

ROGER TADEU MORAIS PENIDO

**OBTENÇÃO SINCRONIZADA DE PORTA-ENXERTOS E ÁPICES
CAULINARES PARA MICROENXERTIA “IN VITRO” EM CITROS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Dr. Maurício de Souza

LAVRAS - MINAS GERAIS

1995

**Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e
Catalogação da Biblioteca Central da UFLA**

Penido, Roger Tadeu Morais

Obtenção sincronizada de porta-enxertos e ápices caulinares para
microenxertia "in vitro" em citros / Roger Tadeu Morais Penido. -- Lavras, :
UFLA, 1995.

61 p. : il.

Orientador: Maurício de Souza

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Citros - Porta-enxerto. 2. Ápice caulinar. 3. Microenxertia. I. Universi-
dade Federal de Lavras. II. Título.


CDD-634.30441

ROGER TADEU MORAIS PENIDO

**OBTENÇÃO SINCRONIZADA DE PORTA-ENXERTOS E ÁPICES CAULINARES
PARA MICROENXERTIA "IN VITRO" EM CITROS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA EM 31 de agosto de 1995


Pesq. Dr. Sérgio Alves de Carvalho


Pesq. MSc. João L.P. Menegucci


Prof. Dr. Maurício de Souza

(Orientador)

A meu pai Dário e irmão Evandro (“in memoriam”).

A minha mãe Marli,

pela vida, incentivo e pelos esforços dedicados

à minha educação.

Aos meus irmãos Adriano e Rildo,

como homenagem.

OFEREÇO

A minha esposa Silvana,
pelo amor, incentivo, compreensão
e pela nossa filha Ana Luiza

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo ...

A Universidade Federal de Lavras - UFLA, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

A Coordenadoria de Pós-Graduação do Departamento de Agricultura na pessoa do professor Messias José Bastos de Andrade pelo apoio aos pós-graduandos deste departamento.

Ao Dr. Maurício de Souza, pela amizade, orientação, apoio, estímulo e confiança demonstrada.

A professora Denise Garcia Santana, pela amizade, incentivo e pela orientação estatística.

Ao professor Dr. Renato Paiva pela amizade e valiosas informações.

Aos professores do curso de Pós-Graduação, pelo estímulo e cursos ministrados

Aos colegas do curso de Pós-Graduação, em especial Fábio Lúcio Pedroso, Américo Iório Ciociola Jr., Luciano Vilela Paiva, Alexandre Moraes do Amaral, João Luiz Palma Menegucci, Maria Geralda Vilela Rodrigues, Sônia Vicentini, Marcelo Vichiato, pelo companheirismo, convívio e amizade.

Aos laboratoristas Evaldo de Souza Arantes e Vantuil Antônio Rodrigues, pelo convívio, apoio e amizade.

As secretárias Nelzi Aparecida Silva, Silvia Aparecida Resende e Viviane Naves de Azevedo Resende pela amizade e convívio.

Aos funcionários do pomar nas pessoas dos senhores Ival de Souza Arantes, José Ribeiro Sobrinho e Guiomar Pinto Ribeiro pela dedicada ajuda na condução do experimento e amizade.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

ROGER TADEU MORAIS PENIDO, filho de Dário Penido e Marli Moraes Penido, nasceu em Lavras, Estado de Minas Gerais, em 26 de setembro de 1968.

Em 1988 ingressou na Escola Superior de Agricultura de Lavras, Estado de Minas Gerais, graduando-se em Engenharia Agrônômica em janeiro de 1993.

Em março de 1993 iniciou o curso de Pós-Graduação em Agronomia a nível de Mestrado, área de concentração Fitotecnia, na Escola Superior de Agricultura de Lavras, Estado de Minas Gerais.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xiv
SUMMARY	xvi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Cultivares de porta-enxertos e de ápices caulinares usados na microenxertia	4
2.2 Período desde a sementeira ao ponto de microenxertia	5
2.3 Período para obtenção dos ápices caulinares no ponto de microenxertia	6
2.4 Fatores que interferem na obtenção do micro porta-enxerto para atingir o ponto de microenxertia.....	6
2.5 Fatores que interferem na obtenção do ápice caulinar para atingir o ponto de microenxertia	10
3 HIPÓTESES	13
4 MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1 Parte I - Efeito do tegumento e meio de cultura no crescimento do epicótilo de diferentes porta-enxertos	14
4.1.1 Plantas	14

4.1.2 Meio de cultura	15
4.1.3 Delineamento experimental e tratamentos	16
4.1.4 Instalação e condução	16
4.1.5 Avaliações	17
4.1.6 Análises estatísticas	17
4.2 Parte II - Efeito do ambiente e da época do ano na indução de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' e 'Valência'	18
4.2.1 Experimento 1 - Obtenção de ápices caulinares da laranjeira 'Pera Rio' no campo em 1991	18
4.2.1.1 Plantas e solo do pomar	18
4.2.1.2 Delineamento experimental	19
4.2.1.3 Instalação e condução	19
4.2.1.4 Avaliações	20
4.2.1.5 Análises estatísticas	20
4.2.2 Experimento 2 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' na casa de vegetação em 1991	20
4.2.2.1 Plantas, recipientes e substrato	20
4.2.2.2 Delineamento experimental	21
4.2.2.3 Instalação e condução	21
4.2.2.4 Avaliações	22
4.2.2.5 Análises estatísticas	22
4.2.3 Experimento 3 - Obtenção dos ápices caulinares da laranjeira 'Valência' no campo em 1992	23

4.2.3.1 Plantas e solo do pomar	23
4.2.3.2 Delineamento experimental	23
4.2.3.3 Instalação e condução	24
4.2.3.4 Avaliações	24
4.2.3.5 Análises estatísticas	24
4.2.4 Experimento 4 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Valência' na casa de vegetação em 1992	25
4.2.4.1 Plantas, recipientes e substrato	25
4.2.4.2 Delineamento experimental	25
4.2.4.3 Instalação e condução	25
4.2.4.4 Avaliações	26
4.2.4.5 Análises estatísticas	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 Parte I - Efeito do tegumento e do meio de cultura no crescimento do epicótilo de diferentes porta-enxertos.....	27
5.1.1 Experimento 1 - 1991	27
5.1.2 Experimento 2 - 1992	31
5.1.3 Experimento 3 - 1993	33
5.2 Parte II - Efeito do ambiente e da época do ano na indução de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' e 'Valência'.....	38
5.2.1 Experimento 1 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' no campo em 1991	40

5.2.2 Experimento 2 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' na casa de vegetação em 1991.....	44
5.2.3 Experimento 3 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Valência' no campo em 1992	46
5.2.4 Experimento 4 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Valência' na casa de vegetação em 1992	50
6 CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
APÊNDICE	58

LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	Composição do meio de cultura de Murashige e Skoog , 1962	15
2	Resultados da análise de amostras do solo de 0-20 cm de profundidade, coletadas na projeção da copa, das laranjeiras 'Pera Rio'. UFLA, Lavras-MG, 1991	18
3	Número médio de dias necessários, para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia "in vitro". UFLA, Lavras-MG, 1991	28
4	Número médio de dias necessários, para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia "in vitro". UFLA, Lavras-MG, 1991	30
5	Número médio de dias necessários, para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia "in vitro". UFLA, Lavras-MG, 1992	32

Quadro	Página
6	Número médio de dias necessários, para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG, 1992 33
7	Número médio de dias necessários, para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG, 1993 34
8	Número médio de dias necessários, para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG, 1993 36
9	Número médio de dias necessários, para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes sem os tegumentos, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia “in vitro” durante o período de 1991 a 1993... 37
10	Dados de alguns fatores climáticos durante a condução do experimento. UFLA, Lavras-MG, 1995 39
11	Número médio de dias necessários, para obtenção de ápices caulinares de laranjeira ‘Pera Rio’, com 2 cm de comprimento, após as desfolhas no campo. UFLA, Lavras-MG, 1991 40

Quadro	Página
12 Número médio de dias necessários, para obtenção de ápices caulinares de laranja 'Pera Rio', com 2 cm de comprimento, após as desfolhas na casa de vegetação. UFLA, Lavras-MG, 1991	45
13 Tempo médio em dias, para obtenção de ápices caulinares de laranja 'Pera Rio', com 2 cm de comprimento, após as desfolhas em dois diferentes locais, durante o período de janeiro a dezembro. UFLA, Lavras-MG, 1991.....	46
14 Número médio de dias necessários, para obtenção de ápices caulinares de laranja 'Valência', com 2 cm de comprimento, após as desfolhas no campo. UFLA, Lavras-MG, 1992	47
15 Número médio de dias necessários, para obtenção de ápices caulinares de laranja 'Valência', com 2 cm de comprimento, após as desfolhas na casa de vegetação. UFLA, Lavras-MG, 1992	50
16 Tempo médio em dias, para obtenção de ápices caulinares de laranja 'Valência', com 2 cm de comprimento, após as desfolhas em dois diferentes locais, durante o período de maio a dezembro. UFLA, Lavras-MG, 1992.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Número de dias necessários, para obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' e condições climáticas observadas no período avaliado. UFLA, Lavras-MG, 1991.....	43
2	Número de dias necessários, para obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Valência' e condições climáticas observadas no período avaliado. UFLA, Lavras-MG, 1992.....	49

RESUMO

PENIDO, Roger Tadeu Morais. **Obtenção sincronizada de porta-enxertos e ápices caulinares para microenxertia “in vitro” em citros.** Lavras: UFLA, 1995. 61 p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)*

O presente trabalho, realizado em duas partes, teve por objetivo avaliar alguns fatores que interferem na obtenção sincronizada de porta-enxertos e ápices caulinares para microenxertia em citros. Foi realizado no laboratório de cultura de tecidos, na casa de vegetação e no pomar da Universidade Federal de Lavras, Lavras, Estado de Minas Gerais. A primeira parte, referente à obtenção de porta-enxertos “in vitro”, durante o período de 1991 a 1993, foi empregado o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 x 2 (quatro cultivares de porta-enxertos, dois meios de cultura e sementes com e sem tegumentos), com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por 12 tubos de ensaio com uma semente por tubo. As avaliações, realizadas a partir da segunda semana após a inoculação, nos três anos, evidenciaram um desenvolvimento mais rápido dos porta-enxertos, oriundos de sementes sem tegumentos, independentemente do meio utilizado. Os melhores tratamentos permitiram a obtenção dos porta-enxertos no ponto de microenxertia com 21, 24, 27 e 28 dias em média, respectivamente para os limoeiros ‘Cravo’, ‘Rugoso Nacional’,

* Orientador: Maurício de Souza . Membros da Banca: Sérgio Alves de Carvalho e João Luiz Palma Menegucci.

'Trifoliata' e para a tangerineira 'Cleopatra'. A segunda parte, referente à indução de novos ápices caulinares via desfolha de ramos das laranjeiras 'Pera Rio' e 'Valência', foi realizada em dois locais (campo e casa de vegetação). Para 'Pera Rio', foi empregado o delineamento experimental inteiramente casualizado com 12 tratamentos correspondente aos meses do ano (janeiro a dezembro de 1991), com seis repetições. No campo, cada parcela, foi constituída por um ramo terminal de quatro a sete meses de idade sem frutos. Na casa de vegetação, cada parcela, foi constituída por duas mudas com três pernadas. No caso da 'Valência' a metodologia empregada, foi semelhante à utilizada para 'Pera Rio', diferindo apenas no número de mudas usadas na casa de vegetação e no número de tratamentos que foi oito, já que para esta cultivar as desfolhas iniciaram em maio de 1992. As avaliações, realizadas a partir da segunda semana após as desfolhas dos ramos das duas cultivares nos dois locais, evidenciaram que para todos os meses, a obtenção de ápices caulinares se deu mais rapidamente na casa de vegetação. Os melhores tratamentos na casa de vegetação, permitiram obter em média, ápices caulinares no ponto de microenxertia em 12 dias após a desfolha no mês de setembro para 'Pera Rio' e em 19 dias após a desfolha nos meses de junho, outubro e novembro para 'Valência'. Para o melhor tratamento da 'Pera Rio' na casa de vegetação, a desfolha feita 9 e 12 dias após a semeadura "in vitro" dos limoeiros 'Cravo' e 'Rugoso Nacional', respectivamente e 15 dias após para o limão 'Trifoliata' e tangerineira 'Cleópatra', permite a sincronização para a microenxertia. No caso da laranjeira 'Valência' a sincronização das partes microenxertadas é obtida, fazendo a desfolha dois e cinco dias após a semeadura dos porta-enxertos 'Cravo' e 'Rugoso Nacional', respectivamente e oito dias após a semeadura do limão 'Trifoliata' e da tangerineira 'Cleópatra'.

SUMMARY

ROOTSTOCKS AND SHOOT APEX SYNCHRONIZED FORMATION FOR “IN VITRO” CITRUS MICROGRAFTING

The present work accomplished in two parts, aimed to assess some factors influencing the synchronized formation of rootstocks and shoot apex for citrus micrografting. The work was conducted at the laboratory of tissue culture, in the greenhouse and orchard of the Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais State. The first part, concerning the formation “in vitro” rootstocks, over the period of 1991 and 1993, a completely randomized experimental design in factorial scheme $4 \times 2 \times 2$ (four varieties of rootstocks, two culture media and seeds with and without teguments), with four replications. Each plot, was made of 12 test tubes with a seed per tube. The estimates, observed from the second week following the inoculation, over three years, showed a faster seedling development, grown from seeds without teguments, regardless the media used. The best treatments allowed to obtain rootstocks at the micrografting stage with 21, 24, 27 and 28 days in average, respectively to rangpur lime rough lemon, trifoliolate orange and cleopatra mandarin. The second part, concerning the formation of shoot apex induced through branch defoliate of the orange trees ‘Pera Rio’ and ‘Valencia’, was carried out in two sites (field and greenhouse). For ‘Pera Rio’, a

randomized experimental design with 12 treatments corresponding to the months of the year (January through December of 1991), with six replications was used. In the field, each plot was made of a terminal branch with four to seven months of age and no fruits. In the greenhouse, each plot was made of two cuttings containing three branches each. In the case of 'Valencia', the employed, methodology was similar to that for 'Pera Rio', except in the number of cuttings used in the greenhouse and the number of treatments which was eight, since that for this cultivar the defoliation started in May of 1992. The evaluations performed from the second week after the branch defoliation of the two cultivars on both sites, showed that for all month, the formation of shoot apex was faster in the greenhouse. The best treatments in the greenhouse allowed to obtain in average 'Pera Rio' shoot apex at the micrografting stage with 12 days after September defoliation and for 'Valencia, with 19 days after defoliation in June, October and November. Micrografting synchronization is obtained when the best 'Pera Rio' treatment in the greenhouse is used in combination with defoliation at 9 and 12 days after "in vitro" semination of rangpur lime and rough lemon, respectively or in combination with defoliation at 15 days after for trifoliolate orange and cleopatra mandarin. In the case of 'Valencia', micrografting synchronization is obtained with defoliation at two and five days after the semination of rangpur lime and rough lemon rootstocks respectively, and at eight days after for trifoliolate orange and cleopatra mandarin.

1 INTRODUÇÃO

As espécies cítricas ocupam lugar de destaque na produção agrícola de vários países, principalmente no Brasil que é atualmente o maior produtor mundial de frutos cítricos e também o maior exportador de suco concentrado congelado, gerando divisas superiores a um bilhão de dólares anuais.

A cultura dos citros entretanto, está sujeita a doenças causadas por vírus, viróides e similares, que além de reduzirem significativamente a produção e longevidade das plantas afetadas (Navarro, Roistacher e Murashige, 1975; Baptista et al., 1991), uma vez instaladas na cultura não há meios de controlá-las (Fischer, 1993).

Por esse motivo, há muitos anos existe uma grande preocupação no desenvolvimento de técnicas que permitam obter plantas cítricas livres dessas doenças “in vivo” e “in vitro” (Baptista et al., 1991).

Entre as técnicas utilizadas na obtenção de plantas cítricas isentas de viroses, a microenxertia tem-se destacado. Ela é mais eficiente que a termoterapia na eliminação dos viróides da exocorte e xiloporose (Calavan, Roistacher e Nauer, 1972; Navarro, 1981) e não apresenta as desvantagens da juvenildade e alternância de produção, características de plantas obtidas através de clones nucelares (Murashige et al., 1972; Navarro, Ortiz e Juarez, 1985; Baptista et al., 1991 e Navarro, 1993). E também é possível através da microenxertia, produzir

plantas isentas de viroses em cultivares monoembriônicas ou sem sementes, o que não seria possível com os clones nucelares (Rossetti, 1980; Silva, 1983 e Baptista et al., 1991).

A técnica da microenxertia surgiu em razão da impossibilidade de obter uma planta cítrica a partir de um meristema cultivado em condições especiais (Rossetti, 1980). Porém mesmo que fosse possível o desenvolvimento “in vitro” de meristemas de citros, a técnica da microenxertia não seria superada em razão da sua eficiência e rapidez na obtenção de plantas isentas de viroses.

A microenxertia consiste em enxertar uma porção terminal do ápice caulinar (meristema), da cultivar que se deseja livrar de viroses, em um micro porta-enxerto obtido a partir de sementes germinadas “in vitro”, na ausência de luz (Murashige et al., 1972). Ela baseia-se no fato de que a maioria dos vírus não se transmite pela semente e que o meristema não tem vírus, pois esta estrutura é avascularizada e os vírus se proliferam e movimentam nas plantas pelos vasos.

Um dos pontos críticos para o sucesso da microenxertia é o estágio de desenvolvimento do porta-enxerto e do ápice caulinar no momento da enxertia.

No caso do porta-enxerto, o tamanho adequado para realização da enxertia “in vitro” é quando este atinge 5 cm de comprimento do epicótilo. Já para o enxerto, o tamanho ideal é quando o ápice caulinar atinge 2 a 3 cm de comprimento (Murashige et al., 1972; Roistacher, Navarro e Murashige, 1976; Rossetti, 1980).

A literatura é muito restrita no que se refere a informações sobre como proceder para conseguir a sincronização entre as partes microenxertadas.

O presente trabalho teve como objetivos:

- Avaliar o efeito dos tegumentos e meio de cultura para que o epicótilo de diferentes porta-enxertos atingisse 5 cm de comprimento;
- Avaliar o efeito do ambiente e da época do ano na indução de ápices caulinares com 2 cm de comprimento;
- Obter a sincronização entre porta-enxertos e ápices caulinares para microenxertia em citros.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultivares de porta-enxertos e de ápices caulinares usados na microenxertia

O porta-enxerto utilizado na microenxertia é obtido a partir de sementes germinadas em tubos de ensaio, na ausência de luz (Murashige et al., 1972).

Os porta-enxertos de citros mais utilizados na microenxertia “in vitro” são o limão ‘Trifoliata’ e seus híbridos. Eles são os preferidos por apresentarem folha trifoliada facilitando assim, a identificação do pegamento do enxerto (Navarro, Roistacher e Murashige, 1975), além de ter um epicótilo de maior diâmetro, o que facilita a operação da microenxertia.

Todas as cultivares comerciais podem ser usadas para a produção de ápices caulinares, que são utilizados como fonte de meristemas para microenxertia. Todavia, na nossa citricultura ocorre incompatibilidade entre algumas combinações de copa e porta-enxerto.

As incompatibilidades mais importantes são as da laranja ‘Pera’ e ‘Seleta Itaborai’ quando enxertadas em ‘Trifoliata’ ou limão ‘Rugoso da Flórida’, dos limões ‘Eureka’ e ‘Siciliano’ quando enxertados em citrumelo 4475 (Swingle), do tangor ‘Murcott’ sobre ‘Trifoliata’ e da laranja ‘Pera’ sobre limão ‘Volkameriano’ (Pompeu Junior, 1991).

A compatibilidade entre as partes enxertadas é fundamental para o sucesso da microenxertia (Silva, 1983). Apesar da inexistência de estudos comparativos entre cultivares de micro porta-enxertos e de meristemas para a microenxertia, há informações de alta taxa de

pegamento de laranja doce, pomelo, tangerina e cunquat com micro porta-enxerto 'Troyer' e do micro porta-enxerto limão 'Rugoso' com variedades de limão, limas ácidas e cidra (Rossetti, 1980).

Desta forma, torna-se interessante a utilização de outros porta-enxertos na microenxertia, a fim de obter uma melhor taxa de pegamento e crescimento mais rápido do microenxerto.

2.2 Período desde a sementeira ao ponto de microenxertia

O tamanho ideal do porta-enxerto para a realização da microenxertia "in vitro" é de ± 5 cm de comprimento do epicótilo (Navarro, Roistacher e Murashige, 1975). Neste tamanho o micro porta-enxerto apresenta um diâmetro do epicótilo adequado para a realização da microenxertia e também o seu tecido apresenta uma consistência que facilita os cortes feitos na sua preparação.

Alguns autores mencionam que são necessárias duas semanas após a sementeira no meio de cultura para que o porta-enxerto 'Troyer' atinja o tamanho ideal para a enxertia "in vitro" (Roistacher, Navarro e Murashige, 1976; Navarro, 1981 e Santos Filho, 1987).

Em outro trabalho avaliando os porta-enxertos 'Cravo', 'Rugoso Nacional', 'Trifoliata' e 'Cleópatra' para microenxertia, constatou-se que o tamanho ideal do epicótilo foi obtido com maior rapidez com a remoção dos tegumentos das sementes, não importando o tipo de meio utilizado, exceto para o 'Trifoliata' onde suas sementes desenvolveram mais rapidamente sem os tegumentos, em meio contendo sais minerais (Paiva e Souza, 1994).

2.3 Período para obtenção dos ápices caulinares no ponto de microenxertia

O tamanho ideal dos ápices caulinares para microenxertia “in vitro” é de 2 a 3 cm de comprimento (Murashige et al., 1972). Este tamanho é considerado ideal em razão de uma zona de abscisão que é formada a aproximadamente 8 mm do ápice, facilitando a realização da microenxertia. Esta zona de abscisão desaparece quando os ápices apresentam mais que 3 cm de comprimento.

De acordo com Santos Filho (1987), as plantas que servirão de fonte de ápices caulinares deveriam ter seus ramos desfolhados aproximadamente três dias após a semeadura “in vitro” das sementes dos porta-enxertos, para que estejam com as brotações na época apropriada. Outros autores, mencionam que a desfolha das plantas deve ser feita dez a doze dias antes da realização da microenxertia (Baptista et al., 1991).

2.4 Fatores que interferem na obtenção do micro porta-enxerto para atingir o ponto de microenxertia.

O desenvolvimento do porta-enxerto “in vitro” para atingir o ponto de microenxertia é dependente de alguns fatores que concorrem para acelerar ou retardar o processo de germinação das sementes.

A germinação da semente é a retomada da atividade metabólica e crescimento dos tecidos da semente (Street e Opick, 1974). Este processo iniciado graças as próprias reservas do embrião, é mantido com a degradação dos componentes dos tecidos de reserva,

pela atividade enzimática e fluxo dos componentes solúveis às regiões de crescimento (Carvalho e Nakagawa, 1979).

As reservas nutritivas das sementes que se encontram na forma de carboidratos, gorduras e proteínas influenciam na germinação. Tais reservas, podem se derivar de um tecido chamado de endosperma, que por sua vez pode produzir uma região especializada na semente madura, como no milho, ou ser absorvido pelo embrião em desenvolvimento. Neste último caso, os cotilédones servem como órgão para armazenagem de alimentos (Janick, 1966 e James, 1967).

A água é um outro fator indispensável para a germinação pela sua influência na mobilização de reservas (Vasconcellos e Coutinho, 1957).

A temperatura em que ocorre a germinação, influencia na germinação total e na velocidade de germinação das sementes, devido interferir na absorção de água e nas reações bioquímicas que determinam o processo (Carvalho e Nakagawa, 1979).

A mesma temperatura que serve para estimular o crescimento, torna-se prejudicial se mantida por um período maior, pelo fato de modificar o equilíbrio de outros fatores, como a estabilidade das enzimas e funções vitais, até determinados limites (Vasconcellos e Coutinho, 1957).

A temperatura ótima de germinação para a maioria das espécies varia de 15 a 30° C (Carvalho e Nakagawa, 1979).

Alguns autores afirmam que são necessários 15 dias para que o porta-enxerto 'Troyer' atinja o ponto de microenxertia no escuro à temperatura de 27°C (Murashige et al., 1972; Continella, Busa e Valenti, 1983). Todavia, outros autores, conseguiram para este

mesmo porta-enxerto reduzir o tempo para 9 a 10 dias à temperatura de 30°C (Navarro et al., 1991).

As sementes de citros apresentam tegumentos que servem de proteção contra o ataque de microorganismos e também atuam na regulação da germinação.

A presença dos tegumentos nas sementes de citros, retarda a germinação por impedir o intumescimento, não deixando a água penetrar (Souza e Aquino, 1973).

Por essa razão, alguns autores recomendam a remoção dos tegumentos das sementes dos porta-enxertos a serem utilizados na microenxertia, a fim de acelerar o processo de germinação (Murashige et al., 1972; Navarro, Roistacher e Murashige, 1975). Todavia, deve-se ter muita atenção por ocasião da remoção dos tegumentos para não danificar o embrião da semente, o que prejudicaria o desenvolvimento “in vitro”.

Outro fator importante a ser considerado na germinação, é o estágio de desenvolvimento dos frutos que servirão de fonte de sementes.

Em estudos realizados, com o objetivo de determinar o estágio de desenvolvimento dos frutos de quatro porta-enxertos de citros, para obter o maior índice de germinação das suas sementes, constatou-se que os estágios de frutos passados e maduros foram os de maiores porcentagens de germinação (Souza e Aquino, 1973). Estes mesmos autores afirmam, que sementes de limão ‘Cravo’ podem ser retiradas de frutos maduros simplesmente, pois neste caso apresentam maior porcentagem de germinação. Já para o limão ‘Trifoliata’ suas sementes apenas germinaram, quando retiradas de frutos passados, que foi o estágio que proporcionou maior porcentagem de germinação para a tangerineira ‘Cleópatra’ e laranjeira ‘Caipira’. Concluíram ainda estes autores, que as sementes, independente das condições externas em que são colocadas a germinar, apenas o fazem em maior porcentagem

quando completamente maduras. A razão pela qual as sementes não germinam mesmo quando colocadas em condições exteriores propícias é devido as sementes apresentarem um embrião rudimentar (Maximov, 1948; Vasconcellos e Coutinho, 1957).

A ordem de formação das sementes em um fruto influi na germinação. Sementes de um mesmo indivíduo, submetidas a idênticas condições favoráveis, germinam em tempos diferentes. As que primeiro se formam em um indivíduo germinam melhor e antes em comparação com as nascidas depois. Quanto mais tarde se forma um indivíduo, mais débil é a sua descendência e menos tarda a desaparecer. Desta forma, deve-se observar a ordem em que vão aparecendo na planta as flores e frutos, para obter boas sementes para uma descendência mais vigorosa (Molisch, 1945).

A ocorrência da poliembriõnia que é muito comum na maioria das espécies cítricas (Moreira, Gurgel e Arruda, 1947), é um outro fator importante a ser considerado na obtenção do micro porta-enxerto "in vitro".

A poliembriõnia é a capacidade de uma semente dar origem a várias plantas (Rebour, 1964). Esta capacidade é devida as sementes de citros apresentarem um embrião sexual proveniente da fecundação e os demais, provenientes das células do nucelo.

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

As tangerinas e trifoliatas são altamente poliembriônicos, enquanto que o limão 'Cravo' apresenta baixa e constante porcentagem de poliembriõnia (Prates e Pompeu Junior, 1981).

Os embriões nucelares reproduzem as características da planta mãe e são mais vigorosos que os embriões sexuados.

2.5 Fatores que interferem na obtenção do ápice caulinar para atingir o ponto de microenxertia

As plantas cítricas crescem vegetativamente nos três a seis primeiros anos após o plantio antes de alcançar a produção econômica de frutos. Nesta fase, a planta também emite brotações em surtos de crescimento periódicos (Souza, 1976).

Os ápices caulinares utilizados como fonte de meristema para a microenxertia, podem ser obtidos pelos surtos normais da natureza dos citros (Navarro, Roistacher e Murashige, 1975). A ocorrência de dois a quatro surtos por ano em diferentes épocas é mencionada por diversos autores (Jones e Parker, 1951; Amaral, 1982; Ogata, 1980). No sul de Minas Gerais, o surto que se inicia de meados de julho a meados de agosto, denomina-se surto de desenvolvimento primaveril, sendo que os demais surtos ocorrem de dezembro a março na maioria das cultivares (Ogata, 1980). Segundo Souza (1976), a laranjeira 'Pera Rio' apresentou em média 2,5 surtos por planta, por ano, e este resultado está dentro dos limites indicados por De Juan (1960) que são de dois a cinco surtos. Desta forma, a realização da microenxertia ficaria limitada aos dois a cinco surtos por ano.

Para provocar as brotações no campo, pode-se desfolhar os ramos das plantas (Murashige et al., 1972; Navarro, Roistacher e Murashige, 1976). Porém, as plantas no campo estão sujeitas aos fatores ambientais, ficando difícil desta forma fazer uma previsão de obtenção dos ápices durante todo o ano.

Por essa razão, pode-se produzir mudas das plantas que se deseja livrar de vírus e conservá-las em vasos na casa de vegetação (Navarro, Roistacher e Murashige, 1975;

Rossetti, 1980). Essas mudas são então desfolhadas para estimular a produção dos ápices caulinares.

Uma muda com três pernadas apresenta em média 50 gemas que vão produzir os ápices caulinares, utilizados como fonte de meristemas para a microenxertia.

Uma outra alternativa para obtenção dos ápices caulinares, poderá ser a micropropagação “in vitro”. A rápida multiplicação “in vitro”, permite a obtenção de um grande número de brotações em curto espaço de tempo, podendo ainda adicionar ao meio substâncias antivirais e, assim, oferecer uma abundante fonte de meristemas para serem utilizados na microenxertia.

É de se esperar que na casa de vegetação e no laboratório por terem ambientes controlados, os ápices caulinares sejam obtidos de forma constante durante todo o ano. Entretanto, não pode-se desconsiderar as características inerentes a planta que mesmo estando em condições controladas pode ter variações no período de obtenção dos ápices.

A presença de frutos na planta inibe a brotação das gemas devido ao nível de giberelina sintetizada nos mesmos e translocadas para outras partes da planta, uma vez que as giberelinas têm a propriedade de inibir brotações. Este fato foi verificado por Becerra e Guardiola (1987).

As brotações das plantas novas são constituídas predominantemente por gemas axilares vegetativas, enquanto nas plantas adultas predominam, nas brotações da primavera, gemas florígenas. Não havendo frutos na planta nova, esta emite brotações mais vigorosas, devido não ocorrer uma competição por nutrientes minerais entre a parte vegetativa e os frutos (Schneider, 1968).

A maioria das espécies cítricas reduz sensivelmente o metabolismo com temperaturas entre 12 e 13°C e quase o paralisa a 5°C. Acima de 12°C a taxa de crescimento aumenta progressivamente, até atingir um máximo entre 25 a 31°C. Em temperaturas iguais ou superiores a 36°C, a taxa de respiração é maior do que a fotossíntese. O aquecimento excessivo das folhas destrói a clorofila, bloqueia a translocação da água, impedindo o atendimento à demanda hídrica e desorganiza o balanço nutricional da planta (Reuther, 1973).

3 HIPÓTESES

- Como as sementes de citros apresentam tegumentos que retardam a sua germinação e reservas para iniciar tal processo, a remoção dos tegumentos é suficiente para que os epicótilos de diferentes porta-enxertos atinjam 5 cm de comprimento, sem necessitar dos sais minerais presentes no meio de cultura.
- A utilização de plantas mais novas em casa de vegetação onde as condições são controladas, possibilitará a obtenção mais rápida dos ápices caulinares em relação ao campo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos durante o período de janeiro de 1991 a dezembro de 1993, no setor de fruticultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), na casa de vegetação e no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da UFLA, Estado de Minas Gerais.

O município de Lavras está situado a 21°14'06" de latitude Sul e a 45°00'00" de longitude W.Gr., a uma altitude de 918m.

4.1 Parte I - Efeito do tegumento e meio de cultura no crescimento do epicótilo de diferentes porta-enxertos

Os experimentos 1, 2 e 3 relacionaram-se à obtenção dos micro porta-enxertos durante o período de 1991 a 1993.

4.1.1 Plantas

As plantas utilizadas foram obtidas através da germinação de sementes dos limoeiros (*Citrus limonia* Osbeck cv Cravo), (*Citrus jambhiri* Luch cv Rugoso Nacional), e (*Poncirus trifoliata* (L.) Rafinesque cv Trifoliata) e da tangerineira (*Citrus reshni* Hort. ex.

Tanaka cv. Cleópatra). As sementes foram retiradas de frutos maduros oriundos de plantas sadias do pomar de candidatas a matrizes de porta-enxertos da UFLA.

4.1.2 Meio de cultura

Foram utilizados dois tipos de meio de cultura para a germinação das sementes; um contendo apenas água e ágar e outro contendo os sais minerais de Murashige e Skoog que estão apresentados no Quadro 1.

QUADRO 1. Composição do meio de cultura de Murashige e Skoog, 1962.

Solução Estoque	Compostos	Concentração na Solução Estoque (mg/l)	Volume da solução Adic. ao Meio (ml/l)	Concentração (mg/l)
A	NH ₄ NO ₃	165.000	10	1650
B	KNO ₃	95.000	20	1900
C	H ₃ BO ₃	1.240	5	6,2
	KH ₂ PO ₄	34.000		170,0
	KI	166		0,83
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	50		0,25
	CaCl ₂ .6H ₂ O	5		0,025
D	CaCl ₂		30,2	332,0
E	MgSO ₄ .7H ₂ O	74.000	5	370,0
	MnSO ₄ .4H ₂ O	4.460		22,3
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1.720		8,6
	CuSO ₄ .5H ₂ O	5		0,025
F	Na ₂ EDTA	7.450	5	37,25

4.1.3 Delineamento experimental e tratamentos

Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 x 2 (quatro cultivares de porta-enxerto, dois meios de cultura e sementes com e sem tegumentos), com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por 12 tubos de ensaio contendo uma semente por tubo.

Os tratamentos foram as combinações dos fatores: porta-enxertos ('Cravo', 'Rugoso Nacional', 'Trifoliata' e 'Cleópatra'), com dois tipos de meio de cultura (meio com sais minerais de Murashige e Skoog, 1962 e meio com água e ágar) e sementes com e sem os tegumentos.

4.1.4 Instalação e condução

As sementes dos porta-enxertos foram obtidas de frutos coletados durante os três anos deste experimento (1991 a 1993) em épocas diferentes de acordo com a maturação, sendo feita nos meses de março a agosto, março a julho, fevereiro a maio e julho a novembro, respectivamente para 'Cravo', 'Rugoso Nacional', 'Trifoliata' e 'Cleopatra' (Teófilo Sobrinho, 1991). As sementes foram retiradas dos frutos maduros, lavadas, demuciladas e secas à sombra. A seguir, as sementes foram selecionadas pelo tamanho e desinfestadas através da imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por 10 minutos. Após o tratamento foram lavadas por três vezes em água destilada autoclavada.

Os meios de cultura solidificados com ágar a 1% e com o pH ajustado em 5,7, foram colocados em tubos de ensaio (25 x 150 mm), na quantidade de 25 ml/tubo e autoclavados a 120°C por 20 minutos.

Em cada tubo de ensaio, em condições assépticas foi colocada uma semente, sendo então transferidos para germinar em câmara escura a uma temperatura de 27°C.

4.1.5 Avaliações

Para cada ano foram medidas diariamente a partir da segunda semana após a inoculação, o comprimento do epicótilo dos diferentes porta-enxertos, usando-se uma régua milimetrada a partir do colo até o meristema apical, anotando-se o número de dias necessários para os epicótilos dos porta-enxertos alcançarem 5 cm.

4.1.6 Análises estatísticas

Os resultados foram avaliados através de análises baseadas em modelo apropriado para o delineamento inteiramente casualizado, de acordo com Gomes (1987). Todos os dados do experimento foram submetidos à análise de variância, com significância pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

4.2 Parte II - Efeito do ambiente e da época do ano na indução de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' e 'Valência'

4.2.1 Experimento 1 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' no campo em 1991

4.2.1.1 Plantas e solo do pomar

Foram usadas seis plantas da laranjeira (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Pera Rio) enxertada em limoeiro (*Citrus limonia* Osbeck cv. Cravo), com oito anos de idade, que se encontram no campus da UFLA.

O solo do pomar, onde foi conduzido o experimento pertence ao grupo Podzólico Vermelho Amarelo, de textura argilosa. Os resultados de sua análise realizada antes da instalação do experimento, apresentaram altos teores de P, K e Ca, médio teor de matéria orgânica e baixo teor de Mg (Quadro 2).

QUADRO 2. Resultados da análise de amostras do solo de 0-20 cm de profundidade, coletadas na projeção da copa, das laranjeiras 'Pera Rio'. UFLA, Lavras-MG, 1991.

P	K	S-SO ₄	B	Mn	Zn	Ca	Mg	MO	pH
----- ppm -----			-----			---meq/100cc---	----- % -----		
456	117	36,27	0,11	39,1	9,35	5,5	0,1	2,5	6,0

Os níveis altos desses nutrientes, especialmente o de P, não refletem a fertilidade natural desse solo. É resultado de calagens e adubações fosfatadas frequentes na área.

4.2.1.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 12 tratamentos correspondente aos meses do ano (janeiro a dezembro) e seis repetições que foram as seis plantas. Cada parcela foi constituída de um ramo terminal de quatro a sete meses de idade e sem frutos.

Foi adotado este tipo de delineamento experimental em vista das plantas selecionadas para realização do experimento estarem localizadas em uma mesma faixa de solo, e devido os ramos escolhidos para se fazer a desfolha obedecerem uma mesma face de exposição.

4.2.1.3 Instalação e condução

A cada mês, a começar em janeiro de 1991 foi feita a desfolha de um ramo terminal de quatro a sete meses de idade e sem frutos de cada uma das seis plantas simultaneamente, durante os 12 meses do ano. Após desfolhados, os ramos foram ensacados com sacos plásticos transparentes e identificados com fita de cor, sendo uma para cada mês do ano.

4.2.1.4 Avaliações

A partir da segunda semana após a desfolha dos ramos, foram feitas medições diárias usando-se uma régua milimetrada, anotando-se o número de dias necessários para 50% dos ápices caulinares atingirem 2 cm de comprimento.

4.2.1.5 Análises estatísticas

O número médio de dias por parcela necessário para os ápices caulinares atingirem 2 cm de comprimento para microenxertia, foi transformado para raiz quadrada de x , analisado segundo o modelo estatístico empregado.

4.2.2 Experimento 2 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' na casa de vegetação em 1991

4.2.2.1 Plantas, recipientes e substrato

Foram usadas 24 mudas da mesma cultivar 'Pera Rio' enxertada em limoeiro (*Citrus limonia* Obeck cv. Cravo), com três pernas, em vasos. Os vasos utilizados para o

plantio das mudas foi o de cerâmica, com dimensões de 37 cm de altura, 23 cm de diâmetro, com capacidade para 13 l de substrato.

A composição usada foi constituída por material da camada de 0 a 20 cm de solo Podzólico Vermelho Amarelo de textura argilosa não cultivado, “PLANTIMAX” e vermiculita. A composição foi preparada na proporção de 30% de solo peneirado, 40% de “PLANTIMAX” e 30% de vermiculita e feito o tratamento com brometo de metila.

4.2.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com 12 tratamentos correspondente aos meses do ano (janeiro a dezembro) e seis repetições. Cada parcela foi constituída de duas mudas com três pernadas cada.

4.2.2.3 Instalação e condução

As mudas com três pernadas da laranjeira ‘Pera Rio’ enxertada sobre limoeiro ‘Cravo’ foram obtidas do pomar da UFLA e plantadas com torrão em vaso em novembro de 1990. Por ocasião do plantio das mudas, foi incorporado 120 g/vaso de superfosfato simples com cerca de 18% P_2O_5 solúvel em água, 26% CaO e 12% S (Malavolta, 1980).



Após o plantio, as mudas foram levadas para casa de vegetação com temperatura variando de 22 a 32°C e controle automático de umidade. As mudas foram irrigadas sempre que necessário.

Em janeiro de 1991, foi feita a desfolha em duas mudas com três pernadas escolhidas aleatoriamente e identificadas com etiquetas. Esta operação foi repetida nos outros meses daquele ano até dezembro.

4.2.2.4 Avaliações

A partir da segunda semana após a desfolha das pernadas, foram feitas medições diárias usando-se uma régua milimetrada, anotando-se o número de dias necessários para 50% dos ápices caulinares atingirem 2 cm de comprimento.

4.2.2.5 Análises estatísticas

O número médio de dias por parcela necessário para os ápices caulinares atingirem o tamanho ideal (2 cm) para microenxertia foi transformado para raiz quadrada de x , analisado segundo o modelo estatístico empregado.

[REDACTED]

4.2.3 Experimento 3 - Obtenção dos ápices caulinares de laranjeira 'Valência' no campo em 1992

4.3.3.1 Plantas e solo do pomar

Foram usadas seis plantas da laranjeira (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Valência), enxertada em limoeiro (*Citrus sinensis* Osbeck cv. Cravo), com nove anos de plantio, que também se encontram no campus da UFLA.

O solo do pomar onde se encontram as plantas também pertence ao grupo Podzólico Vermelho Amarelo, de textura argilosa.

4.2.3.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com oito tratamentos correspondente aos meses do ano (maio a dezembro) e seis repetições que foram as seis plantas. Cada parcela foi constituída de um ramo terminal de quatro a sete meses de idade e sem frutos.

Assim como no caso da 'Pera Rio', optou-se por este tipo de delineamento experimental, devido as plantas selecionadas estarem localizadas em uma mesma faixa de solo e por escolher ramos com a mesma face de exposição para fazer as desfolhas.

4.2.3.3 Instalação e condução

A cada mês, a começar em maio de 1992 foi feita a desfolha de um ramo terminal de quatro a sete meses de idade e sem frutos, de cada uma das seis plantas simultaneamente. Esta operação foi repetida durante todos os meses até dezembro.

Após desfolhados, os ramos foram ensacados com sacos plásticos transparentes e identificados com fita de cor, sendo uma para cada mês do ano.

4.2.3.4 Avaliações

A partir da segunda semana após a desfolha dos ramos, foram feitas medições diárias usando-se uma régua milimetrada, anotando-se o número de dias necessários para 50% dos ápices caulinares atingirem 2 cm de comprimento.

4.2.3.5 Análises estatísticas

O número médio de dias por parcela necessário para os ápices caulinares atingirem 2 cm de comprimento para microenxertia, foi transformado para raiz quadrada de x , analisado segundo o modelo estatístico empregado.

4.2.4 Experimento 4 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Valência' na casa de vegetação em 1992

4.2.4.1 Plantas, recipientes e substrato

Foram usadas 16 mudas da laranjeira 'Valência' enxertada em limoeiro (*Citrus limonia* Osbeck cv. Cravo), com três pernadas, em vasos. Os vasos e o substrato utilizados foram os mesmos para a laranjeira 'Pera Rio'.

4.2.4.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com oito tratamentos correspondente aos meses do ano (maio a dezembro) e seis repetições. Cada parcela foi constituída de duas mudas com três pernadas cada.

4.2.4.3 Instalação e condução

As mudas com três pernadas da laranjeira 'Valencia' enxertada em limoeiro 'Cravo' foram obtidas do pomar da UFLA e plantadas com torrão em vaso, em janeiro de 1992. Por ocasião do plantio das mudas, foi incorporado 120g / vaso de superfosfato simples com cerca de 18% de P_2O_5 solúvel em água, 26% de CaO e 12% de S (Malavolta, 1980).

Após o plantio, as mudas foram levadas para casa de vegetação com temperatura variando de 22 a 32°C e controle automático de umidade. As mudas foram irrigadas sempre que necessário.

Em março de 1992, foi feita a desfolha em duas mudas com três pernadas escolhidas aleatoriamente e identificadas com etiquetas. Esta operação foi repetida nos outros meses daquele ano até dezembro.

4.2.4.4 Avaliações

A partir da segunda semana após a desfolha das pernadas, foram feitas medições diárias usando-se uma régua milimetrada anotando-se o número de dias necessários para 50% dos ápices caulinares atingirem 2 cm de comprimento.

4.2.4.5 Análises estatísticas

O número médio de dias por parcela necessário para os ápices caulinares atingirem o tamanho ideal (2 cm) para microenxertia, foi transformado para raiz quadrada de x , analisado segundo o modelo estatístico empregado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os poucos trabalhos encontrados na literatura abordando as condições ideais para obtenção de diferentes porta-enxertos e ápices caulinares para a microenxertia, dificultam uma discussão rica em comparações.

5.1 Parte I - Efeito do tegumento e do meio de cultura no crescimento do epicótilo de diferentes porta-enxertos

5.1.1 Experimento 1 - 1991

Os resultados obtidos neste ano mostraram efeito significativo da interação dos três fatores (cultivar, meio e tegumento).

Ao fixar cultivar e a presença ou ausência dos tegumentos das sementes para avaliar o comportamento do meio de cultura (Quadro 3), verificou-se que o meio não influenciou no desenvolvimento do epicótilo dos porta-enxertos 'Cravo' e 'Cleópatra', seja na presença ou ausência dos tegumentos das sementes. Este resultado concorda com os obtidos por Paiva e Souza (1994).

QUADRO 3. Número médio de dias necessários, para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG, 1991.

Cultivares	Meio de Cultura	Sementes	
		Com Tegumentos	Sem Tegumentos
Cravo	Com sais minerais	25,76 b A	21,71 a A
	Sem sais minerais	28,27 b A	19,10 a A
Rugoso Nacional	Com sais minerais	25,69 b A	19,18 a A
	Sem sais minerais	40,51 b B	20,64 a A
Trifoliata	Com sais minerais	41,58 b B	21,61 a A
	Sem sais minerais	35,02 b A	31,38 a B
Cleópatra	Com sais minerais	30,44 b A	24,62 a A
	Sem sais minerais	31,22 b A	23,69 a A

Dentro de cada cultivar, médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de “Tukey”, ao nível de 5% de probabilidade.

Souza e Aquino (1973) observaram que as sementes de citros independente das condições externas em que são colocadas a germinar apenas o faziam em maior porcentagem quando completamente maduras.

A germinação das sementes iniciada graças as suas próprias reservas, é mantida pela mobilização dos componentes dos tecidos de reservas, pela atividade enzimática e fluxo dos componentes solúveis às regiões de crescimento (Carvalho e Nakagawa, 1979).

Com base nestas informações supõe-se que as sementes dos porta-enxertos ‘Cravo’ e ‘Cleópatra’ apresentavam graus de maturidade próximos e suas reservas foram suficientes para que o epicótilo dos porta-enxertos atingissem 5 cm de comprimento.

No caso do porta-enxerto 'Rugoso Nacional', o meio de cultura só apontou efeito significativo quando não se removeu os tegumentos das sementes, o que difere dos resultados obtidos por Paiva e Souza (1994).

A ordem de formação das sementes em um fruto influencia na sua germinação de modo que, sementes de um mesmo indivíduo submetidas a idênticas condições favoráveis, germinam em tempos diferentes. As que primeiro se formam germinam antes em comparação com as nascidas depois (Molisch, 1945). Neste caso provavelmente as sementes com os tegumentos apresentavam graus diferentes de maturidade.

Para o 'Trifoliata', o meio influenciou significativamente na presença e na ausência dos tegumentos, o que concorda com os resultados obtidos por Paiva e Souza (1994). Este porta-enxerto apresenta uma natureza diferente dos demais porta-enxertos estudados. Como, se sabe, os 'Trifoliatas' são plantas caducifólias que possuem repouso vegetativo e desta maneira apresentam diferenças biológicas e de ciclo, em relação aos demais porta-enxertos.

Quando fixou-se o tipo de cultivar e o meio de cultura para estudar o efeito dos tegumentos (Quadro 3), constatou-se que para todos os porta-enxertos houve diferença significativa da presença e ausência dos tegumentos nos dois tipos de meio de cultura. A remoção dos tegumentos, foi o principal fator no desenvolvimento mais rápido do epicótilo. O desenvolvimento mais rápido do epicótilo na ausência dos tegumentos pode ser explicado por uma barreira a menos ao processo de embebição (Souza e Aquino, 1973). A embebição mais rápida de água desencadeou mais rápido o metabolismo das sementes e conseqüentemente as suas germinações.

Fixando o meio de cultura e a presença ou ausência dos tegumentos para estudar o comportamento dos porta-enxertos (Quadro 4), verificou-se que no meio com sais minerais e sementes com tegumentos, não houve diferença significativa para os porta-enxertos ‘Cravo’ e ‘Rugoso Nacional’, que foram os que apresentaram o desenvolvimento mais rápido do epicótilo. Já para ‘Trifoliata’ e ‘Cleópatra’ houve diferença significativa sendo o ‘Trifoliata’ o que mais tempo levou para atingir o ponto ideal para microenxertia.

Quando se removeu os tegumentos das sementes em meio com sais minerais, os porta-enxertos ‘Rugoso Nacional’, ‘Trifoliata’ e ‘Cravo’ não diferiram entre si. O ‘Trifoliata’ e o ‘Cravo’ apresentaram uma certa tendência a ter comportamento semelhante ao porta-enxerto ‘Cleópatra’ que foi o que mais tempo levou para atingir o ponto de microenxertia.

QUADRO 4. Número médio de dias necessários, para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG, 1991.

Meio de Cultura	Sementes	Cultivares			
		Cravo	Rugoso Nacional	Trifoliata	Cleópatra
Com sais minerais	Com tegumentos	25,76 a	25,69 a	41,58 c	30,44 b
	Sem tegumentos	21,71 ab	19,18 a	21,61 ab	24,62 b
Sem sais minerais	Com tegumentos	28,27 a	40,51 c	35,02 b	31,22 ab
	Sem tegumentos	19,10 a	20,64 ab	31,38 c	23,69 b

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de “Tukey” ao nível de 5% de probabilidade.

Em meio sem sais minerais e sementes sem os tegumentos não observou-se diferença significativa para 'Cravo' e 'Rugoso' que tiveram melhor desempenho embora o 'Rugoso Nacional' apresentasse uma certa tendência a ter comportamento semelhante ao porta-enxerto 'Cleópatra'. O porta-enxerto 'Trifoliata' foi o que pior desempenho apresentou.

Para o meio sem sais minerais e sementes com os tegumentos, não observou-se diferença significativa para os porta-enxertos 'Cravo' e 'Cleópatra', que apresentaram um desenvolvimento mais rápido do epicótilo. O porta-enxerto 'Cleópatra', apresentou uma certa tendência de comportamento semelhante ao 'Trifoliata'. O porta-enxerto 'Rugoso Nacional' foi o que pior desempenho apresentou.

A grande variação do amadurecimento de sementes de citros, faz com que ocorra variação individual no seu desenvolvimento, isto é, de variedade para variedade, de árvore para árvore (Optiz et al., citado por Souza e Aquino, 1973).

É provável que as variações existentes para o estágio de desenvolvimento das sementes de frutos da mesma cultivar e de cultivares diferentes, proporcionaram respostas diferentes para os porta-enxertos estudados.

5.1.2 Experimento 2 - 1992

Houve interação significativa apenas para os fatores cultivar e tegumento. Este resultado, embora tenha sido diferente do obtido no experimento 1, vem confirmar a pequena influência que o meio apresenta no desenvolvimento do epicótilo dos porta-enxertos estudados.

Os dados apresentados no Quadro 5, confirmam os resultados obtidos por Paiva e Souza (1994) em que para todos os porta-enxertos, a remoção dos tegumentos, favoreceu o crescimento mais rápido do epicótilo, independente do tipo de meio de cultura utilizado. A explicação para este resultado já foi mencionada anteriormente.

Pelo Quadro 6, nota-se que o porta-enxerto ‘Cravo’ alcançou um desenvolvimento mais rápido do epicótilo em relação aos outros porta-enxertos independente da presença ou ausência dos tegumentos das sementes e do meio utilizado. O segundo porta-enxerto a apresentar melhor desempenho foi o ‘Rugoso Nacional’ que não diferiu significativamente do ‘Trifoliata’ sem os tegumentos. O porta-enxerto ‘Cleópatra’ foi o que apresentou pior desempenho não diferindo do ‘Trifoliata’ com os tegumentos.

QUADRO 5. Número médio de dias necessários para que o epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atinjam o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG. 1992.

Cultivares	Sementes	Meio de Cultura		Média
		Com sais minerais	Sem sais minerais	
Cravo	Com tegumentos	24,13	26,08	25,11 b
	Sem tegumentos	20,22	18,55	19,39 a
Rugoso Nacional	Com tegumentos	34,01	32,25	33,13 b
	Sem tegumentos	30,18	25,74	27,96 a
Trifoliata	Com tegumentos	47,41	47,36	47,39 b
	Sem tegumentos	29,95	32,90	31,43 a
Cleópatra	Com tegumentos	45,12	45,47	45,30 b
	Sem tegumentos	33,31	37,95	35,63 a

Dentro de cada cultivar, médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de “Tukey” ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 6. Número médio de dias necessários para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem os tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG, 1992.

Sementes	Meio de Cultura		Cultivares (média)			
	com sais minerais	sem sais minerais	Cravo	Rugoso Nacional	Trifoliata	Cleópatra
Com tegumentos			25,11a	33,13b	47,39c	45,30c
Sem tegumentos			19,39a	27,96b	31,43b	35,63c

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de “Tukey”, ao nível de 5% de probabilidade.

Observou-se neste ano uma taxa de poliembrionia maior para os porta-enxertos ‘Trifoliata’ e ‘Cleópatra’. Esta observação está de acordo com as afirmações de Prates e Pompeu Junior (1981) que mencionam alta porcentagem de poliembrionia para as tangerinas e trifoliatas e baixa para o limoeiro ‘Cravo’. Além das explicações mencionadas anteriormente, este fato provavelmente contribuiu para retardar o desenvolvimento destes dois porta-enxertos, quando comparados com o ‘Cravo’ e ‘Rugoso Nacional’.

5.1.3 Experimento 3 - 1993

Assim como no ano de 1991 observou-se efeito significativo para os três fatores (cultivar, meio e tegumentos).

Fixando os fatores cultivar e tegumento das sementes para avaliar o comportamento do meio de cultura (Quadro 7), verificou-se que não houve influência do meio

para o porta-enxerto ‘Cravo’ com tegumentos e nem para os porta-enxertos ‘Rugoso Nacional’ e ‘Trifoliata’ sem os tegumentos.

A influência do meio de cultura mostrou-se significativa para ‘Cravo’ e ‘Cleópatra’ sem tegumentos e para ‘Rugoso Nacional’, ‘Trifoliata’ e ‘Cleópatra’ com os tegumentos.

QUADRO 7. Número de dias necessários para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG, 1993.

Cultivares	Meio de Cultura	Sementes	
		Com Tegumentos	Sem Tegumentos
Cravo	Com sais minerais	32,24 b A	29,00 a B
	Sem sais minerais	29,86 b A	23,70 a A
Rugoso Nacional	Com sais minerais	34,46 b B	25,82 a A
	Sem sais minerais	31,42 b A	27,34 a A
Trifoliata	Com sais minerais	30,93 b A	27,20 a A
	Sem sais minerais	34,52 b B	26,77 a A
Cleópatra	Com sais minerais	40,63 b B	31,69 a B
	Sem sais minerais	37,13 b A	23,70 a A

Dentro de cada cultivar, médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de “Tukey”, ao nível de 5% de probabilidade.

Maximov (1948) e Vasconcellos e Coutinho (1957), em seus estudos sobre germinação de sementes das variedades em geral, dão especial importância à exigência do completo desenvolvimento das partes constitutivas do embrião. Sem essa maturação, as

sementes não estão preparadas para iniciar o processo de crescimento ainda que sejam colocadas no meio propício. Isto ocorre porque as sementes, na altura da maturação dos frutos e da sua disseminação, possuem ainda o embrião rudimentar, que só completa seu desenvolvimento após um período variável de semanas a meses.

Acredita-se que as diferenças observadas entre os diferentes porta-enxertos e para os mesmos nos dois tipos de meio de cultura seja devido a variação no grau de maturidade das sementes utilizadas.

Neste Quadro 7, nota-se ainda, que a remoção dos tegumentos para todos os porta-enxertos foi o principal fator no desenvolvimento mais rápido do epicótilo. Este resultado está de acordo com os obtidos por Paiva e Souza (1994), assim como os obtidos no experimento 1 e 2, sendo explicado anteriormente.

Quando fixou-se meio de cultura e presença ou ausência dos tegumentos para estudar o comportamento das diferentes cultivares (Quadro 8), verificou-se que ‘Cravo’, ‘Rugoso Nacional’ e ‘Trifoliata’ não apresentaram diferença significativa entre si em meio com sais minerais, independente da presença ou ausência dos tegumentos, atingindo o ponto de microenxertia mais rapidamente. O porta-enxerto ‘Cleópatra’ foi o que mais tempo levou para atingir 5 cm de comprimento do epicótilo nas mesmas condições.

Em meio sem sais minerais e sementes com tegumentos, os porta-enxertos ‘Cravo’ e ‘Rugoso Nacional’ não diferiram significativamente entre si e foram os que atingiram o desenvolvimento mais rápido do epicótilo, embora o porta-enxerto ‘Rugoso Nacional’ apresentasse uma tendência de comportamento semelhante ao ‘Trifoliata’. Já para os porta-enxertos ‘Trifoliata’ e ‘Cleópatra’, também não foi observado diferença significativa entre eles, e foram os que mais tempo gastaram para atingir o desenvolvimento ideal do epicótilo.

QUADRO 8. Número médio de dias necessários para os epicótilos de diferentes porta-enxertos, originados de sementes com e sem tegumentos, germinadas em meio com e sem sais minerais, atingirem o tamanho ideal (5 cm) para a enxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG, 1993.

Meio de Cultura	Sementes	Cultivares			
		Cravo	Rugoso Nacional	Trifoliata	Cleópatra
Com sais minerais	Com tegumentos	32,24 a	34,46 a	30,93 a	40,63 b
	Sem tegumentos	29,00 a	25,82 a	27,20 a	31,69 b
Sem sais minerais	Com tegumentos	29,86 a	31,42 ab	34,52 bc	37,13 c
	Sem tegumentos	23,70 a	27,34 b	26,77 ab	23,70 a

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de “Tukey” ao nível de 5% de probabilidade.

No meio sem sais minerais e sementes sem tegumentos verificou-se que não houve diferença significativa entre as cultivares ‘Cravo’, ‘Cleópatra’ e ‘Trifoliata’, sendo os que apresentaram melhor desempenho. Já o porta-enxerto ‘Rugoso Nacional’ apresentou o pior desempenho, embora apresentasse uma tendência de comportamento semelhante ao ‘Trifoliata’.

Como explicado anteriormente, supõe-se que a variação individual de amadurecimento existente para as sementes de citros tenha proporcionado respostas diferentes para o mesmo porta-enxerto e entre os diferentes porta-enxertos.

Mesmo ao coletar frutos que aparentemente apresentassem o mesmo estágio de maturação é possível que suas sementes tenham diferentes graus de maturidade.

No Quadro 9, estão apresentados os melhores resultados para cada porta-enxerto relativos aos experimentos 1, 2 e 3.

QUADRO 9. Número médio de dias necessários para os epicótilos de diferentes porta-enxertos originados de sementes sem os tegumentos, atingirem o tamanho ideal (5 cm), para a enxertia “in vitro”, durante o período de 1991 a 1993.

Ano	Cultivares			
	Cravo	Rugoso Nacional	Trifoliata	Cleópatra
1991	19,10	19,18	21,61*	23,69
1992	19,39	27,96	31,43	35,63
1993	23,70	25,82	26,77	23,70
Médias	20,73	24,32	26,60	27,67

* meio com sais minerais.

Para todos os porta-enxertos, verificou-se que a remoção dos tegumentos foi o principal fator no desenvolvimento mais rápido do epicótilo até atingir o ponto ideal para microenxertia.

A remoção dos tegumentos facilita o processo de embebição da semente (Souza e Aquino, 1973). Desta forma, a água penetra mais facilmente na semente desencadeando mais rápido o seu metabolismo e conseqüentemente a sua germinação.

Praticamente para todos os porta-enxertos estudados, o meio de cultura com sais minerais não influenciou no desenvolvimento mais rápido do epicótilo até atingir o tamanho de 5 cm. Apenas no ano de 1991 para o porta-enxerto ‘Trifoliata’ o meio com sais minerais apresentou melhor desempenho, quando comparado com o meio sem sais minerais. As explicações para estes resultados já foram mencionadas anteriormente.

Os melhores tratamentos permitiram obter os micro porta-enxertos aptos para microenxertia com 21, 24, 27 e 28 dias em média, após a semeadura no meio de cultura, respectivamente para ‘Cravo’, ‘Rugoso Nacional’, ‘Trifoliata’ e ‘Cleópatra’.

É importante ressaltar que as sementes utilizadas nos três experimentos, foram coletadas em épocas diferentes para os três anos. Notou-se que quando mais cedo se fez a coleta das sementes mais tempo estas levaram para atingir o ponto de microenxertia. Desta forma, presume-se que as diferenças observadas no número de dias para obtenção dos micro porta-enxertos nos diferentes anos, seja devido aos diferentes graus de maturidade das sementes utilizadas.

A diferença de três dias observada entre os porta-enxertos ‘Cravo’ e ‘Rugoso Nacional’, pode prejudicar a sincronização com os ápices caulinares no campo e na casa de vegetação, se optar pelo número de dias de um dos dois, pois em condições ideais três dias são suficientes para os ápices ultrapassarem o tamanho ideal para realização da microenxertia. Já para os porta-enxertos ‘Trifoliata’ e ‘Cleópatra’ a pequena diferença observada no número de dias para atingir o tamanho de 5 cm de comprimento do epicótilo, não prejudica a sincronização com os ápices no campo e na casa de vegetação, se optar pelo número de dias de qualquer um deles.

5.2 Parte II - Efeito do ambiente e da época do ano na indução de ápices caulinares de laranjeira ‘Pera Rio’ e ‘Valência’

Os dados climáticos referentes ao período de condução destes experimentos encontram-se no Quadro 10.

QUADRO 10. Dados de alguns fatores climáticos durante a condução do experimento. UFLA, Lavras-MG, 1995.

Mês	Ano	Temperaturas			Precipitação (mm)
		Máxima	Mínima	Média	
Janeiro	91	26,76	18,30	21,65	543,4
Fevereiro	91	28,94	18,52	22,55	203,2
Março	91	27,24	17,96	21,59	218,9
Abril	91	27,61	15,52	20,49	101,4
Maiο	91	24,92	13,62	18,20	2,0
Junho	91	25,44	12,83	18,04	0,0
Julho	91	24,03	11,49	16,58	7,4
Agosto	91	26,17	11,96	18,23	0,0
Setembro	91	27,14	13,62	19,38	46,6
Outubro	91	29,57	16,63	22,01	201,6
Novembro	91	29,15	17,39	22,25	101,5
Dezembro	91	29,30	18,69	22,97	233,1
Maiο	92	25,94	15,34	19,50	93,9
Junho	92	24,77	12,35	17,44	3,5
Julho	92	23,61	11,96	16,75	14,1
Agosto	92	25,29	12,65	17,85	25,4
Setembro	92	23,85	14,58	18,55	157,9
Outubro	92	26,80	16,50	20,67	143,8
Novembro	92	26,68	17,25	21,12	230,0
Dezembro	92	28,19	17,37	21,53	131,6

FONTE: Estação Meteorológica, Departamento de Biologia, UFLA, Lavras - MG, 1995

Os resultados obtidos revelaram diferenças significativas para a obtenção de ápices caulinares das laranjeiras 'Pera Rio' e 'Valência' nos dois locais (campo e casa de vegetação).

5.2.1 Experimento 1 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' no campo em 1991

Pelo Quadro 11, percebe-se que os meses de junho e outubro não diferiram significativamente entre si e foram os que proporcionaram a obtenção mais rápida dos ápices caulinares com 2 cm de comprimento.

QUADRO 11. Número médio de dias necessários, para obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio', com 2 cm de comprimento, após as desfolhas no campo. UFLA, Lavras-MG, 1991.

Meses	Campo
Janeiro	24,95 b
Fevereiro	26,93 b
Março	23,97 b
Abril	32,96 d
Maio	34,30 d
Junho	22,64 a
Julho	30,53 c
Agosto	28,84 c
Setembro	24,08 b
Outubro	20,33 a
Novembro	28,46 c
Dezembro	29,99 c

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de "Tukey", ao nível de 5% de probabilidade.

A laranja 'Pera Rio' quando infectada pelo vírus da Tristeza dos citros apresenta reações variadas, e nos casos mais graves ocorre paralisação no crescimento. Algumas vezes encontram-se plantas de aspecto normal com um ou mais galhos afetados, outras vezes observam-se galhos que se destacam pelo seu vigor do resto da copa (Muller e Costa, 1991).

Desta forma, presume-se que a presença do vírus na planta tenha contribuído para emissão de brotações fora da época normal desta cultivar, ou seja, nos meses de junho e outubro.

Outro fator que pode ter contribuído para emissão de brotações no mês de junho foi a irrigação realizada neste mês.

Verifica-se ainda, pelo Quadro 11 que os meses de janeiro, fevereiro, março e setembro não diferiram significativamente entre si e foram depois dos meses de junho e outubro os que menos tempo levaram para obter os ápices no ponto de microenxertia.

Este resultado está dentro dos limites do surto de crescimento primaveril e de verão para a laranja 'Pera Rio' indicados por Ogata (1980).

Pelo Quadro 11, nota-se também que os ápices caulinares foram obtidos mais tardiamente nos meses de abril e maio, período em que a laranja 'Pera Rio' apresenta frutos no estágio de vez.

Kramer e Kozlowski (1960) observaram que o crescimento verificado em uma parte da árvore, influencia o crescimento das partes restantes, e tais correlações internas envolvem muitas vezes competição interna pelo alimento, água e sais minerais, bem como efeitos hormonais.

Becerra e Guardiola (1987) afirmaram que o principal fator no controle do desenvolvimento das brotações é a presença de frutos. As giberelinas sintetizadas nos frutos seriam translocadas para outras partes da planta, mantendo as gemas em estado de dormência.

Baseado nestas informações supõe-se que os frutos estejam atuando como drenos “fortes” e assim competindo com o desenvolvimento dos ápices.

Outra explicação plausível para este resultado seria a presença dos frutos nestes meses alterando o balanço hormonal e assim prejudicando a emissão de brotações.

Pela Figura 1, percebe-se que a emissão de brotos para a laranjeira ‘Pera Rio’ é feita em períodos cíclicos, sendo que crescimento rápido dos ápices é seguido de crescimento lento.

Nota-se que nos meses de janeiro, fevereiro e março os ápices foram obtidos rapidamente seguido de crescimento lento dos mesmos nos meses seguintes de abril e maio.

No mês de junho os ápices foram obtidos rapidamente seguido de crescimento lento nos meses de julho e agosto. Nos meses de setembro e outubro houve crescimento rápido dos ápices seguidos de crescimento lento em novembro e dezembro.

Este fato permite sugerir que após a emissão de brotações, a planta necessita de um certo período para acumular substâncias de reservas e estabelecer um certo balanço interno a fim de favorecer o rápido crescimento dos ápices caulinares.

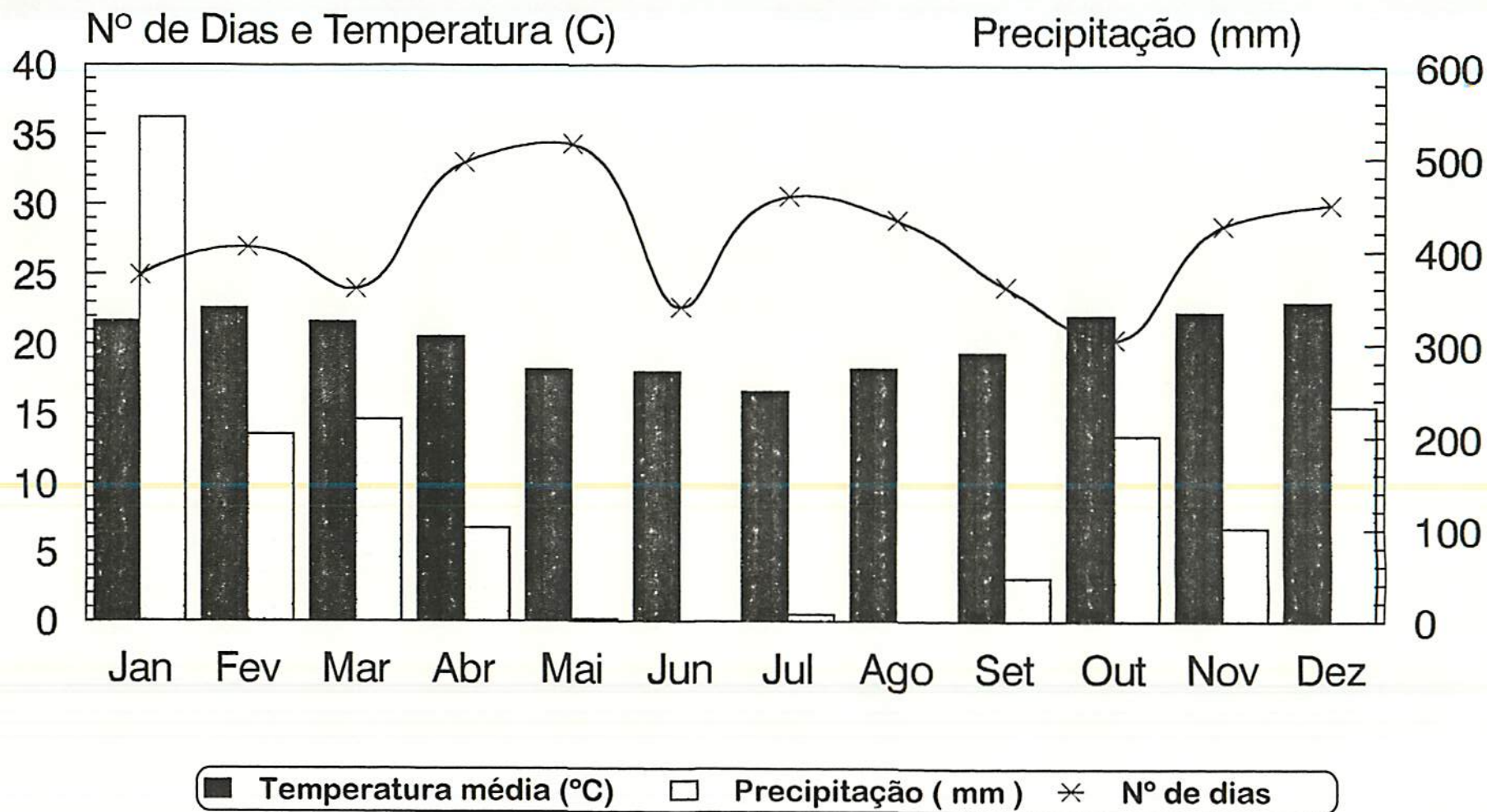


FIGURA 1. Número de dias necessários para obtenção de ápices caulinares da laranjeira 'Pera Rio' e condições climáticas observadas no período avaliado. UFLA, Lavras-MG, 1991.

5.2.2 Experimento 2 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio' na casa de vegetação em 1991.

Pelo Quadro 12, nota-se que o mês de setembro foi o que proporcionou a obtenção mais rápida dos ápices caulinares com 2 cm de comprimento, seguidos dos meses de janeiro, fevereiro, abril, junho e outubro, que não diferiram significativamente entre si. O mês de julho foi o que mais tempo levou para obter os ápices no ponto de microenxertia, após os meses de março, agosto e novembro que não diferiram significativamente entre si.

Na casa de vegetação esperava-se uma obtenção mais homogênea dos ápices caulinares em relação ao campo, devido as mudas encontrarem-se em ambiente mais controlado. Todavia a natureza da cultivar com seus surtos de crescimento peculiares interfere na resposta à desfolha com a emissão de brotações. A emissão de brotações não é fator exclusivo da temperatura e da umidade disponível. Fatores internos da planta, também interferem na resposta à desfolha.

Percebe-se pelo Quadro 13, que para todos os meses avaliados, os ápices atingiram o ponto de microenxertia mais rapidamente na casa de vegetação.

As folhas fornecem assimilados especialmente carboidratos para as plantas, assim a sua remoção causa um desbalanço na relação C/N pela redução do primeiro. Este fato estimula o desenvolvimento vegetativo na região desfolhada (Ferreira, 1985).

Schneider (1968), observou que plantas novas emitem brotações mais vigorosas que as plantas adultas, devido não ocorrer uma competição por nutrientes minerais entre a parte vegetativa e os frutos.

QUADRO 12. Número médio de dias necessários, para obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Pera Rio', com 2 cm de comprimento, após as desfolhas na casa de vegetação. UFLA, Lavras-MG 1991.

Meses	Casa de Vegetação
Janeiro	17,99 bc
Fevereiro	16,00 b
Março	19,99 c
Abril	15,97 b
Maio	27,97 e
Junho	15,00 b
Julho	24,98 de
Agosto	18,14 c
Setembro	12,12 a
Outubro	16,99 b
Novembro	21,16 c
Dezembro	23,49 d

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de "Tukey", ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 13. Tempo médio em dias, para obtenção de ápices caulinares da laranjeira 'Pera Rio', com 2 cm de comprimento, após as desfolhas em dois diferentes locais, durante o período de janeiro a dezembro. UFLA, Lavras-MG, 1991.

	Campo	Casa de vegetação
Tempo (dias)	27,33 b	19,15 a

Médias seguidas pelas mesmas letras na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

As desfolhas realizadas nas mudas em casa de vegetação provocaram um desbalanço na relação C/N pela redução do primeiro, e assim estimulando a emissão mais rápida de brotações. Este estímulo a emissão de brotações, foi verificado com maior intensidade na casa de vegetação, devido a menor proporção de folhas nos ramos das mudas na casa de vegetação em relação as plantas no campo.

É importante ressaltar, que durante a condução do experimento, as mudas em casa de vegetação não produziram frutos, assim todas as reservas nutritivas das mudas foram direcionadas para a emissão de brotações.

5.2.3 Experimento 3 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Valência' no campo em 1992

Pelo Quadro 14, verifica-se que o mês de setembro proporcionou a obtenção mais rápida dos ápices caulinares no ponto de microenxertia.

QUADRO 14. Número médio de dias necessários, para obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Valência', com 2 cm de comprimento, após as desfolhas no campo. UFLA, Lavras-MG, 1992.

Meses	Campo
Maio	39,66 d
Junho	40,65 d
Julho	47,81 e
Agosto	33,61 c
Setembro	22,96 a
Outubro	25,97 b
Novembro	28,65 b
Dezembro	33,48 c

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de "Tukey", ao nível de 5% de probabilidade.

Este resultado encontra-se dentro do surto de crescimento normal desta cultivar que é de agosto a outubro.

O mês de julho foi o que apresentou o desenvolvimento mais lento dos ápices caulinares, depois dos meses de maio e junho como percebe-se pelo Quadro 14.

Para a laranjeira 'Valência' houve uma correlação negativa de 57% entre os fatores temperatura e número de dias para obtenção dos ápices e de 76% entre precipitação e número de dias para obtenção dos ápices. Estas correlações sugerem que a medida que diminua a temperatura e precipitação, aumenta o número de dias para a obtenção dos ápices.

Este efeito pode ser observado na Figura 2 nos meses de junho e julho quando houve temperatura baixa e pequena precipitação.

Nos meses de abril e maio a laranjeira ‘Valência’ apresenta frutos no estágio de vez sendo colhidos apenas nos meses de novembro a dezembro. É provável que os frutos atuam como drenos “fortes” até o mês de julho competindo em alimento, água e sais minerais, além de poder causar um desbalanço hormonal prejudicando a emissão de brotações. A ausência de surto de crescimento natural no período também é fator para o caso da ‘Valência’.

No mês de agosto a competição dos frutos com o crescimento das brotações foi diminuindo e a temperatura e precipitação elevadas possibilitaram a obtenção mais rápida dos ápices neste mês em relação aos dois anteriores.

Esta suposição dos frutos atuarem como drenos “fortes”, e também causando um desbalanço interno da planta até o período sugerido para as laranjeiras ‘Pera Rio’ e ‘Valência’, é reforçado devido ocorrer para as duas cultivares um crescimento mais rápido dos ápices, dois meses antes da época de colheita normal dos frutos.

Nos meses de Outubro e Novembro a temperatura e precipitação elevadas favoreceram a rápida emissão de brotações, sendo superados apenas pelo mês de setembro.

A grande emissão de brotações que ocorre normalmente no mês de setembro para a laranjeira ‘Valência’ estabeleceu uma competição entre crescimento de folhas novas e nova emissão de brotações nos meses seguintes.

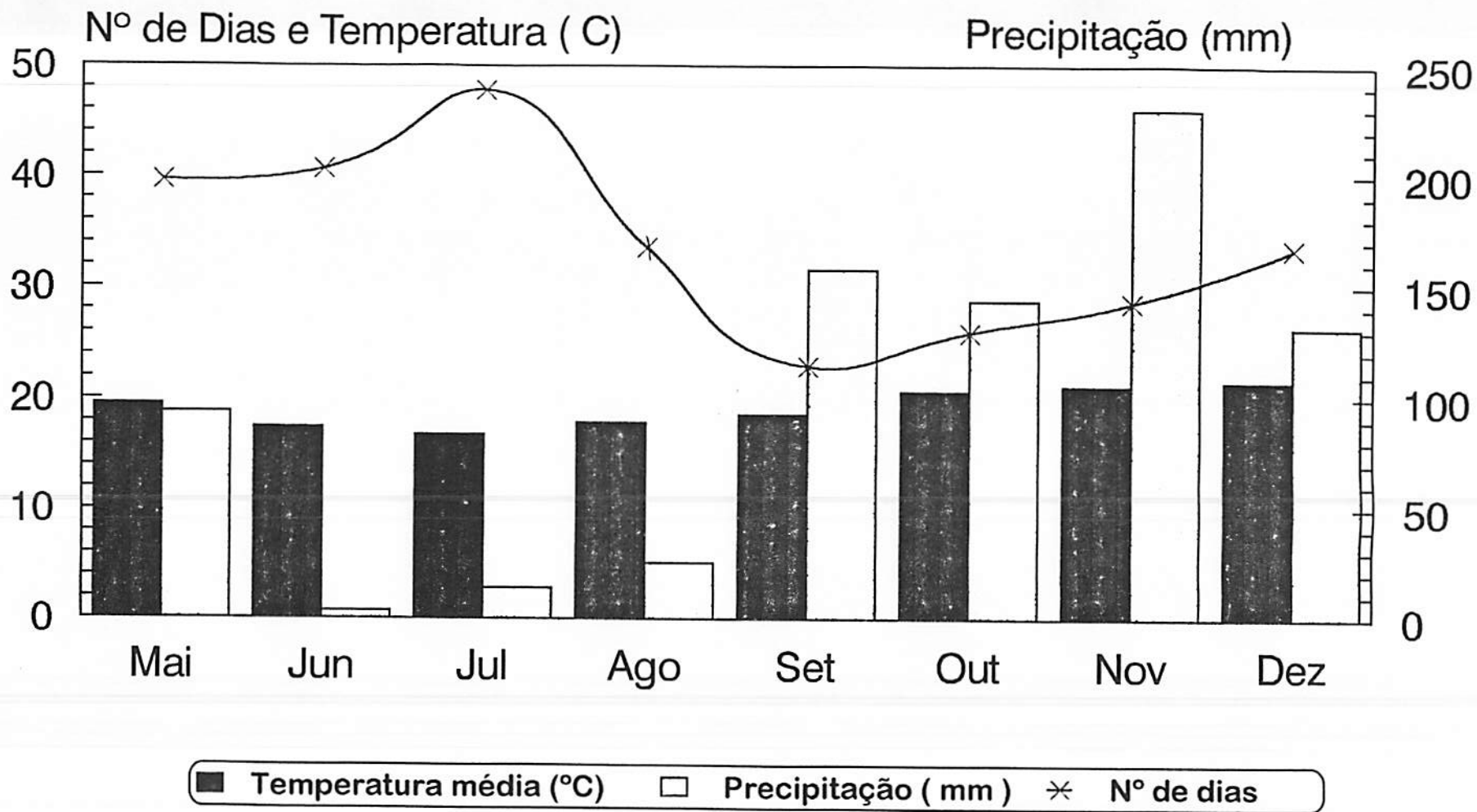


FIGURA 2. Número de dias necessários para obtenção de ápices caulinares da laranja 'Valência' e condições climáticas observadas no período avaliado. UFLA, Lavras-MG, 1992.

5.2.4 Experimento 4 - Obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Valência' na casa de vegetação em 1992

Pelo Quadro 15, percebe-se que os meses de junho, outubro e novembro não diferiram significativamente entre si e foram os que apresentaram a obtenção mais rápida dos ápices com 2 cm de comprimento, seguido dos meses de agosto e dezembro, que também não diferiram significativamente entre si.

QUADRO 15. Número médio de dias necessários, para obtenção de ápices caulinares de laranjeira 'Valência', com 2 cm de comprimento, após as desfolhas na casa de vegetação. UFLA, Lavras-MG, 1992.

Meses	Casa de Vegetação
Maio	29,65 c
Junho	19,04 a
Julho	29,82 c
Agosto	26,65 bc
Setembro	25,32 b
Outubro	18,16 a
Novembro	19,32 a
Dezembro	26,82 bc

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de "Tukey", ao nível de 5% de probabilidade.

Os meses de maio e julho foram os que proporcionaram a obtenção mais demorada dos ápices caulinares no ponto de microenxertia.

Assim como foi explicado no caso da ‘Pera Rio’, a resposta à desfolha para emissão de brotações depende além da temperatura e umidade disponível, de fatores internos da planta.

Nota-se pelo Quadro 16, que para todos os meses avaliados, os ápices atingiram o ponto de microenxertia mais rapidamente na casa de vegetação, coincidindo com os resultados obtidos para laranjeira ‘Pera Rio’.

Da mesma forma como foi explicado para laranjeira ‘Pera Rio’, presume-se que o desbalanço da relação C/N provocado pelas desfolhas dos ramos, mais a ausência de frutos que poderiam atuar como drenos “fortes”, favoreceram a emissão de brotações mais rápida na casa de vegetação em relação ao campo. É possível também, que a taxa de crescimento dos brotos emitidos tenha sido mais rápida na casa de vegetação que tem temperatura e umidade controladas e com menor variação do que no campo aberto.

QUADRO 16. Tempo médio em dias, para obtenção de ápices caulinares da laranjeira ‘Valência’, com 2 cm de comprimento, após as desfolhas em dois diferentes locais, durante o período de maio a dezembro. UFLA, Lavras-MG, 1992.

	Campo	Casa de vegetação
Tempo (dias)	34,09 b	24,34 a

Médias seguidas pelas mesmas letras na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

6 CONCLUSÕES

Levando-se em consideração as condições em que foi conduzido este experimento, os resultados apresentados permitem as seguintes conclusões:

1) A remoção dos tegumentos das sementes foi o principal fator no desenvolvimento mais rápido do epicótilo dos diferentes porta-enxertos, independente do tipo de meio utilizado.

2) Os melhores tratamentos permitiram obter os micro porta-enxertos aptos para a microenxertia "in vitro", com 21, 24, 27 e 28 dias em média, após a semeadura para 'Cravo', 'Rugoso Nacional', 'Trifoliata' e 'Cleópatra', respectivamente.

3) As desfolhas na casa de vegetação proporcionaram a obtenção mais rápida dos ápices caulinares em relação ao mesmo tratamento no campo para 'Pera Rio' e 'Valência'.

4) Para 'Pera Rio', os melhores tratamentos permitiram obter os ápices caulinares no ponto de microenxertia, com 21 dias após a desfolha em média no campo nos meses de junho e outubro, e com 12 dias após a desfolha em média na casa de vegetação em setembro.

5) Para 'Valência', os melhores tratamentos permitiram obter os ápices caulinares no ponto de microenxertia, com 23 dias após a desfolha no campo em setembro, e com 19 dias após a desfolha em média na casa de vegetação nos meses de junho, outubro e novembro.

6) Para o melhor tratamento da 'Pera Rio' na casa de vegetação, a desfolha feita nove e doze dias após a semeadura "in vitro" das sementes dos limoeiros 'Cravo' e 'Rugoso Nacional', respectivamente permite a sincronização para a microenxertia.

7) Para o melhor tratamento da 'Pera Rio' na casa de vegetação, a desfolha feita 15 dias após a semeadura "in vitro" das sementes do limão 'Trifoliata' e da tangerineira 'Cleópatra' permite a sincronização para a microenxertia.

8) Para o melhor tratamento da 'Valência' na casa de vegetação, a desfolha feita dois e cinco dias após a semeadura "in vitro" das sementes dos limoeiros 'Cravo' e 'Rugoso Nacional', respectivamente, permite a sincronização para a microenxertia.

9) Para o melhor tratamento da 'Valência' na casa de vegetação, a desfolha feita oito dias após a semeadura "in vitro" das sementes do limão 'Trifoliata' e da tangerineira 'Cleópatra' permite a sincronização para a microenxertia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, J.D. **Os citrinos**. 3. ed. Lisboa: Livraria Clássica Editora, 1982. 781p.
- BAPTISTA, C.R.; ROSSETTI, V.; MULLER, G.W.; VEGA, J.; SILVÉRIO, J.L. Microenxertia. In: RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, F.; POMPEU JR., J.; AMARO, A.A. (eds). **Citricultura brasileira**. São Paulo: Fundação Cargill, 1991. v.2, p.763-774.
- BECERRA, S.; GUARDIOLA, J.L. Inter-relationship between flowering and fruiting in sweet orange, c.v. Navelina. In: INTERNATIONAL CITRUS CONGRESS, 6, São Paulo, 1984. **Proceedings ...** São Paulo: International Society of Citriculture, 1987. v.1, p.190-194.
- CALAVAN, E.C.; ROISTACHER, C.N.; NAUER, E.M. Thermoterapy of citrus for inactivation of certain viruses. **Plant Diseases Reporter**, Washington, v.56, p.976-980, 1972.
- CARVALHO, N.M. de, NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1979. 424p.
- CONTINELLA, G.; BUSA, A.; VALENTI, C. Use of citrus shoot-tip grafting (STG) technique in Italy. In: CONGRESSO MUDIAL DE LA ASSOCIACION DE VIVERISTA DE AGRIOS, 1, Valência, 1983. **Proceeding...** Valência: International Society of *Citrus Nurserymen*, 1983, p.135-140.
- DE JUAN, E.G.S. **El cultivo de los agrios**. Madrid: Inst. Nac. de Investigaciones Agronómicas, 1960. p.335-336.
- FERREIRA, J.F. da S. **Efeito de podas para a produção de ramos porta-borbulhas do surto primaveril dos citros**. Lavras:ESAL, 1985. 80p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- FISCHER, J. Youtsey urges growes to buy quality tree. **Citrus Industry**, Bartow, v.3, n.3, p.86-89, mar. 1993.
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Livraria Nobel, 1987. 467p.
- JAMES, W.O. **Introdução à fisiologia vegetal**. 6. ed. Barcelona: Ed. Omega, 1967. 328p.

- JANICK, J. **A ciência da horticultura** (Horticultural Science). Rio de Janeiro: USAID, 1966. 485p.
- JONES, W.N.; PARKER, E.R. Seasonal trends in mineral composition of Valencia orange leaves. **Proceeding of tje American Society for Horticultural Science**, New York, v.57, p.101-103, June 1951.
- KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, T.T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1960. 745p.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, 1980. 245p.
- MAXIMOV, A.N. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Buenos Aires: Aeme Agency, 1948. 433p.
- MOLISCH, H. **Fisiologia vegetal**. 6. ed. Barcelona: Editorial Labor, 1945. 394p.
- MOREIRA, S.; GURGEL, J.T.A.; ARRUDA, L.F. Poliembrionia em citrus. **Bragantia**, Campinas, v.7, n.3, p.69-106, mar. 1947.
- MULLER, G.W.; COSTA, A.S. Doenças causadas por vírus, viróides e similares em citros. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, DF.; POMPEU Jr., J.; AMARO, A.A. (eds.). **Citricultura brasileira**. Campinas:Fundação Cargill, 1991. v.2, p.735-762.
- MURASHIGE, T.; BITTERS, W.P.; RANGAN, T.S.; NAUER, E.M.; ROISTACHER, C.N.; HOLLIDAY, P.B. A technique of shoot apex grafting and its utilization towards recovering virus-free citrus clone. **HortScience**, Alexandria, v.7, n.2, p.118-119, 1972.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for growth and bioassays tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15. n.3, p.473-497, 1962.
- NAVARRO, L. Citrus shoot-tip grafting "in vitro" (STG) and its applications: a review. **Proceedings International Society of Citriculture**, v.1.p.452-456, 1981.
- NAVARRO, L. Citrus sanitation, quarantine and certification programs. **Proceedings of the twelfth Conference of the International Organization of Citrus Virologist**. Riverside: IOCV, 1993. p.383-391.
- NAVARRO, L.; CIVEROLO, E.L.; JUAREZ, J.; GARNSEY, S.M. Improving therapy methods for citrus germplasm exchange. In: CONFERENCE OF INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 11, Orlando, 1989. **Proceedings ...** Riverside: IOVC, 1991. p.400-408.
- NAVARRO, L.; ORTIZ, J.M.; JUAREZ, J. Aberrant citrus plants obtained by embryogenic of nuceli culture "in vitro". **HortScience**, Virginia, v.20, n.2, p.214-215, 1985.

- NAVARRO, L.; ROISTACHER, C.N.; MURASHIGE, T. Effect of size and source of navel orange plants obtained by shoot-tip grafting "in vitro". In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 7, Riverside, 1976. **Proceedings...** Riverside, 1976. p.174-177.
- NAVARRO, L.; ROISTACHER, C.N.; MURASHIGE, T. Improvement of shoot-tip grafting "in vitro" for virus-free citrus. **Journal American Society of Horticultural Science**, Mount, v.100, n.5, p.471-479, 1975.
- OGATA, T. **Influência das cultivares, surtos vegetativo e tamanho das folhas nos teores de nutrientes foliares de citrus**. Lavras: ESAL, 1980. 79p. (Dissertação-Mestrado em Fitotecnia).
- PAIVA, L.V.; SOUZA, M. de. Obtenção de porta-enxertos para a microenxertia em citros. **Ciência e Prática**, Lavras, v.18, n.1, p.76-78, jan./mar. 1994.
- POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JR., J.; AMARO, A.A. (eds). **Citricultura brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.265-280.
- 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. **Anais ...** Recife: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1981. v.2. p.563-568.
- REBOUR, H. **Los agrios: Manual práctico de citricultura**. Madrid: Ed Mundi-Prensa, 1964. 293p.
- REUTHER, W. Climate and citrus behavior. In: REUTHER, W. (ed). **The Citrus Industry**. Riverside, 1973. v.3, cap.9, p.280-337.
- ROISTACHER, C.N.; NAVARRO, L.; MURASHIGE, T. Recovery of citrus selection free of several viruses, exocortis viroid and S. citri by shoot-tip grafting "in vitro". In: CALAVAN, E.C. (ed.). **Proceedings of Seventh Conference the International Organization of Citrus Virologist**. Riverside: IOCV, 1976. p.186-193.
- ROSSETTI, V. Microenxertia em citros. In; RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JR., J.; AMARO, A.A. (eds). **Citricultura brasileira**. São Paulo: Fundação Cargill, 1980. v.2, p.611-621.
- 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.

- SANTOS FILHO, H.P. **Obtenção de plantas matrizes de citros pelo método de microenxertia "in vitro"**. In: SEMANA ESALIANA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DE LAVRAS, 7, Cruz das Almas, 1987. **Palestra...** Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, 1987. 11p.
- SCHNEIDER, H. The anatomy of citrus. In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J. de. (eds). **The Citrus Industry**. Riverside, 1968. v.2, p.1-85.
- SILVA, M.P.F. da. A microenxertia nos citros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.9, n.101, p.42-46, maio, 1983.
- SOUZA, M. de; AQUINO, L.H. de. Germinação das sementes de alguns porta-enxertos de citros tiradas de frutos em diferentes estágios de maturação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 1, Campinas, 1971. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1973. v.1, p.375-401.
- SOUZA, M.de **Efeito de P, K e Ca no crescimento da parte aérea da laranjeira 'Pera Rio' (*Citrus sinensis* L. Osbeck) em latossolo vermelho escuro fase cerrado**. Piracicaba: ESALQ, 1976. 132p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- STREET, H.E.; OPICK, H. **Fisiologia das angiospermas: crescimento e desenvolvimento**. São Paulo: EDUSP, 1974. 332p.
- TEÓFILO SOBRINHO, J. Propagação dos citros. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JR., J.; AMARO, A.A. (eds.). **Citricultura Brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.181-301.
- VASCONCELLOS, J.C.; COUTINHO, M.C.P. **Noções de fisiologia vegetal**. Lisboa: Rep. de Estudos, Informações e propagandas, 1957. 231p.

APÊNDICE

A seguir, estão apresentados os QUADROS das análises de variância e coeficientes de variação para obtenção dos tamanhos ideais de micro porta-enxertos e ápices caulinares, para a microenxertia “in vitro”.



APPENDIX

A series of experiments were conducted to determine the effect of the various factors on the rate of reaction. The results are given in the following table.

QUADRO 1A. Resumo da análise de variância para o epicótilo de diferentes porta-enxertos atingirem o tamanho ideal (5 cm), para a microenxertia "in vitro". UFLA, Lavras-MG. 1991.

CV	GL	QM e significância
Cultivar (C)	3	209,7819**
Sais (S)	1	92,5412**
Tegumento (T)	1	1465,5036**
C x S	3	61,0512**
S x T	1	3,7555
C x T	3	46,9346**
C x S x T	3	156,9347**
Resíduo	48	5,6962
CV (%)		8,66

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

QUADRO 2A. Resumo da análise de variância para o epicótilo de diferentes porta-enxertos atingirem o tamanho ideal (5 cm), para a microenxertia "in vitro". UFLA, Lavras-MG. 1992.

CV	GL	QM e significância
Cultivar (C)	3	1163,7203**
Sais (S)	1	22,4520
Tegumento (T)	1	1333,2411**
C x S	3	34,7111
S x T	1	18,0558
C x T	3	98,9949**
C x S x T	3	19,6319
Resíduo	48	12,9480
CV (%)		10,84

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

QUADRO 3A. Resumo da análise de variância para o epicótilo de diferentes porta-enxertos atingirem o tamanho ideal (5 cm), para a microenxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG. 1993.

CV	GL	QM e significância
Cultivar (C)	3	63,5948**
Sais (S)	1	76,7514**
Tegumento (T)	1	783,1806**
C x S	3	42,0441**
S x T	1	11,7276
C x T	3	33,0295**
C x S x T	3	17,9448**
Resíduo	48	3,5896
CV (%)		6,23

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

QUADRO 4A. Resumo da análise de variância para os ápices caulinares da laranjeira ‘Pera Rio’ atingirem 2 cm de comprimento, após as desfolhas no campo e na casa de vegetação, para a microenxertia “in vitro”. UFLA, Lavras-MG. 1991.

CV	GL	QM e significância
Local (L)	1	26,9351**
Mês (M)	11	2,0670**
L x M	11	0,5360**
Resíduo	120	0,0392
CV (%)		4,14

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

QUADRO 5A. Resumo da análise de variância para período de obtenção dos ápices caulinares da laranjeira 'Valência', após as desfolhas no campo e na casa de vegetação, para a microenxertia "in vitro". UFLA, Lavras-MG. 1992.

CV	GL	QM e significância
Local (L)	1	18,9661**
Mês (M)	7	3,2178**
L x M	7	1,2896**
Resíduo	80	0,0269
CV (%)		3,06

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