Sunki' *Citrus sunki* Hort. ex. Tan. A preocupação sempre se concentraram nas características induzidas pelo porta-enxerto na variedade-copa.

A caracterização é importante, principalmente em relação ao número de sementes viáveis, pois é interessante, sob o aspecto da produção de mudas que o fruto da variedade utilizada como porta- enxerto apresente o maior número possível de sementes.

Essa característica deve ser analisada para cada ambiente, pois a variabilidade de expressão é grande de acordo com cada genótipo, condições de fertilização e clima em que estas plantas estão sendo cultivadas (WONG 1940).

A Figura 2 mostra o fruto, sementes e folhas da tangerina 'Sunki'. As características do fruto serão posteriormente discutidas.

Verifica-se no Quadro 1 que para todas as variáveis analisadas, com exceção do peso total dos frutos, houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade em relação ao fator planta. Isto significa que pelo menos uma planta diferiu dos valores para essas variáveis estudadas.



FIGURA 2 - Fruto, sementes e folhas do porta-enxerto tangerina 'Sunki'.

QUADRO 1 - Quadrados médios da análise de variância das variáveis estudadas de três plantas de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

C.V.	G.L.	Diâmetro do Fruto (mm)		Número de Sementes			Nº de frutos	Peso Total frutos (g)
		Transversal	Longitudinal	Total	Viáveis	Inviáveis		
Planta	2	113,9426**	30,3988**	3,5544**	18,4644**	32,2217**	403812,69**	40006,36
Posição	2	11,4523**	5,1422*	4,6596**	8,6281*	1,7110	312544,11**	542022,03*
Quadrante	3	4,0094	1,1068	0,1555	1,9914	1,3102	21612,69	58196,62
P x Q	6	1,8582	1,3423	0,23608	1,1250	1,0620	23066,11	51678,73
Resíduo	22	1,7465	1,0490	0,7425	2,1809	1,2194	16931,85	18899,06
CV(%)	-	3,557	3,296	8,891	18,840	59,511	26,259	6,212

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F

Esses resultados expressam valores diferentes, sugerindo que as plantas não são o mesmo clone, demonstrando que a interação genótipo-ambiente é o principal fator de variabilidade dos dados.

Por outro lado, para posição dentro das plantas estudadas, houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para diâmetro transversal do fruto, número total de sementes e número total de frutos, enquanto que para diâmetro longitudinal, número de sementes viáveis e peso total dos frutos o efeito da posição foi significativo somente ao nível de 5% de probabilidade. Não houve significância para número de sementes inviáveis.

Nenhuma diferença significativa foi observada para quadrante e nem para a interação entre posição e quadrante. Esses resultados mostram que os quadrantes em relação à posição dentro da planta não interferem na produção, tamanho do fruto e número de sementes, nas condições em que esses frutos se desenvolveram.

Ainda no Quadro 1 observa-se que os coeficientes de variação para o diâmetro transversal, diâmetro longitudinal do fruto, número total de sementes e peso médio dos frutos, foram os mais baixos, podendo-se explicar pelo grande número de frutos utilizados na amostragem (100 frutos).

Para as outras variáveis o C.V. apresentou valores mais altos, talvez, devido à variabilidade dos dados coletados na amostra. No caso específico do número de sementes inviáveis, presume-se que esse valor foi alto (C.V. = 59,511) devido alguns frutos apresentarem-se com todas as sementes viáveis, enquanto que outros chegaram a valores próximos de cinco sementes inviáveis.

4.1.1 - Diâmetro do fruto

Analisando-se o Quadro 2 observa-se que a planta número três apresentou maior diâmetro do fruto, tanto transversal (DTF) quanto longitudinal (DLF), o que é

atribuído ao maior número de sementes viáveis registrado também pela mesma planta. Esses resultados concordam com as afirmações de KREZDORN (1967/68), de que o desenvolvimento de maior número de sementes viáveis estimula o crescimento do fruto.

QUADRO 2 - Médias das variáveis estudadas em três posições, quatro quadrantes de três plantas de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

	Diâmetro do fruto (mm)		Número de Sementes			N ^o de Frutos	Peso Total Frutos (g)
	Transversal	Longitudinal	Total	Viáveis	Inviáveis		
Planta 1	35,2033 B	29,9942 B	10,1592 a	6,4292 B	3,7392 A	404,6667 B	21,4750 a
Planta 2	35,5583 B	30,3358 B	8,0942 b	8,3242 AB	0,7583 B	375,2500 B	22,3583 a
Planta 3	40,7092 A	32,9058 A	9,8208 ab	8,7633 A	1,0692 B	706,6667 A	22,5608 a
Superior	38,2550 A	31,8233 a [*]	10,2383 A	8,8042 a	2,2442 A	625,5833 A	24,3208 A
Mediana	38,8317 AB	30,8133 ab	9,7408 AB	7,4983 ab	1,8325 A	546,0833 A	21,9987 B
Basal	38,3842 A	30,5942 b [*]	9,0400 B	7,2142 b	1,4900 A	314,9167 B	20,0767 C
Leste	37,3178 a	31,2711 a	8,5378 a	1,2867 a	1,2867 a	510,4444 a	22,7600 a
Sul	37,6300 a	31,1000 a	7,5922 a	2,0489 a	2,0489 a	443,8889 a	22,0867 a
Oeste	37,5056 a	31,3644 a	7,6911 a	2,0944 a	2,0944 a	556,5556 a	22,6678 a
Norte	38,1744 a	30,5789 a	7,5344 a	1,9922 a	1,9922 a	471,2222 a	21,0111 a
Média	37,1569	31,0786	9,6914	7,8389	1,8556	495,5278	22,3583

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (na coluna) pelo teste de Tukey. (letra maiúscula 1% e minúscula 5%)

Os valores obtidos para DTF, DLF, e número de sementes por fruto estão mais evidentes na Figura 3. A discrepância dos dados entre as plantas reflete a interação genótipo-ambiente, ou, por outro lado, pode sugerir que as três plantas não sejam o mesmo clone.

O Quadro 3 mostra a correlação entre diâmetro transversal do fruto e número total de sementes resultando num efeito significativo, com um coeficiente de correlação ($r=0,5904$) ou seja, os dados estão correlacionados positivamente. Do mesmo modo, o

diâmetro transversal do fruto e o número de sementes viáveis estão correlacionados positivamente, com um coeficiente de correlação de $r = 0,6133$. A posição superior da planta, em relação às posições mediana e basal (Figura 4 e Quadro 2), apresentou maior diâmetro do fruto, tanto DTF como DLF. Da mesma forma, registrou-se também para a posição superior, maior número de sementes e de frutos, bem como maior peso dos frutos.

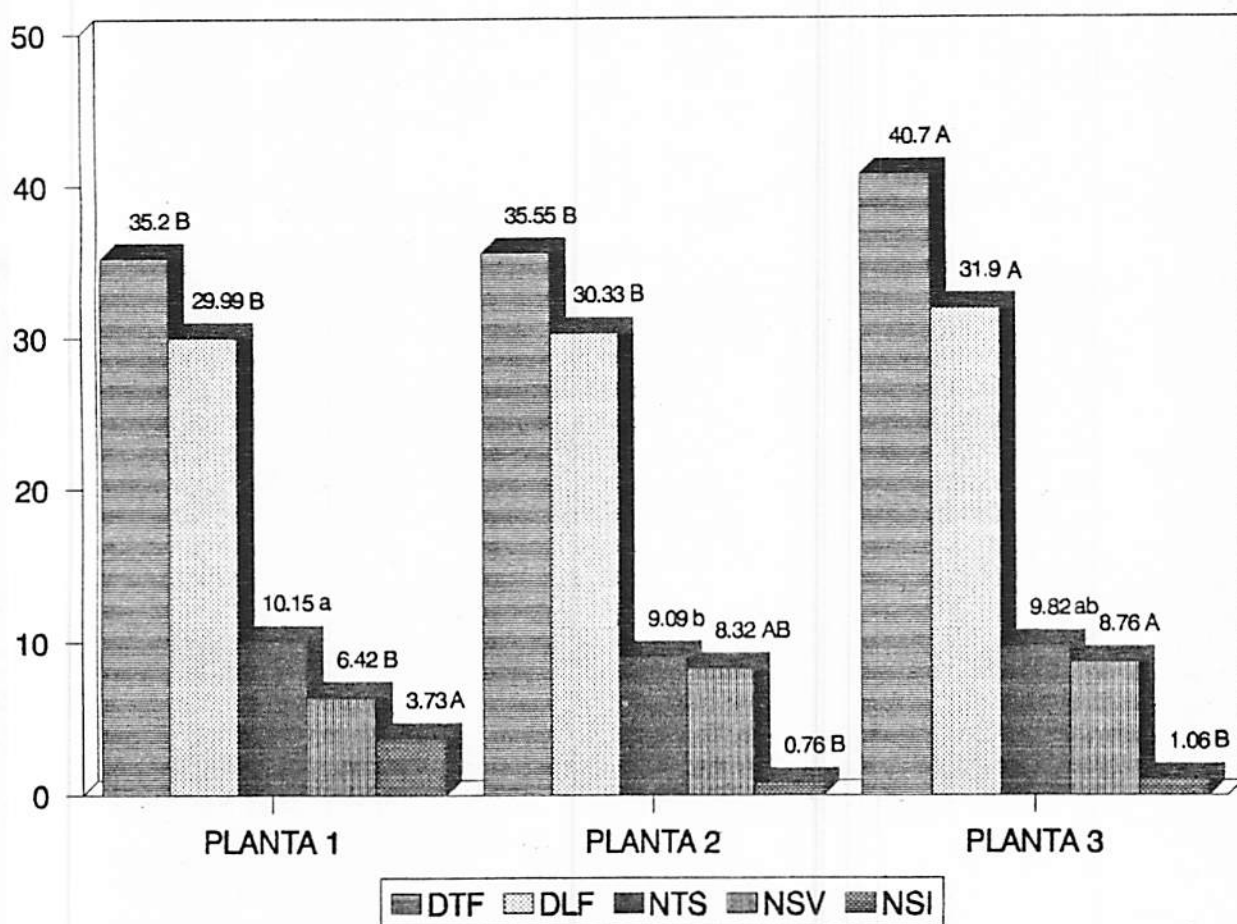


FIGURA 3 - Representação gráfica das médias obtidas por planta para as variáveis diâmetro transversal do fruto (DTF), diâmetro longitudinal do fruto (DLF), número total de sementes (NTS), número de sementes viáveis (NSV) e número de sementes inviáveis (NSI) do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

QUADRO 3 - Valores da correlação do diâmetro transversal do fruto com número de sementes viáveis obtidas de 1200 frutos amostrados da planta número três de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG., 1993.

Diâmetro Transversal do Fruto (DTF)	Número total de Sementes (NTS)	Número de Sementes (NSV)
R	0,5904**	0,6133**
R ²	0,3436	0,3761

** Significativo ao nível de 1%.

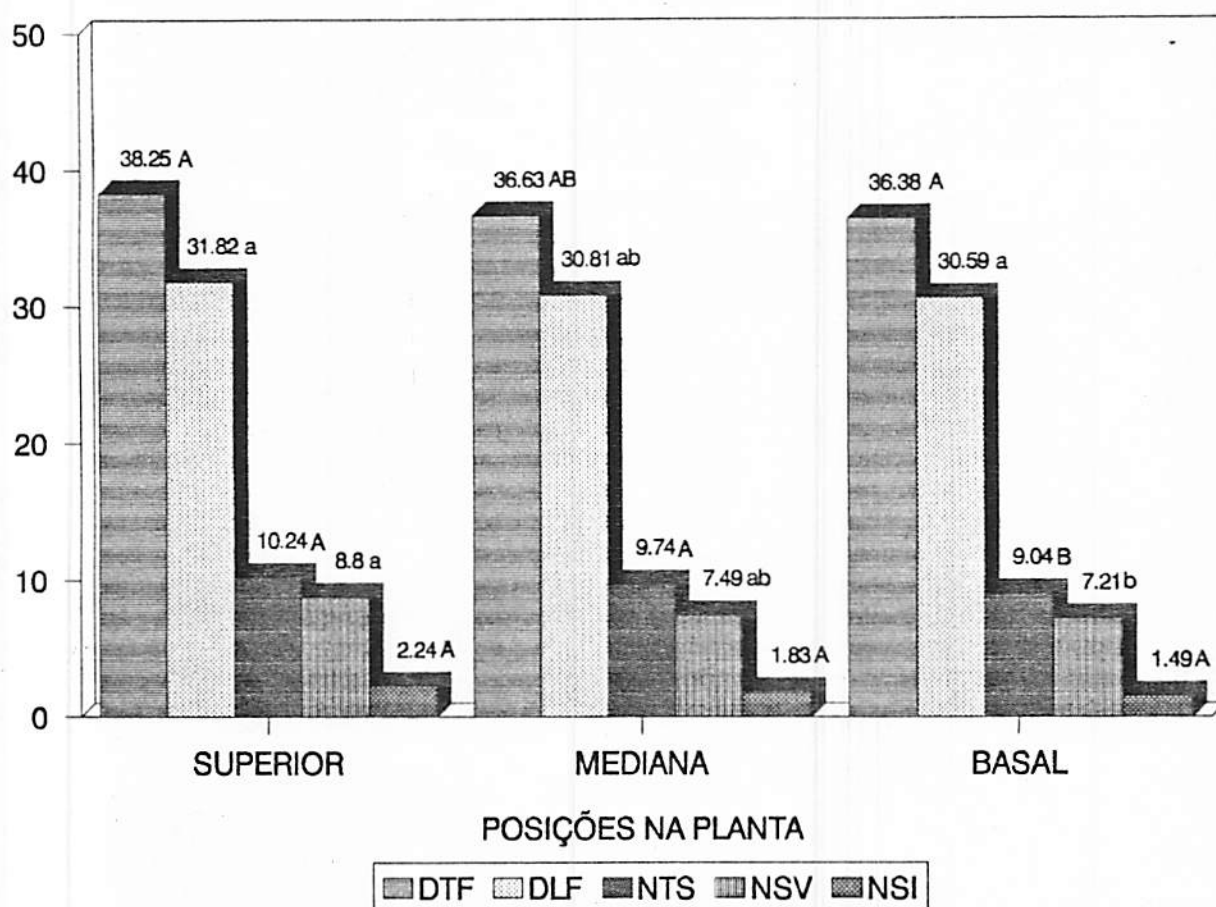


FIGURA 4 - Representação gráfica das variáveis diâmetro transversal do fruto (DTF), diâmetro longitudinal do fruto (DLF), número total de sementes (NTS), número de sementes viáveis (NSV) e número de sementes inviáveis (NSI) obtidas em três posições da planta do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

Estes resultados podem ser atribuídos ao fato de que na posição apical ocorre maior luminosidade e alguns pesquisadores afirmam que de um modo geral as tangerinas respondem positivamente a esse fator, tendo como consequência a melhor coloração dos frutos e do suco, além do maior tamanho dos frutos.

Ainda no Quadro 2 e Figura 5 pode-se perceber que as médias de diâmetro dos frutos, tanto DTF como DLF, para os quatro quadrantes observados, não diferiram estatisticamente.

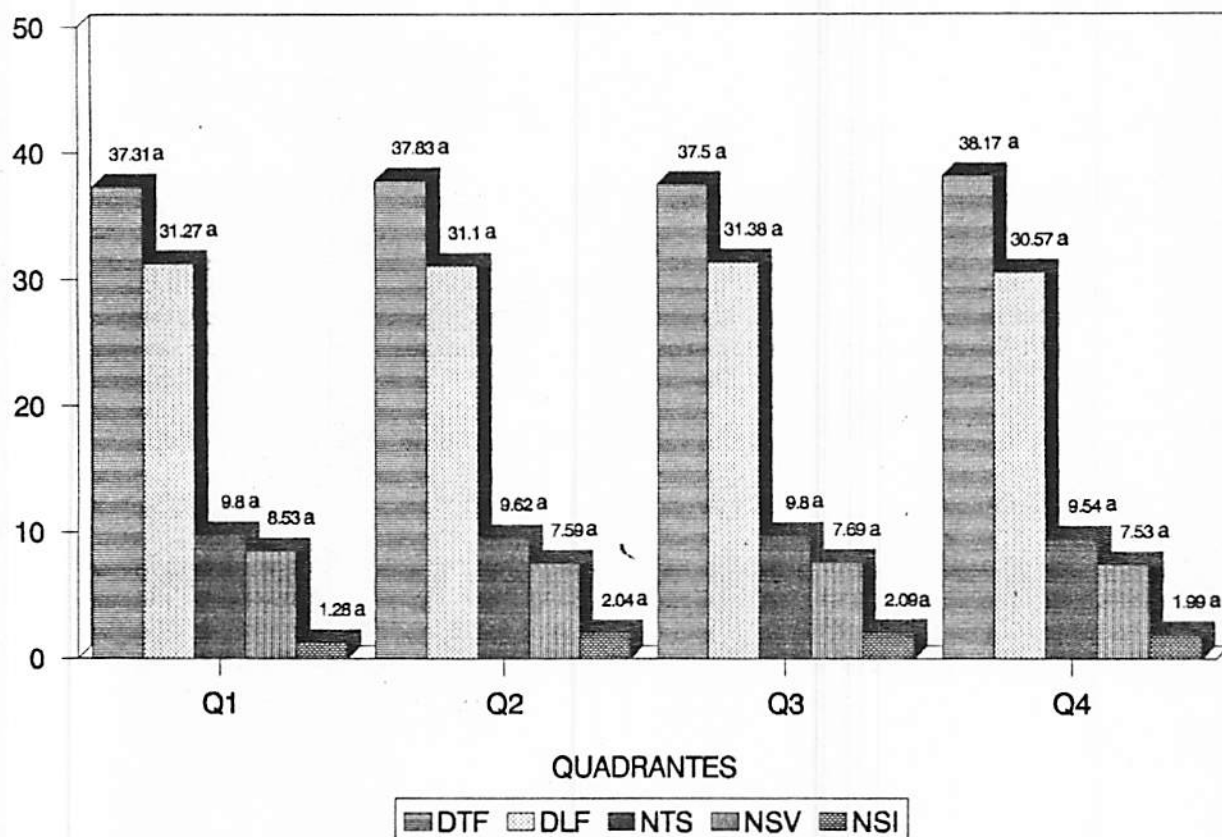


FIGURA 5 - Representação das médias das variáveis diâmetro transversal do fruto (DTF), diâmetro longitudinal do fruto (DLF), número total de sementes inviáveis (NSI) obtidas nos quadrantes da copa do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

4.1.2 - Número de sementes

Maior número de sementes viáveis foi apresentado pela planta número três e, este é o fator que realmente interessa sob o aspecto da produção de porta-enxertos. A planta número um apresentou maior número total de sementes, apesar de não ter diferido da planta número três, porém, este valor é resultado do somatório do número de sementes viáveis e inviáveis e, este último foi bem expressivo nesta planta (Quadro 2 e Figura 3).

A proximidade das colmeias e a grande variabilidade de fenótipos no pomar pode ter favorecido a polinização cruzada. Esses resultados estão de acordo com LANGE e VICENT (1972), que obtiveram frutos com maior número de sementes provenientes de polinização cruzada.

Deve-se salientar que o número de sementes é um fator extremamente importante para a propagação de porta-enxertos cítricos, pois a mesma se dá por sementes e, assim sendo, é desejável que o porta-enxerto apresente o maior número possível de sementes.

A variação proporcionada pela segregação seminífera dos citros é contornada pela predominância da poliembrionia, favorecendo o desenvolvimento de plantas assexuais.

Verificou-se um número expressivo de sementes por fruto (9,69), contrariando as afirmações de TEÓFILO SOBRINHO (1991a,b), que encontrou apenas três sementes por fruto, constituindo-se, segundo esse autor, em uma desvantagem do porta-enxerto tangerina 'Sunki'. Entretanto, com base nos dados obtidos nesse trabalho, para as condições de Lavras, a expressão desse número maior de sementes pode-se considerar o uso deste porta-enxerto como viável.

Esse resultado pode ter sido favorecido pela polinização cruzada devido à proximidade do local da colheita dos frutos às colmeias de *Apis mellifera*, pois segundo

(WONG 1940) a quantidade de sementes no fruto nas várias espécies e cultivares cítricas, varia com as condições de fertilização e clima.

Dados similares foram obtidos por (WONG 1949 e DEIDDA 1979), os quais utilizando a polinização cruzada com laranjas aumentaram o número de sementes por fruto. Da mesma forma, (MOFFET e RODNEY 1971), intercalando a variedade tangerina 'Fairchild' com variedades fornecedoras de pólen, além da colocação de colmeias, obtiveram um aumento de seis vezes na produção de frutos e dez vezes no número de sementes por fruto.

De acordo com os resultados obtidos observa-se que quanto maior o número total de sementes (NTS) maior diâmetro transversal do fruto (DTF), dados esses confirmados pela correlação simples. O Quadro 3 evidencia que a correlação foi significativa, positiva e com 0,5904 dos dados correlacionados. Trabalho semelhante confirmando os resultados foi feito por CHALFUN (1975) que concluiu que quanto maior o diâmetro dos frutos, maior é o número de sementes em tangerina 'Satsuma'.

Observando as Figuras 4 e 5, visualiza-se que quanto maior o número de sementes viáveis (NSV) maior foi o número total de sementes (NTS). Mostrando que o maior pegamento das sementes favorece o desenvolvimento do fruto, tendo como consequência o maior número de sementes viáveis. A correlação entre diâmetro transversal do fruto e número de sementes viáveis foi positiva igual a 0,6133 (Quadro 3) para a planta número três. Esses resultados estão de acordo com RAMOS (1990), que correlacionou diâmetro dos frutos com número de sementes viáveis em Citrus limonia Osbeck cv. cravo encontrando também uma correlação positiva.

A planta que apresentou um valor mais elevado de sementes inviáveis (chôchas) foi a número um. Esse resultado parece estar relacionado com uma maior distância dessa planta às colmeias. Entretanto é difícil afirmar que isso tenha sido a causa principal, podendo alguns fatores relevantes estarem relacionados a esse baixo vingamento das sementes nessa planta (Figura 3).

O resultado da análise de correlação mostrou que não houve efeito significativo entre as variáveis número de sementes inviáveis (NSI) e diâmetro transversal do fruto (DTF).

Com relação à posição na planta, observa-se pelo Quadro 2 e Figura 4, que a posição apical apresentou número total de sementes e número de sementes viáveis estatisticamente superior às demais posições. Esse resultado pode ter sido favorecido pela absorção de maior luminosidade. Da mesma forma a posição superior mostrou maior número de frutos, os quais se apresentaram com maior diâmetro e peso, evidenciando a influência que o número de sementes exerce sobre o desenvolvimento do fruto.

De modo semelhante ao que verificou-se para as demais variáveis analisadas, o número de sementes por fruto não foi influenciado pelo quadrante da planta (Quadro 2 e Figuras 4 e 5).

4.1.3 - Peso médio dos frutos

Observa-se no Quadro 2, que a planta número três apresentou maior peso dos frutos. Esse resultado é semelhante ao obtido para número total de sementes e está de acordo com afirmações de HODGSON e FROST (1968) de que quanto maior o número de sementes maior é o tamanho do fruto.

Os frutos de maior tamanho localizaram-se na parte superior da planta em relação às demais posições. Isto se explica pela posição privilegiada com relação à absorção da luz solar.

4.2 - EXPERIMENTO 2: Germinação de sementes imaturas "in vitro" do porta-enxerto tangerina 'Sunki'.

4.2.1 - Número médio de sementes por fruto

Observando o Quadro 4 pode-se notar que se tratava de frutos ainda imaturos porque, apresentavam 19,89 mm de diâmetro transversal 31,08 mm de diâmetro longitudinal, quando comparados com frutos maduros que apresentaram em média 37,16 mm e 31,08 mm, de diâmetro transversal (diâmetro) e diâmetro longitudinal (altura), respectivamente.

QUADRO 4 - Diâmetro transversal, longitudinal do fruto, número total de sementes por fruto, percentagem de sementes germinadas, percentagem de sementes com calogênese e taxa de poliembrião em tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

Fruto	Nº Total de Frutos	Diâmetro Transversal do Fruto (mm)	Diâmetro Longitudinal do Fruto (mm)	Nº Total de Sementes/fruto	% de Sementes Germinadas	% de Sementes com Calogênese	Taxa de Expressão da Poliembrião
Imaturo	30	19,89	19,68	13,55	8	19,33	3,13
Maduro	3600	37,16	31,08	9,69	---	---	---

Verifica-se pelo mesmo Quadro 4, que o número total de sementes registradas nessa fase foi de 13,55 por fruto, considerado acima dos valores médios encontrados em outros ambientes conforme foi observado por TEÓFILO SOBRINHO (1991b), em experimentos conduzidos na Estação Experimental Sívio Moreira em Cordeirópolis, encontrando em média três sementes. Entretanto, deve-se considerar que no presente trabalho, os frutos apresentavam-se imaturos, somente com 10 a 12 semanas após a sua fecundação. Sendo assim, a comparação entre os dois trabalhos deve ser

cautelosa, pois o número de sementes por fruto é dependente de inúmeros fatores e entre eles a maturidade do fruto.

Verifica-se, ainda pelo Quadro 4, que o número médio de sementes por fruto maduro foi de 9,69, comparados à 13,55 dos frutos imaturos, sugerindo que nem todas as sementes completam sua maturação no fruto.

Houve também uma baixa percentagem de germinação das sementes oriundas de frutos imaturos, consequência, do fato de que nem todas as sementes completaram o seu desenvolvimento e maturação, culminando nesse resultado.

Comparando os resultados de germinação e a calogênese, observou-se uma alta taxa para o segundo parâmetro, sugerindo que o meio estudado favoreceu esse processo.

4.2.2 - Número de sementes germinadas

O Quadro 5 mostra que houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, tanto para ANA quanto para BAP, enquanto que a interação entre esses dois reguladores não teve efeito significativo. A análise de regressão para ANA (Figura 6) isoladamente, revelou que a equação cúbica é a que melhor representa a variação dos dados obtidos, para número de sementes germinadas, com os seguintes termos: $Y = 0,7835 - 6,7180X + 70,8475X^2 - 64,1978X^3$.

De acordo com a Figura 6, verifica-se que os pontos que expressaram o maior número de sementes germinadas, foram na ausência de ANA e dosagens próximas de 1,0 mg/L. Na dosagem 0,01 mg/L de ANA houve um decréscimo, voltando novamente a subir na dosagem 0,1 mg/L, aumentando a partir daí até o máximo próximo do valor de 0,68 mg/L.

QUADRO 5 - Resumo da análise de variância para sementes germinadas e número de embriões em diferentes concentrações de ANA e BAP em meio básico MS. ESAL, Lavras, MG, 1993.

C.V.	G.L.	QUADRADO MÉDIO	
		Nº SEMENTES GERMINADAS(1)	Nº DE EMBRIÕES(2)
ANA	3	0,02466 *	0,106425
Regressão Linear	1	0,02868 *	0,16319
Regressão Quadrática	1	0,00002	0,00338
Regressão Cúbica	1	0,04529 *	0,15269
BAP	4	0,01864 *	0,10642
Regressão Linear	1	0,05704 *	0,10642
Regressão Quadrática	1	0,00541	0,05521
Regressão Cúbica	1	0,00542	0,05711
Regressão Grau 4	1	0,00669	0,00164
ANA * BAP	12	0,01188	0,06144
Resíduo	80	0,55888	0,04748
C.V. (%)	-	11,23	20,17
Médias	-	0,7446	1,08

* Significativo ao nível de 5%

(1) Dados transformados para $(x+0,5)^{1/2}$

(2) Dados transformados para $(x+1)^{1/2}$

Pode-se afirmar que esses resultados corroboram afirmações de alguns autores como (BOUZID 1975), que obteve resultados satisfatórios com ANA a 1,0 mg/l para o desenvolvimento de ramos e gemas de *Citrus aurantium*, a partir de segmentos nodais e internodais juvenis. Porém, naquele caso, foram usados explantes já estabelecidos, enquanto que no presente trabalho foram colocadas sementes imaturas da tangerineira 'Sunki'.

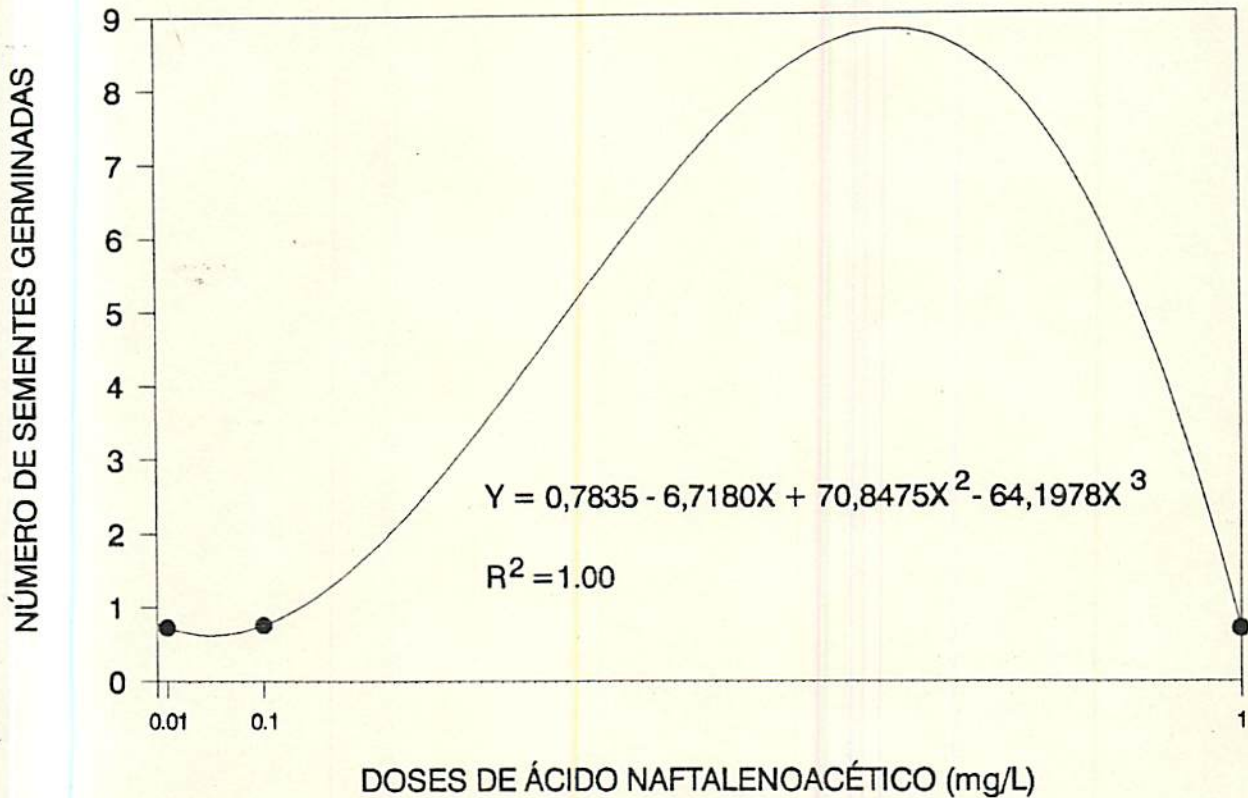


FIGURA 6 - Representação do número de sementes germinadas de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.) nas diferentes dosagens de ácido naftalenoacético, através da regressão cúbica. ESAL. Lavras, MG, 1993.

Esses resultados podem também, ser comparados com os de (RAMOS 1990), que trabalhando com cultura de embriões, obteve desenvolvimento com regeneração posterior de plântulas "in vitro", utilizando somente meio MS, sem adição de reguladores de crescimento.

Deduz-se que para desenvolvimento e posterior germinação das sementes, os resultados são conflitantes, pois os pontos máximos são, ora para valores próximos de zero ou então para valores próximos de um.

Esses resultados demonstraram que há necessidade de incrementação de pesquisas, principalmente para germinação de sementes imaturas "in vitro".

Os resultados da análise de regressão para BAP foram diferentes daqueles registrados para ANA. Houve significância apenas para a regressão linear, chegando-se à seguinte equação: $Y = 0,7699 - 0,03377X$.

A Figura 7 mostra que à medida que se aumentou a dosagem de BAP, menor foi o número de sementes germinadas.

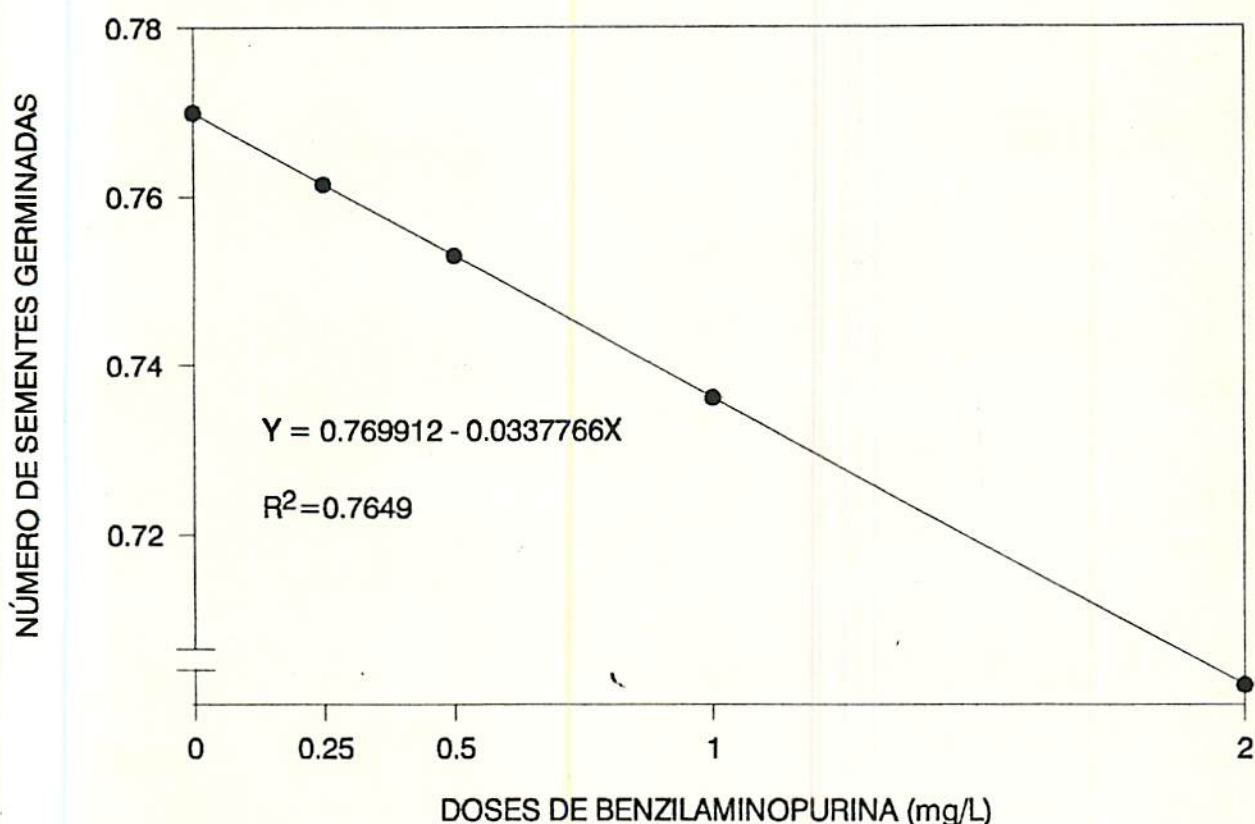


FIGURA 7 - Representação do número de sementes germinadas de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.) nas diferentes dosagens de Benzilaminopurina. ESAL, Lavras, MG, 1993.

Esse efeito demonstra que o BAP, aplicado exogenamente é prejudicial à germinação de sementes, em qualquer das concentrações utilizadas. Esses resultados podem ser relacionados com as afirmações de KITTO e YOUNG (1981), que usando extremidades de ramos de plântulas de citrange 'Carrizo' promoveram a proliferação

de cerca de 3 a 4 brotos por explante, com a utilização de BAP, na dosagem de 5,0 mg/L. Porém, esses resultados foram obtidos a partir de plantas já desenvolvidas, enquanto nesse caso utilizou-se sementes imaturas, o que pode levar a resultados totalmente diversos.

Pode-se afirmar que ambos os reguladores de crescimento (ANA e BAP) podem ser dispensados na germinação de sementes, corroborando afirmações de PASQUAL (1985), que a adição de citocininas e auxinas podem inibir a embriogênese.

Apesar da afirmativa estar relacionada à nucelos e embriogênese, pode-se, por analogia, comparar os resultados, pois, sabe-se que a maioria dos cultivares ou variedades dos cítricos são poliembriônicas. Sendo assim, o processo e as etapas de desenvolvimento e posterior germinação das sementes e embriões mantêm um estreito relacionamento.

A expectativa de se desenvolver as sementes "in vitro", possibilitando a germinação da totalidade das sementes de cada fruto, não obteve resultado satisfatório. Isto sugere que novas pesquisas devam ser conduzidas, com a utilização de novos reguladores de crescimento, como por exemplo o ácido giberélico.

4.2.3 - Percentagem de sementes com calos

Pelo Quadro 4, observa-se que houve formação de calos em 19,33% das sementes analisadas. As dosagens que favoreceram a um desenvolvimento mais efetivo de calos foram de 1 mg/L de ANA e 0,5 a 2,0 mg/L de BAP, explicando porque houve baixa germinação.

Esses resultados sugerem que a formação de calos é favorecida pela presença de auxina (ANA) e citocinina (BAP), uma vez que inibem a embriogênese de nucelos e o desenvolvimento de embriões, conforme foi observado por PASQUAL (1985), de que as auxinas e citocininas inibem a embriogênese de nucelos e o desenvolvimento de

embriões. No presente trabalho, sugere-se que a adição de BAP e ANA, dificultou o desenvolvimento dos embriões em favor do desenvolvimento de calos.

4.2.4 - Taxa de expressão da poliembrionia

A taxa de expressão da poliembrionia é o termo que significa o número de plântulas que se desenvolveram em cada semente. Para a cultivar 'Sunki' esse número foi de 3,13, diferindo da taxa real de poliembrionia (número de embriões por semente). Comparando-se esse resultado (3,13) com o obtido na germinação (1,72) se observa que houve uma grande diferença entre ambos. Mostrando que a adição de ANA e BAP alteraram significativamente o desenvolvimento de embriões imaturos (FROST e SOOST 1968; OGATA 1981; ABRAMOF et al. 1978).

4.3 - EXPERIMENTO 3: Efeito do Triadimenol e Benzilaminopurina na proliferação de brotos do porta-enxerto tangerina 'Sunki'.

O Quadro 6 mostra os resultados das análises de variância das regressões dos efeitos das dosagens do triadimenol que houve efeito significativo para os fatores isoladamente, contudo a interação dos fatores não foi significativa.

O efeito do fungicida sobre as variáveis número de brotos menores que 10 mm, número de brotos maiores que 10 mm e número total de brotos foi significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F, o mesmo ocorrendo para o benzilaminopurina.

A análise estatística da relação entre as três variáveis estudadas em relação ao fungicida indica a regressão linear como a que melhor se ajusta aos dados obtidos. Por outro lado, em relação às dosagens de BAP a equação que melhor explica as relações entre as variáveis é a quadrática.

QUADRO 6 - Resumo das análises de variância para as variáveis número de brotos < 10 mm, número de brotos > 10 mm e número total de brotos de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.) em diferentes concentrações do fungicida Triadimenol e Benzilaminopurina. ESAL, Lavras, MG, 1993.

Fontes de Variação	G.L.	QUADRADOS MÉDIOS PARA		
		Número	de	Brotos
		< 10mm	> 10mm	Total
Fungicida	4	0,6394*	0,3678*	1,2074*
Regressão Linear	1	2,3382*	1,2272*	4,7081*
Regressão Quadrática	1	0,0061	0,0271	0,0639
Regressão Cúbica	1	0,3707*	0,1963*	0,0415
Regressão Grau 4	1	0,0586	0,0208	0,0161
BAP	3	0,6934*	0,1951*	0,9512*
Regressão Linear	1	0,8406	0,0204	0,5392
Regressão Quadrática	1	1,0282*	0,5357*	2,1309*
Regressão Cúbica	1	0,2292*	0,0294	0,1833
Fungicida x BAP	12	0,0952	0,0642	0,1571
Resíduo	60	0,0746	0,0563	0,0994
CV (%)		18,365	21,486	18,417
Médias		1,4925	1,1048	1,7116

* Significativa ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F

Outro aspecto a ser considerado é o coeficiente de variação, que foi considerado alto para todas as variáveis estudadas. Entretanto, experimentos conduzidos "in vitro" têm apresentado coeficientes de variação normalmente elevados, em função dos inúmeros fatores que interferem no comportamento dos explantes.

Verifica-se ainda pelo Quadro 6 que as médias foram semelhantes, contudo para o número de brotos o valor foi maior, como já era previsto, pois esse valor reflete a soma total das outras duas variáveis,

Na Figura 8 estão representadas equações do número de brotos e as curvas correspondentes que explicam as diferenças, entre os números de brotos em função

das dosagens do Triadimenol. Observa-se que os efeitos foram semelhantes, uma vez que as três variáveis analisadas apresentam uma mesma tendência de decréscimo do número de brotos à medida que se aumentam as doses do fungicida.

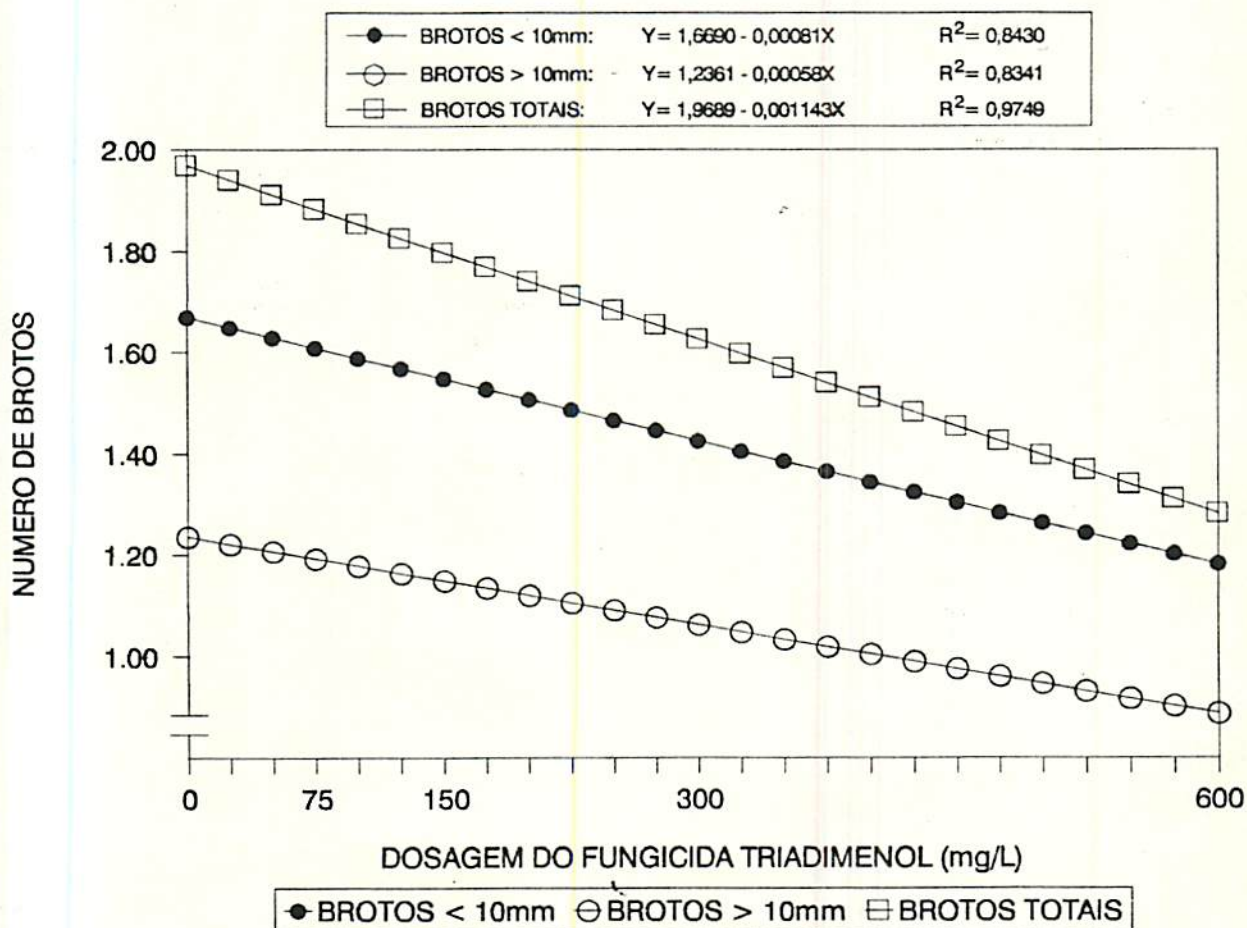


FIGURA 8 - Representação do efeito das dosagens do Triadimenol no número de brotos menores que 10 mm, número de brotos maiores que 10 mm e número total de brotos, em explante de tangerina 'Sunki'. ESAL, Lavras, MG, 1993.

Em todos os casos, equações lineares ajustadas ao nível de 5% de probabilidade foram as que melhor explicaram as variações existentes, com R^2 iguais a 84,30. 83,41 e 97,49, respectivamente para números de brotos < 10 mm, > 10 mm e totais.

Analisando-se os dados, constata-se que à medida que se aumentou a dosagem do fungicida, menor número de brotações foi obtido para as três variáveis estudadas. Os efeitos isolados do fungicida desfavorecem o aumento de brotações nos explantes de tangerineira 'Sunki'. Estes resultados contrariam os de (MOREIRA 1993), nos quais usando o Benomyl acrescido ao meio básico favoreceu a proliferação de brotações, com uma curva de resposta quadrática, obtendo-se um valor máximo na dosagem de 242 mg/L. Deve-se salientar que os resultados de MOREIRA (1993) foram com o fungicida Benomyl, que mantém certa semelhança estrutural com as citocininas (THOMAS 1973).

Apesar do Triadimenol ter apresentado efeitos negativos como indutor de brotações, novas pesquisas devem ser feitas no sentido de elucidar seu comportamento "in vitro". O citado fungicida, poderá apresentar comportamentos diferentes, não só como protetor do meio de cultura, mas também como estimulador de brotações em participação com outros reguladores de crescimento.

Analisando-se a Figura 9, observa-se que as três variáveis analisadas em diferentes níveis de BAP, apresentaram comportamento semelhante. As doses que induziram o máximo número de brotos foram: 2,6 mg/L para brotos < 10 mm, 1,95 mg/L para brotos > 10 mm e 2,4 mg/L para brotos totais.

Como pode ser observado os resultados obtidos para as três variáveis estudadas dentro das dosagens de BAP, foram melhor representados por uma equação de efeito quadrático, ao nível de 5% de probabilidade. Essas equações ajustadas apresentaram um coeficiente de determinação de 89,08, 94,98 e 93,57 respectivamente para número de brotos < 10 mm, > 10 mm e totais.

Estas observações sugerem que o BAP, isoladamente, tem efeito sobre o número de brotações. Isso é coerente por isso o BAP é um regulador de crescimento muito utilizado em trabalhos de cultura de tecidos. Esses resultados estão de acordo aos de TEIXEIRA e LANI (1986), que obtiveram resultados satisfatórios usando BAP a

0,3 mg/L, com segmentos internodais de *Citrus sinensis* cv. Pêra. Resultados semelhantes também foram obtidos por KITTO e YOUNG (1981), em pesquisas com citrange 'Carrizo', obtendo 3 a 4 brotações por explante.

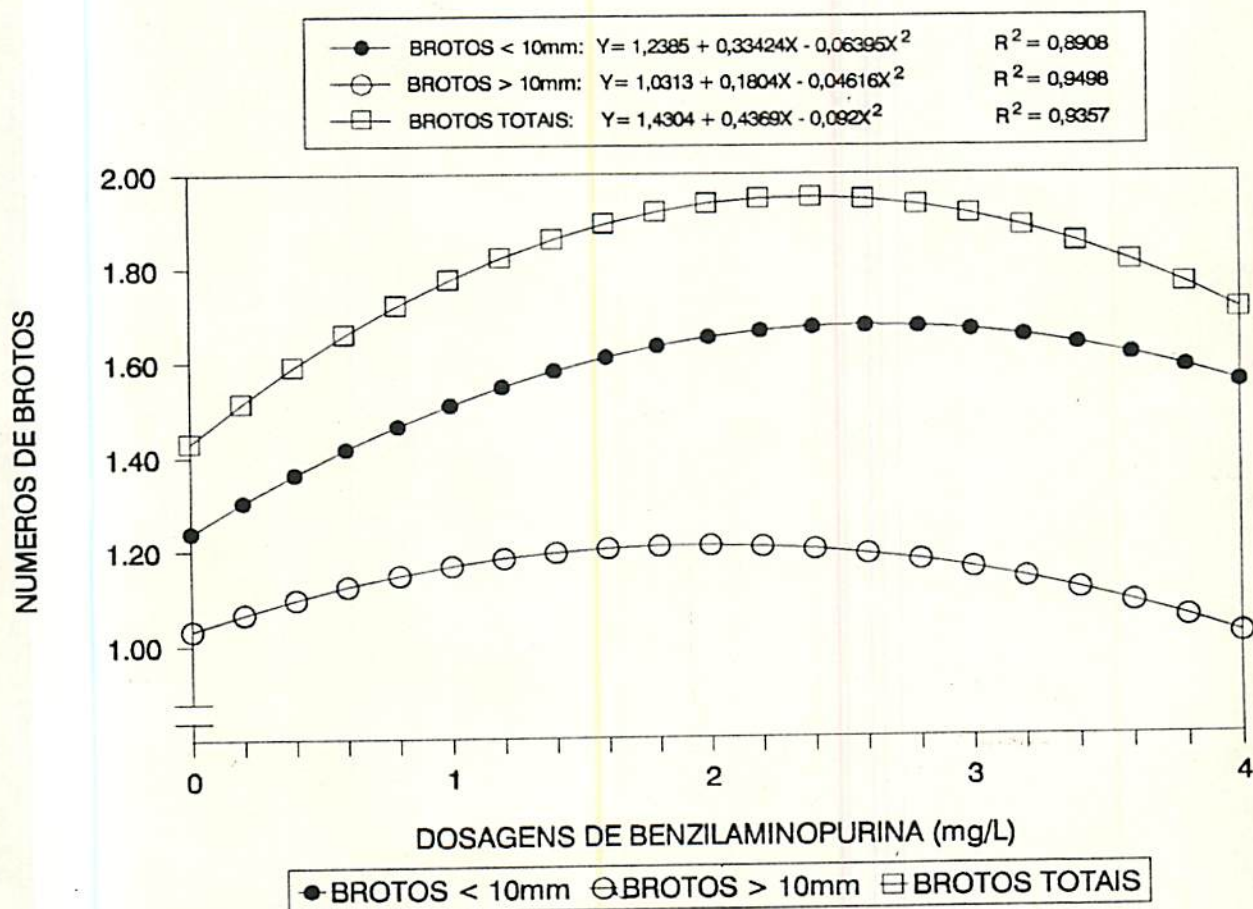


FIGURA 9 - Representação dos efeitos das dosagens de benzilaminopurina no número de brotos menores que 10 mm, número de brotos maiores que 10 mm e número total de brotos, em explante de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

4.4 - EXPERIMENTO 4: Uso do Ácido giberélico na germinação de sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki'.

Observou-se pelos resultados obtidos que as sementes iniciaram a germinação a partir do quinto dia pós-semeadura, contudo, somente a partir do 15^o dia houve a

emergência total das plântulas. O Quadro da análise de variância dos resultados estão expressados no Quadro 7, evidenciando que apesar da germinação ser precoce, não foi significativa estatisticamente até a 4ª avaliação (20 dias pós-semeadura).

QUADRO 7 - Quadrados médios das análises de variância obtidos das avaliações da percentagem de sementes germinadas do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

PERCENTAGEM DE SEMENTES GERMINADAS					
CAUSAS DE VARIÇÃO	G.L.	3ª AVALIAÇÃO (15 DIAS)	4ª AVALIAÇÃO (20 DIAS)	5ª AVALIAÇÃO (25 DIAS)	6ª AVALIAÇÃO (30 DIAS)
TEMPO (T)	3	46,5903	1,6478	255,0183**	163,6119**
GA ₃ (G)	3	46,5388	66,0582	47,3369	1,4485
TEMPO X GA ₃ (T X G)	9	36,8791	64,3301	29,9744	111,9429*
CV (%)	---	108,227	24,361	32,230	19,583

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Verifica-se também no Quadro 7 que na 5ª avaliação (25 dias pós-semeadura), houve diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade para o fator tempo, enquanto que para GA₃ e interação não se detectou diferença significativa.

Esses resultados podem ser melhor visualizados pela Figura 10, em que se evidencia o fator tempo influenciando a percentagem de sementes germinadas. Na mesma Figura se observa que o maior valor de percentagem de germinação foi para imersão das sementes durante seis horas, seguido de imersão rápida (tempo zero).

Resultados semelhantes foram encontrados por CHOUDHARI e CHAKRAWAR (1981), em que estudando o efeito do GA₃ + ANA concluiu que imersão por 12 horas em 40 ppm de GA₃ se apresentou como melhor tratamento para germinação de sementes de limão "Cravo".

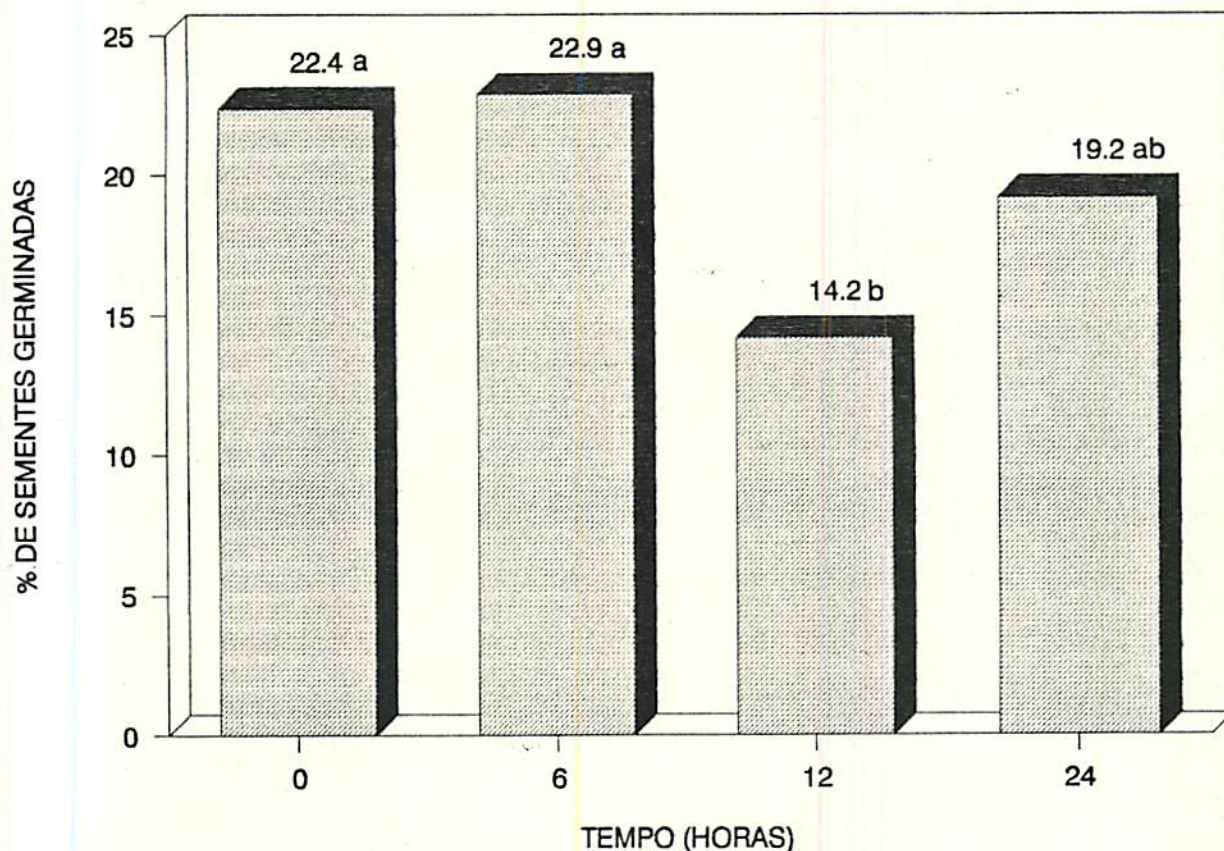


FIGURA 10 - Representação do efeito do tempo de imersão sobre a percentagem de sementes germinadas do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

De acordo ainda com a Figura 10 e pelos resultados apresentados no Quadro 7 ficou demonstrado que as sementes podem ser somente colocadas em imersão durante poucos segundos a seis horas apresentaram as mais altas percentagens de germinação a partir deste tempo houve redução dos valores percentuais.

Analisando de uma maneira global o Quadro 7, visualiza-se que a germinação mais rápida foi generalizada para todos os tratamentos, não se detectando diferenças significativas entre os mesmos, o que pode ser devido às condições satisfatórias em que o ensaio foi desenvolvido (PORTO e MOREIRA 1978).

Segundo os resultados de MIRANDA NETO e CHAVES (1969); TEARE e WILSON (1970); NILO GONZALES (1978), a germinação precoce pode ser favorecida

pela utilização do regulador de crescimento em que as giberelinas seriam responsáveis pela promoção da germinação (KHAN 1971). Entretanto, no presente trabalho, não se detectou diferenças significativas quanto à testemunha, isso pode ter sido favorecido pelo ambiente, como afirmado por REIS e WETZEL (1981).

Registra-se no mesmo Quadro 7 que na 6ª avaliação (30 dias), houve a confirmação dos resultados expressados na 5ª avaliação em que o fator tempo também foi significativo ao nível 5% de probabilidade. Detecta-se também que a interação tempo X GA₃ foi significativa ao nível de 5% de probabilidade, resultado esse que justificou o emprego da análise de regressão das concentrações de GA₃ dentro dos tempos.

QUADRO 8 - Resumo da análise de variância do comportamento dos efeitos das dosagens de GA₃ na percentagem de germinação em relação ao tempo zero de imersão das sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	QUADRADOS MÉDIOS
REGRESSÃO LINEAR	1	73,3538
REGRESSÃO QUADRÁTICA	1	418,6066*
REGRESSÃO CÚBICA	1	3,2613

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

O estudo da análise de variância dos efeitos das dosagens de GA₃, na percentagem de germinação, no tempo zero de imersão mostrou que a regressão quadrática foi significativa ao nível de 5% de probabilidade. A equação que melhor explica o comportamento da percentagem de sementes germinadas é $Y = 38,4796 - 0,4202 X + 0,0046 X^2$. Analisando-se a Figura 11 denota-se que o comportamento da curva atingiu um ponto de mínimo na dosagem de 46 mg/L de GA₃ subindo após esta dosagem.

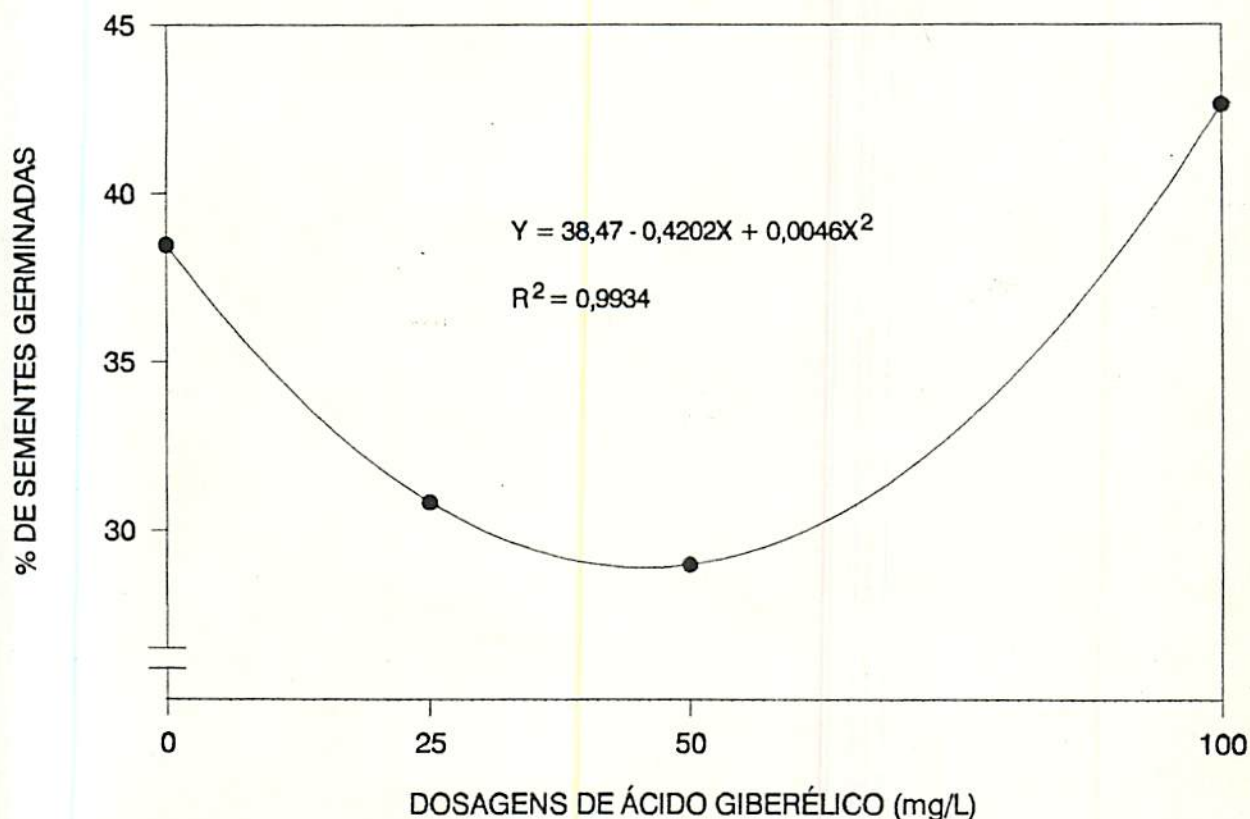


FIGURA 11 - Representação do efeito das doses de ácido giberélico, aplicado mediante imersão (por poucos segundos: tempo zero) das sementes na porcentagem de germinação de sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

Esses resultados mostram que a dosagem de GA_3 deve ser muito alta quando se colocam as sementes em imersão durante poucos segundos (tempo zero).

O resumo da análise de variância (Quadro 9) dos efeitos das concentrações de GA_3 na porcentagem de germinação no tempo seis mostrou que a regressão linear foi a que melhor explicou o comportamento dos dados analisados, resultando numa equação $Y = 25,3543 + 0,0736 X$.

Pela Figura 12 pode ser observado que à medida que se aumentou a dose de GA_3 , maior foi o valor da porcentagem de sementes germinadas. Fica evidente, nesse caso, a participação do ácido giberélico, favorecendo a germinação como observado

em alguns trabalhos TEARE e WILSON (1970); FERRI (1979); CHOUDHARI e CHAKDAWAR (1981); MAYER e POLJAKOFFMAYBER (1989).

QUADRO 9 - Resumo da análise de variância do comportamento dos efeitos das dosagens de GA₃ na percentagem de germinação em relação a seis horas de imersão das sementes de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

CAUSAS DE VARIACÃO	G.L.	QUADRADOS MÉDIOS
REGRESSÃO LINEAR	1	118,6455*
REGRESSÃO QUADRÁTICA	1	5,9136
REGRESSÃO CÚBICA	1	1,4994

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

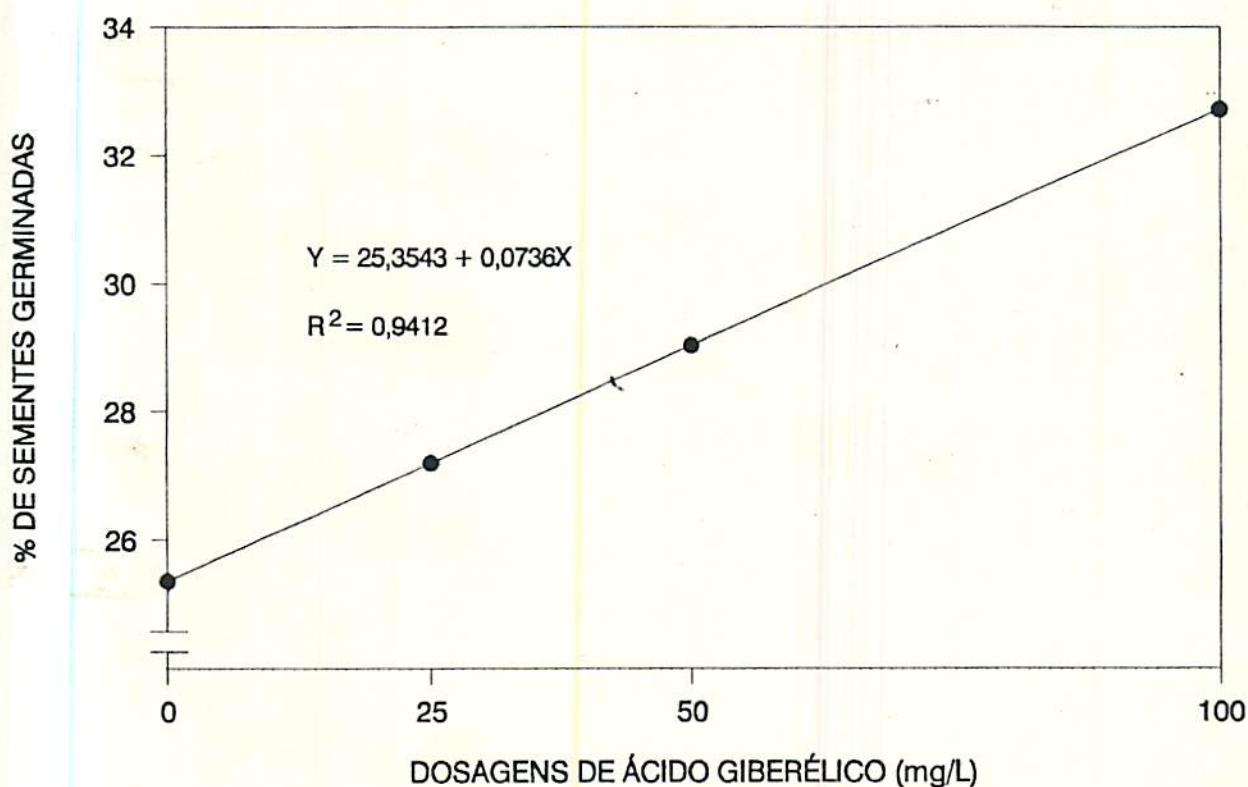


FIGURA 12 - Representação do efeito das doses de ácido giberélico, aplicado mediante imersão (por seis horas: tempo seis) das sementes, na percentagem de germinação de sementes do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras, MG, 1993.

Esse resultado é semelhante ao anterior (tempo zero), em que com relação a ter os maiores valores de germinação nas dosagens mais altas do ácido giberélico. Assim sendo, confirma-se que tanto para poucos segundos de imersão (tempo zero) como seis horas (tempo seis) há necessidade de uma dosagem próxima ou em torno de 100 mg/L de GA₃ para se obter boa percentagem de germinação. Percebe-se que esses resultados diferem daqueles de CHOUDHARI e CHAKRAWAR (1981) em que para o mesmo tempo de imersão, a dosagem melhor foi de 40 ppm de ácido giberélico.

Para a variável número de plantas por semente ou taxa de expressão da poliembrião, não houve significância. Obteve-se um coeficiente de variação de 16,69%, enquanto que a taxa de poliembrião foi de 1,72. O valor de 1,72 expressa o número médio de plantas por semente.

Comparando esses resultados aos de RAMOS (1990) denota-se que a tangerina 'Sunki' possui um valor médio da taxa de poliembrião (1,72). Segundo o mesmo autor, a taxa de poliembrião encontrada para limão 'Trifoliata' e limão 'Cravo' foi de 2,90, considerada alta e 1,41, baixa, respectivamente.

Esses resultados são relevantes, pois os produtores de mudas cítricas, principalmente os porta-enxertos, são propagados via semente e a poliembrião garante a manutenção da identidade genética e conseqüente uniformidade das plantas comerciais futuras.

Esse resultado reforça a afirmativa de NILO GONZALEZ (1978), de que o germinador favorece a velocidade de germinação e permite expressar o potencial poliembriônico.

5. CONCLUSÕES

Nas condições em que os trabalhos foram conduzidos concluiu-se que:

- 1) Houve diferença significativa entre plantas para número e peso dos frutos e número de sementes.
- 2) A parte superior da planta apresentou maior diâmetro (transversal e longitudinal) dos frutos, maior número de sementes (total e viáveis) e maiores valores para número e peso médio dos frutos.
- 3) O fruto de tangerineira "Sunki" apresentou em média 37,15 mm de diâmetro transversal, 31,08 mm de diâmetro longitudinal, 9,7 sementes, com 7,8 viáveis e 1,9 sementes inviáveis e 22,36 gramas por fruto. A produção média foi de 4.689 frutos por planta.
- 4) Quanto maior o número de sementes maior foi o diâmetro do fruto.
- 5) O uso de BAP e ANA, nas dosagens utilizadas não foi suficiente para promover desenvolvimento satisfatório "in vitro" de sementes imaturas.

- 6) A percentagem de sementes desenvolvidas com posterior germinação foi de 8,00%, com desenvolvimento de calos em 19,33%.
- 7) A taxa de expressão de poliembrionia "in vitro" das sementes germinadas foi de 3,13 e em germinador foi de 1,72.
- 8) O uso do fungicida Triadimenol não foi satisfatório para a proliferação de brotos, enquanto que BAP favoreceu a proliferação de brotos menores e maiores que 10 mm.
- 9) As sementes iniciaram o processo de germinação aos 5 dias pós-semeio, e a germinação completa ocorreu primeiramente aos 15 dias.
- 10) A imersão durante poucos segundos na solução com regulador de crescimento foi suficiente para favorecer a absorção pelas sementes.
- 11) À medida que se aumentou a dosagem de GA_3 , maior foi a percentagem de sementes germinadas a zero e seis horas de imersão.

6. - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABELES, F.B.; MORGAN, P.W. & SALVEST JUNIOR, M.E. The role of ethylene in agriculture. In: _____. **Ethylen in plant biology**. 2.ed. New York, Academic Press, 1992. p.264-296.
2. ABRAMOF, F.L.; FUJIWARA, M. & COSTA, O.A. **Embriologia em *Citrus* spp.** Piracicaba, ESALQ, 1978. 54p.
3. AGELES A.E.; K.F.E.L. & SAID, M.S. Introduction of flowering in *Daucus carota* L. with gibberellin and its effects on different characters of plant. **Agricultural Research Review**, Baltimore, **55(3)**:135-142, 1977.
4. ALTMAN, A. & GOREN, R. Growth and dormancy cycles in *Citrus* bud cultures and their hormonal control. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, **30(3)**:240-245, 1974.
5. _____ & GOLDEN, R. Horticultural and physiological aspects of *Citrus* bud culture. **Acta Horticulturae**, The Hague, **78(2)**:51-60, 1977.

6. AMARO, A.A.; ARAÚJO, C.M.; PORTO, O.M.; DORNELLES, C.M.M.; CUNHA SOBRINHO, A.P. & PASSOS, O.S. Panorama da citricultura brasileira. In: RODRIGUES, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J. & AMARO, A.A., eds. **Citricultura Brasileira**, 2. ed. Campinas, Fundação Cargill, 1991. v.1, p.22-54.
7. ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**; guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola. 2. ed. rev. e atual. São Paulo, 1987. p. 73-74, 77-79.
8. AUNG, L.H.; DE HERTOOGH, A.A.J. & STABY, G.L. Gibberellin like substances in bulb species. **Canadian Journal of Botany**, Otthawa, **47(11):1817-1819**, Nov. 1969.
9. AWAD, M. & AMENOMORY, H. Efeito das giberelinas no amadurecimento do caqui "Taubaté " (*Diospyros kaki*). **Revista de Agricultura**, Piracicaba, **46(4):159-161**, 1971.
10. _____ & COMPAGNO, C.T. Efeito do ácido 2-cloro- etilfosfônico (ethephom), das giberelinas e do confinamento em sacos de polietileno, no amadurecimento de banana nanica (*Musa sapientum* L.) **Revista de Agricultura**, Piracicaba, **48(2/3):87- 88**, 1983.
11. AZEVEDO, A.I. **Efeitos da aplicação do ácido giberélico evernalização de raízes sobre a produção de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.)**. Lavras, ESAL, 1991. 51p. (Tese de Mestrado).

12. BAKRY, F.J. A embiogênese somática e suas aplicações. In: SIMPÓSIO DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 1, Brasília, 1985. **Anais...** Brasília, 1986. p.29.
13. BONNER, J. & GALSTON, A.W. **Principles of plant physiology**. New York, W.H. Freeman, 1955. p.424-35.
14. BOUZID, S. Quelques traits du comportement de boutures de *Citrus* en culture "in vitro". **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Academie des Sciences**, Paris, **280**(14):1689-1692, 1975.
15. BRANSALY, R.R. & ARYA, H.C. Organogênese in *Citrus limettioides* (Sweet lime) callus culture. **Phytomorphology**, Delhy, **20** (2): 98-100, 1979.
16. BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. s.1., 1976.
17. BRUNET, G. & IBRAHIM, R.K. Tissue cultures of *Citrus* peel and its potential for flavonoide synthesis. **Zitschrift für Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, **69**(2): 152-162, 1973.
18. BUKOVAC, M.J. & WITWER, S.R. Gibberellin and higher plants II - Induction of flowering in biennials. **Quantitative Bullettin Michigan Agricultural Experimental Station**, 39:650-660, 1957. In: HORTICULTURAL ABSTRACTS, Bucks, **28**:400, abst. 15, Sept. 1958.

19. CAMERON, J.W. & FROST, M.B. Genetics, breeding, and nucellar embryony. In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D. & WEBBER, M.J. **The Citrus Industry**. Becckeley, University of California, 1968. v.2, cap.5, p.325-370.
20. _____ & SOOST, R.K. *Citrus*. In: **Outlincs of perenial crop breeding in the tropics**. Wageningen, H. Velnman and Zonem, 1969. p. 129-162.
21. CAMERON, W.J.; COLE JÚNIOR.; D. & NAVER, M.B. Fruit size in relation to seed number in the valencia orange and some other *Citrus* varieties. **Proceedings American Society Horticultural Science**, Riverside, 76: 170-180, Dec. 1960.
22. CAMPOS, J.S. **Cultura dos citros**. Campinas, CATI, 1976. (Boletim Técnico, 88).
23. CASTRO, L.A.B. de. & ANDREWS, C.H. Fatores influenciando o rendimento e a qualidade de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.). **Arquivo da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 1:19-28, 1971.
24. CHALFUN, N.N.J. **Correlação entre número de sementes, número de septose tamanho do fruto em tangerineira 'Satsuma' (*Citrus unshiu* Mar.) cv. Owari**. Viçosa, UFV, 1975. 32p. (Tese de Mestrado)
25. CHAPOT, H. The *Citrus* plant. In: HAFLIGER, E., ed. **Citrus**. Basiléia, Suíça, CIBA-GEIGY, 1975. p.6-13.
26. CHATUVERDI, H.C. & MITRA, G.C. Clonal propagation of *Citrus* from somatic callus cultures. **HortScience**, Virgínia, 9(2):118- 120, 1974.

27. CHITARRA, M.I.F. & CHITARRA, A.B. Armazenamento. In: _____. **Pós-colheita de frutos e hortaliças, fisiologia e manuseio**. Lavras, ESAL/FAEPE, 1990. p.143-198.
28. CHOUDHARI, B.K. & CHAKRAWAR, V.R. Note on the effect of some chemicals on the germination of Rangpur lime seeds. **Indian Journal Agricultural Sciences**, New Delhi, **51(3):201- 203**, Mar. 1981.
29. COGGINS JUNIOR, C.W. Plant growth regulation. In: BAILEY, J.B. & MORSE, J.G., ed. *Citrus treatment guide*. California, Division Agricole Agricultural and Natural Research, University of California, 1990. p.111-118.
30. CRÓCOMO, O.J.; SHARP, W.R. & MELO, M. eds. **Biotechnologia para produção vegetal**. Piracicaba, CEBTEC/FEALQ, 1991. 539 p.
31. DEIDDA, P. Floral biology of *Citrus*. II The effects of cross pollination on fruit morphology and quality. *STUDI sassar*, Sez. III. **16:22-40**, 1918. In: **HORTICULTURAL ABSTRACTS**, Farnham Royal, **40(2):571**, abst. 4769, 1970.
32. EDRIS, M.H. & BURGER, D.W. "In vitro" propagation of "Troyer citrange" from epicotyl segments. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, **23:159-162**, 1984.
33. EL-OTMANI, M.; AIT M' BARECK, A.; COGGINS JUNIOR, C.W. Ag3 and 2,4D prolong on-tree storage of *Citrus* in Marroco. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, **44:241-249**, 1990.



34. ESAN, E.B. **A detailed study of adventice embryogenesis in the Rutaceae.** Riverside, University of California, 1973. 233p. (Dissertacion).
35. ESTADOS UNIDOS. Forest service. **Wood-plant seed manual.** Washington, 1974. 883p.
36. FERRI, M.G. Coord. **Fisiologia vegetal.** São Paulo, EPU/USP, 1979. 392p.
37. FIGUEIREDO, J.O. de; POMPEU JÚNIOR, J.; RODRIGUEZ, O.; CAETANO; ROCHA, T.R. & IGUE, T. Competição de dez porta- enxertos para laranjeira-barão *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 6, Recife, 1981. **Anais...** Recife, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1981. v.2, p.501-516.
38. FRANKLAND, B. Effect of giberellic acid, kinetin and substances on seed dormancy. **Nature**, London, **196**:1008, 1961.
39. FROST, H.B. & SOOST, R.K. Seed reproduction: development of gamets and embryos. In: BATCHELOR, L.D. & WEBBER, H.J. **The Citrus Industry.** Berkeley, University of Califórnia Press, 1968. v.2, cap.4, p.290-323.
40. GIACOMETTI, D.C. Taxonomia e nomenclatura de citros. In: FUNDAÇÃO CARGILL. **Citricultura Brasileira.** Campinas, 1980. cap. 7, p.183-194.
41. GILADI, I.; ALTMAN, A.; GOREN, R. A method for aseptic culture of bud explants from *Citrus* trees. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, **10**: 357-362, 1979.

42. GLOBERSON, D. & VENTURA, J. Influence of gibberellins on promoting flowering and seed yield in bolting-resistant lettuce cultivars. **Israel Journal of Agricultural Research**, 23(2):75-7 1983. In: **HORTICULTURAL ABSTRACTS**, Bucks, 44(9):590, abst. 6614 Sept. 1973.
43. GONZALEZ, A.R. & MARX, D.B. Effect of gibberellic acid on yield and quality of fall-harvested and overwintered spinach. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount, 198(4):647-651, July 1983.
44. GRANT, T.J.; MOREIRA, S. & SALIBE, A.A. Citrus variety to tristeza virus in Brazil when used in various rootstocks and scion combinations. **Plant Disease Reporter**, Washington, 45(6):416-421, 1961.
45. GRATTAPAGLIA, D. & CALDAS, L.S. Micropropagação do porta-enxerto tangerina "Sunki". In: **SIMPOSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 2**, Brasília, 1987. **Resumos...** Brasília, Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas, 1987. n.p. (Resumo 20).
46. _____ & MACHADO, M.A. Micropropagação. In: **TORRES, A.C. & CALDAS, L.S, eds. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, ABCTP/EMBRAPA, 1990. p.99-169.
47. GREVE, A.; PRATES, H.S. & MÜLLER, G.W. Produção de borbulhas certificadas de citros no Estado de São Paulo. In: **RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J. & AMARO, A.A.; eds. Citricultura brasileira. 2 ed.** Campinas, Fundação Cargill, 1991. v.1, p.302-347.

48. GRIMBLAT, U. Differentiation of *Citrus* stem "in vitro". **Journal of to American Society for Horticultural Science**, Virgínia, 97 (5):559-603, 1972.
49. GULSEN, U.; ALTMAN, A.; GOREN, R. Growth and development of *Citrus* pistils and fruits explants "in vitro". **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, 53(3):295-300, 1981.
50. GURGEL, J.T.A. Poliembrionia e embriogenia adventicia em *Citrus*, *Mangifera* e *Eugenia*. **Dusenla**, Curitiba, 3(6):443-450, nov. 1952.
51. _____ & SOUBIHE SOBRINHO, J. Análise de poliembrionia em *Citrus*, maxime em toranjas. **Anals da Escola Superior de Agricultura "Lulz de Queiroz"**, Piracicaba, 8(155):727-746, 1951. (Separata, 155).
52. HEARN, C.J. Recongnition of zygotic seedlings in certain orange crosses by vegetative characters. **Proceeding International Society of Citriculture**, 2:611-614, 1977.
53. HEINICKE, A.I. Factors influencing the abscission of flowers and partially developed fruits of the apple. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Riverside, 95-103; 1916.
54. HORIUCHI, S.; YUDA, E. & NAKAGHWA, S. "In vitro" culture of young embryo in polyembrionic *Citrus*. **Journal of Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, 45(3):253-260, 1976.

55. HODGSON, W.R. & FROST, B.H. Pollination and fecundation. In: WEBBER, H.J. & BATCHELOR, L.D. **The Citrus Industry**. California, University of California Press, 1968. v.2 p.297-318.
56. JUSTICE, O.L. Essentials of seed testing. **Seed Biology**. New York Academic Press, 1972. v.3, p.301-370.
57. KHALIFAH, R.A. Gibberelin-like substances from the developing in banana fruit. **Plant Physiology**, Washington, **41**:771- 773, 1966.
58. KHAN, A.A. Cytokinins: permissive role in seed germination. **Science**, Washington, **171**(3974):853-859, Mar, 1971.
59. KITTO, S.L. & YOUNG, M.J. "In vitro" propagation of "Carrizo Citrange". **HortScience**, Virginia, **16** (3):305-306, 1981.
60. KÖEPPEN, W. "Roteiro para classificação climática". s.d., s.ed., 1970. 6p. (não publicado, mimeografado).
61. KORDAN, H.A. Proliferation of excised juice vesicles of lemon "in vitro". **Science**, Washington, **129**:779-780, 1959.
62. KREZDORN, A.H. The influence of seeds and pollen source on the size of fruits. **Proceedings of the Florida State Horticultural**. Deland, **80**:37-43, 1967/68.


63. KRUZILIN, A.S. & SUEDSKAJA, Z.N. Phasic development and seed productivity in vegetable crops. **Kestnik selskokhozyarstvennoi Nauki**. 8(6):18-29, 1963. In: HORTICULTURAL ABSTRACTS, Bucks 34:2656, abst., 1964.
64. LANG, A. Gibberellin-like substances in photoinduced and vegetative **Hyoscyamus** plants. **Planta**, New York, 54:498- 504, 1960.
65. LANGE, J.H. & VICENT, A.P. A technique for studying the effect of seed content on fruit growth. **Agroplantae**, Nelspruit, 4(1): 15-18, 1972.
66. LOPER, G.M. & WALLER, G.D. GA₃-increased bolting and seed production in late-planted onions. **HortScience**, Virginia, 17 (6):922-923, Dec. 1982.
67. MAHESWARI, P. & RANGA SWAMY, N.S. Polyembryony and "in vitro" culture of *Citrus* and *Mangifera*. **The Indian Journal of Horticulture**, Bangalore, 15:275-286, 1958.
68. MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M. & SILVA, W.R. da. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba, FEALQ, 1987. 230p.
69. MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A. Germination stimulators and inhibitors: their effects and their possible regulatory role. In: _____. **The Germination of Seeds**. 4 ed. Toronto. Pergamon Press. 1989. cap. 6, p. 174-178.
70. METIVIER, J.R. Giberelinas. In: GUIMARÃES FERRI, M. (Coord.). **Fisiologia vegetal**. São Paulo, EPU/USP, 1979. v.2, p.129-161.

71. MIAN, A.L. & HOQUE, M.Z. Germination periods and germinabilities of agricultural seeds. **Scientific Researchs**, 7(4):131-139, 1970.
72. MICHENIEWINCZ, M. & LANG, A. Effect in mine different gibberellins on stem elongation and flower formation in cold requiring and photoperiodic plant grow under non-indutive conditions. **Planta**, New York, 58:549-563, 1962.
73. MIRANDA NETO, A.T. de. & CHAVES, J.R. Efeito da aplicação do ácidos giberélico e paracloro-fenoxiacético em tomateiro. **Revista Ceres**, Viçosa, 16(89):178-191, 1969.
74. MOFFET, J. & RODNEY, R. Fairchild tangerines need bees and pollinator trees.  **Citrograph**, Los Angeles, 56(112):407-408, Oct. 1971.
75. MONTENEGRO, W.S.; MOREIRA, S.; GOMES, F.P. & CINTRA, B. Influência do porta-enxerto no número de sementes da laranja. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"**, Piracicaba, 16(249):79-85, 1959.
76. MOORE, J.N.; REYNOLDS, B.D. & BROWN, G.R. Effects of seed number, size and development on fruit size of cultivated Blueberries. **Hortscience**, Fayetteville, 7(3):268-269, June 1972.
77. MOREIRA, C.S. & PIO, R.M. Melhoramento de citros. In: RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J. & AMARO, A.A.; eds. **Citricultura brasileira**. 2.ed. Campinas, Fundação Cargill, 1991. v.2, p.116-152. 

78. MOREIRA, M.A. Efeitos do benomyl na multiplicação "in vitro" e da incubação em IBA no enraizamento do porta-enxerto *Citrus sunki* Hort. ex Tan. Lavras, ESAL, 1993. 62p. (no prelo).
79. MOREIRA, S.; GURGEL, J.T.A. & ARRUDA, L.F. Poliembrião em *Citrus*. *Bragantia*, Campinas, 7(3):69-106, mar. 1947.
80. MOREIRA, S.; OLIVEIRA, V.G. & ABRAMIDES, E. Experimentos de cavalos para citros. III. *Bragantia*. Campinas, 19(20):961-995. 1960.
81. MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. *Annual Review of Plant Physiology*. Palo Alto, 25:135-166, Art. 7565, 1974.
82. _____ & SKOOG, F. A revised medium for growth and bioassays tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 15(3):473-497, 1962.
83. _____ & TUCKER, D.L.M. Growth factor requirements of *Citrus* tissue culture. In: CHAPMAN, H.D., ed. *Proceedings First International Citrus Symposium* Riverside, 1969. v.3, p.1155-1161, 1969.
84. MURNEEK, E.A. & SCHOWENGERDT, C.G. A study of the relation of size of apples to number of seed and weight of spur leaves. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, Riverside, 33:4-6, 1935.
85. NEVES, E.M.; ZEN, S. & NEVES, M.F. Perspectivas econômicas da citricultura brasileira. In: MENTEN, J.Q.M., ed. *Curso Intensivo de citricultura*. Piracicaba, A.E.C. Ceres/ESALQ, 1991. p.1-19.

86. NILO GONZALEZ, M.G. **Influência do substrato sobre a germinação taxa de expressão da poliembrionia em sementes de *Citrus* spp.** ESALQ, Piracicaba, 1978. 69p. (Tese de Mestrado).
87. OGATA, T. Poliembrionia, efeitos do nitrato de potássio e permanência de sementes no germinador, na separação dos embriões de citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 6, Recife, 1981. **Anais...** Recife, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1981. v.2, p.693-6701.
88. OHTA, Y. & FURUSATO. Embryoculture in *Citrus*. **Republic Kihara Institute Biology Research**, Yokohama, **8:49-54**, 1957.
89. PASQUAL, M. **Regeneração de plantas "in vitro" e radios- sensibilidade de tecidos nucelares de citros.** Piracicaba, ESALQ, 1985. 107p. (Tese de Doutorado).
90. _____; ANDO; A. & CRÓCOMO, O.J. Desenvolvimento de embriões nucelares de *Citrus sinensis* Osbeck cv. Valência, "in vitro". In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9, Campinas, 1987. **Anais...** Campinas, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1987. v.1, p.305-309.
91. _____; BARROS, I. de & RAMOS, J.D. Ação da benzilaminopurina e giberelina na propagação "in vitro" de *Coffea arabica* L. cv. Catuai. **Ciência e Prática**, Lavras, **16(3):308-314**, jul./set. 1992.

92. PARLEVLIT, J.E.; CAMERON, J.W. Evidence on the inheritance of nucellar embryony in *Citrus*. **Proceeding of the American of Society for Horticultural Science**, Virginia, **74**:252- 260, 1959.
93. PASSOS, O.S. **Melhoramento de citros na California (E.U.A.) e sugestões para a citricultura brasileira**. Cruz das Almas, EMBRAPA-CNPMF, 1980. 9p. (EMBRAPA-CNPMF, Miscelânea, 2).
94. PAULSON, A.T.; VANDERSTOE, P.J. & PORRITT, S.W. Enzymatic browning of peaches: effect of gibberelic acid and ethephon on phenolic compounds and polyphenoloxidase activity. **Journal Food Science**, Illinois, **45**:341-345, 1980.
95. PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 11a. ed. São Paulo. Nobel, 1985. 466p.
96. PINTO, A.C. de Q. **Influência do ácido giberélico e do permanganato de potássio e da embalagem de polietileno na conservação e qualidade da banana "prata"**. Lavras, ESAL, 1978. 80p. (Tese de Mestrado).
97. POMPEU JÚNIOR, J. Copas e porta-enxertos. In: SIMPÓSIO DE CITRICULTURA, 3, Jaboticabal, 1988. **Anais...** Jaboticabal, FCAV- FUNEP, 1988. p.155-161.
98. _____. Porta-enxertos. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J. & AMARO, A.A. eds. **Citricultura brasileira**. 2 ed. Campinas, Fundação Cargill, 1991. v.1, p.265- 280.

99. POMPEU JÚNIOR, J. Situação do uso de porta-enxertos no Brasil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS PORTA-ENXERTOS, 1, Bebedouro, 1990.  Anals... Jaboticabal, FUNEP, 1990. p.1-10.
100. _____; FIGUEIREDO, J.O.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; JORGE, J. de P.N. & SALIBE, A.A. Porta-enxertos para laranjeira Hamlin. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4, Salvador, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1978. v.2., p.105-110.
101. POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília, AGIPLAN/BID, 1977. 288p.
102. _____. Formação da semente. In: _____. **Fisiologia da semente**. Brasília, ABEAS, 1985. cap. 6, p.1-17.
103. PORTO, O.M. & MOREIRA, C.S. Influência de métodos de semeadura na germinação e expressão do potencial poliembriônico de sementes de limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4, Salvador, 1977. Anals... Cruz das Almas, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1978. p.87-91.
104. PRATES, H.S. & POMPEU JUNIOR, J. Determinação preliminar de poliembrionia e número médio de embriões em sementes de *Citrus* e afins, do banco ativo de germoplasma do Instituto Agrônomo de Campinas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 6, Recife, 1981. Anals... Recife, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1981. v.2, p.563-568.

105. RAMOS, J.D. Taxa de pollembria e identificação do embrião sexual "in vitro" dos porta-enxertos *Citrus limonia* Osbeck cv. cravo e *Poncirus trifoliata* (L.) RAF. Lavras, ESAL, 1990. 73p. (Tese de Mestrado).
106. RANGAN, T.S.; MURASHIGE, T. & BITTERS, W.P. "In vitro" studies of zygotic and nucellar embryogenesis in *Citrus*. In: CHAPMAN, H.D., **Proceedings First International Citrus Symposium**, Riverside, 1969. p.1225-1229.
107. RANGA SWAMY, N.S. Experimental studies on female reproductive structures of *Citrus microcarpa* Bunge. **Phytomorphology**, Delli, **11** : 109-127, July 1961.
108. _____. Culture of nucelar tissue of *Citrus* "in vitro". **Experientia**, New York, **14**(3): 111-112, 1958.
109. _____. Morphogenetic response of *Citrus* ovules to grower and juvenants in culture. **Nature**, London, **183** (14): 735-736, Mar. 1959.
110. REIS, G.M. & WETZEL, C.T. Germinação e conservação de amendoim bravo - *Pterogine nitens* Tul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 2, Recife, 1981.
111. SALIBE, A.A. Importância do porta-enxerto na citricultura. In: ENCONTRO NACIONAL DE CITRICULTURA, 5, Rio de Janeiro, 1978. **Quinto...Rio de Janeiro**, PESAGRO/SBF, 1978. 14p.

112. SALIBE, A.A. & CEREDA, E. Poliembrionia em variedades de citros In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 22, SALVADOR, 1970. **Anais...** Salvador, Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 1970. p.208.

113. _____ & MISCHAN, M.M. Efeito do porta-enxerto e da localidade nas características de cinco variedades de laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4, Salvador, **Anais...** Salvador, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1978. p.93-104.

114. _____; _____ & TUBELIS, A. Resultados de dez experimentos de porta-enxertos para laranja doce em Botucatu, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9, Campinas, 1988. **Anais...** Campinas, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1988. v.1, p.435-440.

115. SALISBURY, F.B. & ROSS, L.W. **Plant Physiology**. Belmont, WPC, 1978. 422p.

116. SANTOS, A.V.P. Embriogênese somática "in vitro". **Notícias da Associação Brasileira de Cultura de Tecido de Planta**, Brasília, 5: 2-4, abr. 1987.

117. SANTOS, M. da F.M.; ABRAHÃO, E.; SOUZA, M. de. & OGATA, T. Efeito da despeletização na germinação e expressão poliembriônica de sementes de *Citrus limonia* Osbeck cv. cravo e *Citrus reshni* Hort. ex. Tan. cv. Cleópatra. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 2(1):50-54, Abr.1980.

118. SCHAWAB, B. & NEWMANN, K.H. Der einfluss von gibberellin saurespritzungen auf das bluhveshalten von karoten. **Zeitschrift fuer Pflanzenernaehrung und bodenkunde bod**, 1:13-8, 1975. In: HORTICULTURAL ABSTRACTS, Bucks, 45:856, abst. 9741, Dec. 1975.
119. SCHROEDER, C.A. & SPECTOR, C. Effect of gibberellic acid and indolacetic acid on growth of excised fruit tissue. **Science**, Washington, 126:710-722, 1957.
120. SKENE, K.G.M. Cytokinin-like properties of the systemic fungicide benomyl. **Journal of Horticultural Science**, London, 47:179-182, 1972.
121. SOARES FILHO, W.S. **Genes principais em *Citrus* e gêneros afins**. Piracicaba, ESALQ, 1982. 38p.
122. SOOST, T.P.K. & CAMERON, J.W. *Citrus*. In: JANICK, J. & MOORE, J.N. **Advances in Fruit Breeding**. West Lafayette, Indiana Purdue University Press, 1975, p.507-450.
123. SOUBIHE SOBRINHO, J. & GURGEL, J.T.A. Poliembrionia e embrionia adventicia, em *Citrus*, *Mangifera* e *Myrtaceae* frutíferas. **Dusenya**, Curitiba, 4(5,6):421-428, nov. 1953.
124. STEEL, R.G. & TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics**. New York, McGraw-Hill Book Company, 1960. 471p.

125. STEIN, W.I. et alii. Harvesting processing, and storage of fruits and seeds. In: ESTADOS UNIDOS. Forest Service. **Seeds of woody plant in the United States**. Washington, 1974. p.98-125. (Agriculture Handbook, 450).
126. STREET, H.E. & OPIK, H. **Fisiologia das angiospermas- crescimento e desenvolvimento**. São Paulo, EDUSP, 1974. 332p.
127. TEARE, I.D.; LAW, A.G. & WILSON, V.E. Response of *Pisum sativum* L. to gibberellic acid seed treatment. **Agronomy Journal**, 62(1):291-293, Jan./Feb. 1970.
128. TEIXEIRA, S.L. Factors affecting rhizogenesis in stem cuttings. Riverside, University of Riverside, California, 1981. 222p. (Tese de Doutorado).
129. _____ & LANI, E.R.G. "In vitro" regeneration of *Citrus sinensis* cv. Pêra. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT TISSUE AND CELL CULTURE, 6, Minneapolis, Minnesota, 1986. **Proceedings...** Minneapolis, Minnesota, 1986. p.146.
130. TEÓFILO SOBRINHO, J. Variedades copas e porta-enxertos para os citros. In: MENTEN, J.O.M., ed. **Curso intensivo de citricultura**. Piracicaba, ESALQ, CERES, 1991b. p.25-36.
131. _____. Propagação dos citros. In: RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J. & AMARO, A.A., eds. **Citricultura brasileira**. 2 ed. Campinas, Fundação Cargill, 1991a. v.1, p.81-301.

132. TEÓFILO SOBRINHO, J.; SIMÃO, S.; BARBIN, D. & POMPEU JÚNIOR, J. Produtividade por metro cúbico e vigor da laranjeira-valência sobre diferentes porta-enxertos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. **Anais...** Viçosa, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1973. v.1, p.331-341.
133. THOMAS, T.H. Growth regulatory effect of three benzimidazole fungicides on the germination of celery (*Apium graveoleus*) seeds. **Annual Applied Biology**, **74**:233-238, 1973.
134. TOLEDO, F.F. & MARCOS FILHO, J. **Manual de sementes: tecnologia da produção**. São Paulo, Ceres, 1977. 233p.
135. TOUMEY, J.W. & KORSTIAN, C.F. **Siembra e plantacion en la practica forestal**. Buenos Aires, 1954. 480p.
136. YANG, H.T. Effect of benomyl on *Asparagus officinalis* L. shoot and root development in culture media. **Hortscience**, Virginia, **11** (5):473-474, 1976.
137. WATKINS, J.I.; CANTLIFFE, D.J. & SACHS, M. Temperature and gibberellin-induced respiration changes in *Capsicum annum* during germination at varying oxygen concentration. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, College Park, **108**(30):356-359, May 1983.
138. WEBB, R.A. The relationship of seed number to berry weight in black currant fruit. **Journal of Horticultural Science**, Bristol, **46**(2):147-152, 1971.

139. WONG, C.Y. The influence of pollination on seed development in certain varieties of *Citrus*. **Proceedings American Society Horticultural Science**, Riverside, 37:161-164, 1940.
140. ZAPPIA, E.S. **Como determinar a qualidade das sementes**. Curitiba, TECPAR, 1979. 82p.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 - Dados climáticos mensais da Estação Meteorológica da ESAL, Lavras - MG, no período de abril de 1992 à abril de 1993. ESAL, Lavras - MG, 1994.

Localidade: Lavras

Estado: MG.

Latitude: 21°14'06"S

Longitude: 45°00'00"W

Período: abril/92-Abril/93.

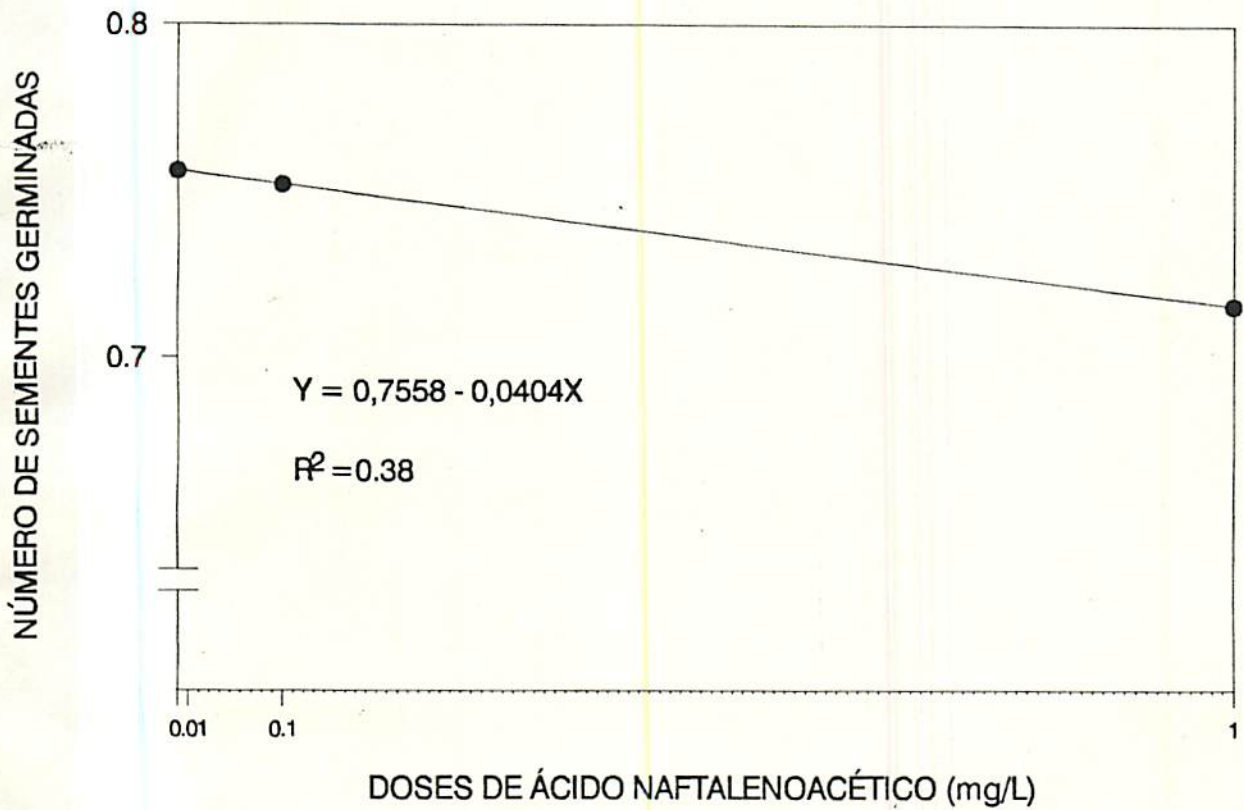
Altitude: 900 metros

Mês	Temperatura Máxima/dia (°C)	Temperatura Mínima/dia (°C)	Temperatura Média/dia (°C)	Precipitação Mensal (mm)	Umidade Relativa (%/dia)	Insolação Horas/dia
ABR/92	26.6	16.8	20.9	111.0	81.8	5.0
MAI/92	25.9	15.3	19.5	93.9	81.4	5.5
JUN/92	24.8	12.4	17.4	3.5	75.2	6.6
JUL/92	23.6	12.0	16.7	14.1	73.8	6.4
AGO/92	25.3	12.7	17.9	25.4	72.2	5.7
SET/92	23.9	14.6	18.6	157.9	76.0	4.4
OUT/92	26.8	16.6	20.7	162.0	77.6	4.2
NOV/92	26.7	17.3	21.1	230.0	77.9	4.9
DEZ/92	28.2	17.4	21.5	131,6	75,1	6.0
JAN/93	28.7	17.9	22.4	194.2	7.8	5.0
FEV/93	27.1	18.0	21.6	274.9	84.3	4.0
MAR/93	29.7	17.7	22.4	134.2	77.4	6.3
ABR/93	27.5	17.1	21.2	62.7	78.8	6.8

APÊNDICE 2 - Valores da correlação do diâmetro longitudinal do fruto com número total de sementes, número de sementes viáveis, número de sementes inviáveis, obtidas de 1200 frutos amostrados da planta número tr^{as} de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras - MG, 1993.

Diâmetro Longitudinal do Fruto (DLF)	Número total de Sementes (NTS)	Número de Sementes Viáveis (NSV)	Número de Sementes Inviáveis (NSI)
r	0,2976000 NS	0,3108000 NS	-0,00565000 NS
r ²	0,0885657	0,0965966	0,00003192

NS - Não significativo.



APÊNDICE 3 - Representação do número de sementes germinadas de tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.) nas diferentes dosagens de ácido naftalenoacético, através da regressão linear. ESAL, Lavras - MG, 1993.

APÊNDICE 4 - Quadrados médios das análises de variância obtidos das avaliações de número de plantas por semente germinada do porta-enxerto tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). ESAL, Lavras - MG, 1993.

Causa de Variação	G.L.	7ª Avaliação QM
Tempo (T)	3	0,6121 NS
GA ₃ (G)	3	0,2221 NS
Tempo x GA ₃ (T) x (G)	9	0,1522 NS
CV (%)	--	8,2350

NS - Não significativo.