INFLUÊNCIA DO SUBSTRATO NA GERMINAÇÃO E NA
EXPRESSÃO POLIEMBRIÔNICA DE SEMENTES
DE *Citrus* spp.

MARIA GLORIA NILO GONZALEZ
Engenheiro-Agrônomo

Orientador: Dr. Celio S. Moreira

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade
de São Paulo, para obtenção do Grau de
Mestre em Fitotecnia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Novembro, 1978

Aos meus pais, SALVADOR E LUISA, que pelo amor e sacrifício
me proporcionaram condições para que eu tivesse um maior
número de oportunidades;

Ao meu esposo LUIS, pelo incentivo constante
espírito de compreensão e amor,

DEDICO ESTE TRABALHO.

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Dr. Celio S. Moreira, pela orientação e atenção dispensada no transcorrer do curso;
- Ao Professor Dr. Cassio Roberto de Melo Godoi, pela colaboração nas análises estatísticas;
- As secretarias Sras. Irani Coelho Minami e Ivette Monteiro de Almeida, pela ajuda prestada nos seus respectivos serviços
- À todos os professores e Funcionários do Setor de Horticul - tura, pela colaboração neste trabalho;
- À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", pela oportunidade de realização do curso;
- À todos os Professores que ajudaram na minha formação;
- Ao Ministerio de Relações Exteriores do Brasil, por ter tornado possível a vinda à Piracicaba;
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (C.N.P.Q.), pela ajuda financeira na realização e publicação desta tese.
- À todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Í N D I C E

	Página
1. RESUMO	1
2. INTRODUÇÃO	4
3. REVISÃO DA LITERATURA	6
3.1. Poliembrionia	7
3.1.1. Número de embriões e plântulas.....	
4. MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1. Materiais	16
4.1.1. Substratos de germinação.....	16
4.1.2. Sementes.....	17
4.2. Métodos.....	17
4.2.1. Obtenção das sementes.....	17
4.2.2. Classificação das sementes.....	18
4.2.3. Preparo dos substratos.....	18
4.2.4. Semeadura.....	19
4.2.5. Condução do experimento.....	19
4.2.6. Germinação em condições controladas..	20
4.2.7. Emergência em condições de casa de ve getação.....	21
4.2.8. Peso da matéria seca.....	21
4.2.9. Altura das plântulas.....	22
4.2.10. Porcentagem de poliembrionia em se - mentes germinadas.....	22
4.2.11. Determinação da poliembrionia por contagem direta de embriões.....	22
4.2.12. Delineamento estatístico.....	23
5. RESULTADOS	26
5.1. germinação.....	26
5.1.1. Porcentagem de germinação.....	26
5.1.2. Velocidade de germinação.....	28
5.1.3. Tempo necessário para germinar o 50% das sementes.....	29

5.2. Emergência.....	30
5.2.1. Porcentagem de emergência.....	30
5.2.2. Velocidade de emergência.....	31
5.2.3. Tempo necessário para emergir plântulas do 50 % das sementes.....	33
5.3. Matéria seca.....	34
5.3.1. Matéria seca das plântulas emergidas no germinador Stultz e desenvolvidas em so lo franco, na casa de vegetação.....	34
5.3.2. Matéria seca das plântulas emergidas e desenvolvidas em dois tipos de substrat os, na casa de vegetação.....	35
5.4. Altura das plântulas.....	37
5.4.1. Altura das plântulas emergidas no germi nador Stultz e desenvolvidas em solo franco, na casa de vegetação.....	37
5.4.2. Altura das plântulas emergidas e desen volvidas em dois substratos, na casa de vegetação.....	37
5.5. Porcentagem de poliembrionia em sementes germi nadas.....	39
5.5.1. Porcentagem de poliembrionia em semen tes germinadas em papel toalha no germi nador Stultz.....	39
5.5.2. Porcentagem de poliembrionia em semen tes germinadas em dois substratos, na casa de vegetação.....	42
5.6. Determinação da poliembrionia por contagem <u>di</u> reta de embriões.....	46
6. DISCUSSÃO.....	47
6.1. Germinação.....	47
6.1.1. Porcentagem de germinação.....	48
6.1.2. Velocidade de germinação.....	48

6.1.3. Tempo necessário para germinar o 50 % das sementes.....	48
6.2. Emergência	50
6.2.1. Porcentagem de emergência.....	50
6.2.2. Velocidade de emergência.....	50
6.2.3. Tempo necessário para plântulas do 50% das sementes.....	51
6.3. Matéria seca.....	52
6.3.1. Matéria seca das plântulas emergidas no germinador Stultz e desenvolvidas em solo franco, na casa de vegetação.	52
6.3.2. Matéria seca das plântulas emergidas e desenvolvidas em dois substratos , na casa de vegetação.....	53
6.4. Altura das plântulas.....	54
6.4.1. Altura das plântulas emergidas no ger minador Stultz e desenvolvidas em so lo franco, na casa de vegetação.....	54
6.4.2. Altura das plântulas emergidas e de - senvolvidas em solo franco e areia , na casa de vegetação.....	54
6.5. Poliembrionia em sementes germinadas.....	55
6.5.1. Poliembrionia em sementes germinadas, no germinador Stultz.....	55
6.5.2. Poliembrionia em sementes germinadas em dois substratos, na casa de vege - tação.....	55
6.6. Poliembrionia por contagem direta de embriões	57
7. CONCLUSÕES.....	60
8. SUMMARY.....	63
9. LITERATURA CITADA.....	66

LISTA DE QUADROS

QUADRO	Página
1 Porcentagem de sementes germinadas de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , após 30 dias no germinador Stultz.....	27
2 Porcentagem de germinação de sementes, de 4 porta-enxertos de <u>Citrus</u> , de 3 tamanhos diferentes, após 30 dias no germinador Stultz	27
3 Médias da velocidade de germinação de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , em germinador Stultz. Expressa em número de sementes germinadas por dia.	28
4 Médias de velocidade de germinação das sementes de 4 porta-enxertos de <u>Citrus</u> , de 3 tamanhos diferentes, no germinador Stultz. Expressa em número de sementes germinadas por dia.....	28
5 Número médio de dias necessários para germinar o 50 % das sementes de <u>Citrus</u> de 3 tamanhos, no germinador Stultz.....	29
6 Número de dias necessários para germinar o 50 % das sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , no germinador Stultz.....	29
7 Número médio de dias necessários para germinar o 50 % das sementes, de 4 porta-enxertos de <u>Citrus</u> , de 3 tamanhos diferentes, no germinador Stultz....	30
8 Porcentagem de emergência de plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , em casa de vegetação.....	30

QUADRO

Página

9	Médias de porcentagem de emergência de plântulas <u>pro</u> venientes de sementes, de 4 porta-enxertos de <u>Citrus</u> de 3 tamanhos diferentes, na casa de vegetação.....	31
10	Velocidade de emergência de plântulas provenientes de sementes de <u>Citrus</u> de 3 tamanhos, em casa de vegetação. Expressa em número de plântulas emergidas por dia.....	31
11	Velocidade de emergência de plântulas provenientes de sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Ci</u> - <u>trus</u> , em casa de vegetação.....	32
12	Médias de velocidade de emergência de plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , em solo franco e areia, em casa de vegetação.....	32
13	Médias de velocidade de emergência de plântulas provenientes de sementes, de 4 porta-enxertos de <u>Citrus</u> , de 3 tamanhos diferentes, em casa de vegetação.....	33
14	Número médio de dias necessários para emergir plântulas de 50 % das sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , em casa de vegetação.....	33
15	Número médio de dias necessários para emergir plântulas de 50 % das sementes, de 4 porta-enxertos de <u>Citrus</u> , de 3 tamanhos diferentes, em casa de vegetação.....	34
16	Peso em gramas de matéria seca das plântulas obtidas de sementes de <u>Citrus</u> de 3 tamanhos, germinadas no germinador Stultz e desenvolvidas em solo franco, em casa de vegetação.....	

QUADRO

Página

17	Peso em gramas de matéria seca obtida de Plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , emergidas no germinador Stultz e desenvolvidas em solo franco, na casa de vegetação.....	35
18	Peso médio, em gramas, de matéria seca das plântulas de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , provenientes de sementes de 3 tamanhos e semeadas em dois tipos de substratos, na casa de vegetação..	36
19	Peso médio, em gramas, da matéria seca obtida de plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> desenvolvidas em dois substratos, na casa de vegetação.....	36
20	Peso médio da matéria seca, em gramas, obtido das plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , provenientes de sementes de 3 tamanhos, na casa de vegetação.....	37
21	Médias da altura, em cm, das plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , desenvolvidas em dois substratos, na casa de vegetação.....	38
22	Médias da altura, em cm, das plântulas emergidas de sementes de <u>Citrus</u> de 3 tamanhos, semeadas em dois substratos, na casa de vegetação..	38
23	Médias da altura, em cm, das plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , emergidas de sementes de 3 tamanhos e desenvolvidas em casa de vegetação.....	39
24	Poliembrionia em sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , germinadas em papel tcalha no	

QUADRO	Página
25 Porcentagem de poliembrionia em sementes de <u>Citrus</u> de 3 tamanhos germinadas no germinador Stultz.....	41
26 Porcentagem de poliembrionia em sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , germinadas no germinador Stultz.....	41
27 Poliembrionia em sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , germinadas em solo franco, na casa de vegetação.....	42
28 Poliembrionia em sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , germinadas em areia, na casa de vegetação.....	43
29 Médias da porcentagem de poliembrionia apresentada pelas sementes de <u>Citrus</u> de 3 tamanhos, semeadas em dois substratos, na casa de vegetação.....	44
30 Médias da porcentagem de poliembrionia apresentada pelas sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , germinadas em dois substratos, na casa de vegetação.....	45
31 Médias da porcentagem de poliembrionia apresentada por sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> , de 3 tamanhos, germinadas em dois substratos, na casa de vegetação.....	45
32 Contagem direta de embriões em sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de <u>Citrus</u> de 3 tamanhos diferentes.....	46

1. RESUMO

A presente investigação foi realizada no Departamento de Agricultura e Horticultura da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo, Brasil. O objetivo foi estudar o efeito do substrato, na germinação e vigor das sementes de 4 porta-enxertos de Citrus, bem como na expressão poliembriônica em sementes germinadas e sem germinar.

Os fatores de variação foram:

- a) substratos: papel toalha (no germinador Stultz), solo franco e areia (na casa de vegetação);
- b) tamanhos de semente: grande, médio e pequeno;
- c) porta-enxertos: 'limão cravo', 'limão volkameriano', 'tangerina cleópatra' e 'laranja caipira'.

O delineamento estatístico utilizado foi o fatorial. Cada tratamento, resultante da combinação dos fatores, constava de 30 sementes e de duas repetições. A comparação entre as médias foi feita pelo teste de Tukey, ao nível de 5.% de probabilidade.

Para a coleta dos dados, empregou-se os seguintes testes: germinação, emergência, matéria seca e altura das plântulas, porcentagem de poliembrionia em sementes germinadas no germinador Stultz e em casa de vegetação, contagem direta de embriões.

O experimento deu-se por encerrado quando as plântulas esgotaram as reservas dos cotilédones.

De acordo com a análise dos dados e a interpretação dos resultados, as conclusões principais foram:

'Limão cravo' e 'limão volkameriano' foram os porta-enxertos mais rápidos em germinar, no germinador e na casa de vegetação.

Na porcentagem de germinação e emergência não houve grandes diferenças entre as cultivares. Somente destacou-se a laranja caipira por ser o porta-enxerto com menor nível de germinação.

As sementes de tamanho grande e médio produziram plântulas de maior peso de matéria seca, no germinador e na casa de vegetação.

'Limão cravo' e 'limão volkameriano' foram os porta-enxertos que obtiveram o maior conteúdo de matéria seca, em ambos locais.

Somente 'tangerina cleopatra' obteve maior quantidade de matéria seca em solo franco. Nos outros porta-enxertos não houve diferenças entre os dois substratos.

Plântulas emergidas no germinador Stultz apresentaram a mesma altura da haste, depois de ter sido desenvolvidas em solo franco.

As plântulas de 'limão cravo' e 'tangerina cleopatra' alcançaram maior altura em solo franco do que em areia. No solo franco 'limão cravo' foi mais alto que tangerina cleopatra' e 'laranja caipira'.

As plântulas provenientes dos três tamanhos de semente em 'limão cravo' e 'limão volkameriano' alcançaram

maior altura que 'tangerina cleopatra' e 'laranja caipira', na casa de vegetação.

Tanto no germinador Stultz quanto na casa de vegetação, a porcentagem de poliembriõnia, determinada em sementes germinadas, foi menor no 'limão cravo' que nos outros 3 porta-enxertos.

Houve tendência a produzir maior número de plântulas nas sementes de maior tamanho.

Na contagem direta de embriões, a porcentagem de poliembriõnia foi maior que em sementes germinadas.

2. INTRODUÇÃO

A Citricultura é uma das principais explorações agrícolas do Estado de São Paulo, onde sua produção ocupa o 11º lugar na renda bruta da agricultura paulista. Com relação ao país, sua importância se faz sentir além de São Paulo, principalmente nas seguintes unidades da Federação: Rio de Janeiro, Minas Gerais e Rio Grande do Sul. (CAMPOS, 1970).

De acordo com relatório da CACEX (1975), o Brasil ocupa o segundo lugar na produção mundial de Citrus e o primeiro como exportador de suco concentrado. O volume de laranjas produzidas na safra 75/76 alcançou 6.299.000 toneladas, ou seja, aproximadamente 20 % da produção mundial. O volume de divisas obtido pela exportação de suco concentrado no ano 1977 foi de 177 milhões de dólares, o que representa acréscimo de 75,46 % com respeito ao ano anterior, apesar de que o volume exportado foi apenas 1,76 % mais alto. (CITRUS, 1978).

Uma atividade agrícola de tal importância econômica, está baseada em tecnologia agrícola bastante desenvolvida. Na região do Estado de São Paulo, muitas pesquisas tem si-

do feitas quanto ao uso de porta-enxertos, sua adaptação a solos e compatibilidade com as cultivares copas.

Há alguns anos atrás foi desenvolvido importante trabalho com poliembrionia em Citrus, por MOREIRA et al. (1947), que juntamente com outros trabalhos tratam do assunto.

A poliembrionia vem adquirindo cada vez maior importância na propagação de Citrus, em decorrência dos estudos de virus e dos trabalhos de clones limpos de virus. Assim, as variações do comportamento copa-cavalo devem ser cada vez mais estudadas.

O estudo da influência do substrato, poderá indicar medidas de cultivo a serem adotadas na cultura, em benefício do comportamento copa-cavalo.

Póde-se supor que em determinadas condições de germinação, haja uma variação na facilidade de germinação ora do embrião nucelar ora do embrião sexual.

O objetivo do presente trabalho, foi verificar a influência de tres tipos de substratos na germinação de sementes e na expressão poliembrionica de quatro cultivares de Citrus, utilizados como porta-enxertos.

A pesquisa proposta poderá esclarecer pontos ainda controvertidos na citricultura, como: obtenção de seedlings nucleares em sementeiras comerciais, relação tamanho da semente e poliembrionia; vigor das plântulas emergentes em sementeiras comerciais de Citrus, influenciado pelo tamanho da semente. • estudo abrangendo quatro cultivares porta-enxerto, permitirá ainda, estudar essas variações comparativamente entre as mesmas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

Um dos problemas que merece cuidadoso estudo , na citricultura, é o que diz respeito a escolha do porta-enxerto. Sua adaptabilidade ao enxerto, ao clima, ao solo, a resistência a molestias e sua influência na produção, tem destacada importância na produtividade.

A muda é a base de toda essa produtividade. Além da combinação enxerto-porta-enxerto ser apropriada, ela deve ser também vigorosa. O padrão da muda e a uniformidade serão condições importantes na formação de um bom pomar. (MOREIRA, 1962).

É desejável que as plântulas, no viveiro, atinjam juntas cada estágio de crescimento, possibilitando assim que as operações sejam simultâneas para todas elas. Isto se logra mediante uma boa seleção das sementes e também utilizando porta-enxertos que apresentem média ou alta taxa de poliembrionia. (PORTO, 1976).

3.1. Poliembrionia

Este fenômeno se caracteriza pelo desenvolvimento de dois ou mais embriões numa semente. Ocorre na maioria das espécies dos gêneros Citrus e Poncirus.

A poliembrionia pode ocorrer nos Citrus, por três processos diferentes:

- a) frequentemente por um processo assexual, a embriõnia nucelar;
- b) ocasionalmente pela divisão do embrião sexual, dando origem por clivagem, a gêmeos idênticos;
- c) raramente, pela ocorrência de mais de um saco embrionário obtendo-se assim dois embriões generativos que podem ou não ser idênticos.

A poliembrionia representa uma parte importante no melhoramento dos Citrus. Desde os memoráveis trabalhos de Strasburguer em 1878, a poliembrionia em Citrus tornou-se um fenômeno bem conhecido. Posteriormente, numerosos pesquisadores procederam trabalhos de citologia e de determinações de poliembrionia em diversos Citrus, podendo-se mencionar entre eles: WEBBER (1932), FROST (1926 e 1938), SWINGLE (1932), TORRES (1932 e 1936), TRAUB (1936), BACCHI (1944), MOREIRA et al. (1947), GURGEL (1952) e outros. As pesquisas relatam observações e sugerem hipóteses em relação às causas e variações encontradas na manifestação deste fenômeno.

Strasburguer foi o primeiro a realizar investigação citológica detalhada sobre o gênero Citrus. Ele não só descreveu o fenômeno da micro e megasporogênese, fertilização e formação do endosperma, como também explicou a origem dos embriões adventícios, primeiramente descobertos por Leeuwenhoek, em 1719. (BACCHI, 1944).

Conforme esclarece MOREIRA et al. (1947) a poliembrionia nos Citrus é, de um modo geral, devida ao crescimento de células nucelares situadas na superfície do saco embrionário. Aproximadamente ao mesmo tempo em que ocorre a

primeira divisão do ovo, uma ou mais células nucleares podem começar também a se dividir, produzindo massas celulares que crescem para o interior do saco embrionário e formam embriões. Não se pode dizer se cada grupo de células iniciais já corresponde a um só embrião nuclear ou se há ainda divisões secundárias. Também parece que não há uma absoluta limitação a uma ou outra região predeterminada do saco embrionário, apesar de se afigurar existir intensidade mais acentuada nas regiões do nucelo adjacente a parte micropilar onde está localizada a oosfera.

O desenvolvimento dos diversos embriões nucleares também não parece sincronizado, e o fato de aparecerem em sementes maduras embriões grandes e pequenos, pode em parte ser explicado pela maior ou menor precocidade do seu desenvolvimento.

Como na embrionia nuclear não há intervenção do nucelo da célula sexual masculina, os embriões se formam apenas por divisão mitótica das células nucleares, e as plantas que deles nascem são geneticamente iguais a planta mãe, não havendo alternância de geração.

Frost em 1926 e 1938 encontrou entre 1.200 híbridos, 10 casos em que plântulas aparentemente idênticas, provinham de uma mesma semente. Para explicar a origem de tais gêmeos propôs a hipótese da "poliembionia por clivagem". Casos semelhantes foram encontrados por Traub e Robinson em 1937, que de 782 sementes provenientes do cruzamento entre limão (C. limon (L.) Burm.) e Poncirus trifoliata, 16 produziram duas plântulas híbridas, uma produziu três e, uma outra, quatro híbridos. (BACCHI, 1944).

Segundo FROST (1926) os embriões sexuais são menos vigorosos do que os embriões apogâmicos.

WEBBER (1932) afirma que o embrião sexuado frequentemente não se desenvolve, devido à competição com os nucleares, ou inexistente devido a falta de fecundação ou ainda

por alguma outra causa. Nestas circunstâncias todos os embriões da semente são apogâmicos. Este mesmo autor assinala que as plântulas de embriões apogâmicos não podem ser distinguidas das verdadeiras híbridas, nos estádios iniciais, a menos que tenham alguma característica diferencial.

Pondera também esse autor que, se as plântulas pequenas de uma sementeira fôsem eliminadas, talvez 80 a 85% das plântulas de origem sexual seriam descartadas mas, juntamente, um considerável número de plântulas apogâmicas também o seriam.

A variabilidade do número de embriões nas sementes tem sido observada por muitos autores e parece que os fatores responsáveis por essa variação são muito diversos, além da constituição genética das cultivares ou espécies. Traub (1936) mencionado por MOREIRA et al. (1947), registrou correlação entre poliembrionia e alimentação, devendo-se admitir, a influência do meio sobre a manifestação desse fenômeno.

Devido ao fato de cada saco embrionário conter uma só oosfera, era de se esperar, no máximo, um embrião sexual por semente, porém BACCHI (1944) observou a ocorrência de dois gametófitos num mesmo óvulo, num corte feito em ovário de pomelo 'Foster'.

Toxopeus em 1936, segundo citação de FROST e SOOST (1968), mencionam três fatores desfavoráveis aos embriões zigóticos:

- a) no material por ele examinado, a célula ovo fecundada começava a dividir-se quando a maioria dos embriões nucelares tinham várias células;
- b) o jovem embrião zigótico localizado perto de ápice do saco embrionário, parece menos favoravelmente localizado que os embriões nucelares, com respeito tanto ao transporte de nutrientes pelo sistema vascular quanto a oportunidade de ocupar espaço dentro do saco embrionário;
- c) a maior parte das plântulas zigóticas são de constituição genética mais fraca do que suas respectivas nucelares. Dentre os embriões zigóticos, os que sobrevivem para produzir

plântulas, são provavelmente os mais vigorosos.

Tem-se observado que quanto menor seja o número de embriões por semente, o tamanho médio deles aumenta, e maior é a probabilidade de sobrevivência dos híbridos. (Sokol'skaja em 1938 e Majsuradza em 1961, citados por FROST e SOOST, 1968).

Um dos trabalhos mais completos realizados em poliembrionia de Citrus foi o de MOREIRA et al. (1947), no qual foram feitas uma série de observações:

- a) o grau de poliembrionia pode variar de semente para semente, de fruto para fruto, de árvore para árvore e de ano para ano;
- b) existe correlação entre o aspecto externo da semente e o número de embriões presentes. Assim, tem-se que quanto menos lisa a superfície da semente, maior é sua taxa poliembriônica;
- c) existe competição entre o único embrião sexual e os numerosos embriões nucelares. Esta observação já tinha sido feita por Strasburger em 1978, pelo método de observação microscópica;
- d) as sementes monoembriônicas ou de poliembrionia muito baixa têm embrião com cotilédones muito desenvolvidos, mas na medida em que aumenta o grau de poliembrionia, a porcentagem de embriões grandes decresce.

e) Para determinar a distribuição e frequência da poliembrionia nas diferentes espécies de Citrus, eles usaram dois métodos: contagem de embriões nas sementes antes do início da germinação, também chamado método direto, e contagem de embriões germinados. Aqueles autores também observaram que o número médio de plântulas emergidas é comumente menor que o número total de embriões. As plântulas desenvolvem-se dos embriões maiores.

É muito importante saber diferenciar, no viveiro as plântulas nucelares das híbridas. A distinção pode ser feita

ta de dois modos:

- a) sabendo-se que os embriões adventícios são mais vigorosos que os sexuais, pôde-se juntamente com outros caracteres morfológicos, separar com relativa facilidade, plântulas o riginárias dos embriões sexuais e dos adventícios. Esta possibilidade já foi utilizada por Torres em 1936, segundo citação de GURGEL (1952);
- b) pode-se lançar mão de um gen marcador para identificar a plântula originária do embrião sexual. Utiliza-se o gen do minante das flhas tripartidas do Poncirus trifoliata que produz híbridos férteis com o gênero Citrus.

Uma aplicação da poliembrionia em citricultura é a formação do clone nucelar. MOREIRA (1962) considera, nesse trabalho, os clones nucleares a única base sólida para uma ci tricultura vigorosa e lucrativa.. As razões são as seguintes:

- a) as plântulas nucleares reproduzem as características da planta mãe;
- b) as plantas formadas à partir da semente, não são portadoras dos vírus existentes na planta mãe;
- c) os clones nucleares possuem maior vigor e rusticidade que os clones velhos.

KAPANADZE (1967) in Plant Breeding Abstracts , pensa que a poliembrionia nucelar seja o resultado da evolução adaptativa causada por administração inadequada de água que se expressa como uma mudança para reprodução assexual por duplicação do tecido micropilar, quando a formação de uma geração sexual é impossível.

IWAMASA et al. (1967) examinaram mediante contagem de embriões em sementes maduras, o grau de poliembriõ - nia de 220 híbridos e também de seus polinizadores. Os resultados obtidos confirmaram observações já feitas por outros in vestigadores, no sentido de que um gen dominante controla a o corrência de poliembrionia; que um gen recessivo está presente na condição homozigota, e também que a presença de outros

genes afetam o grau de poliembriõnia. FURASATO et al (1968), RUSSO e STARRANTINO (1972) fizeram cruzamentos entre espécies e cultivares poliembriônicas e confirmaram a dominância genética da poliembriõnia. Eles também observaram que algumas espécies poliembriônicas são homozigotas e outras heterozigotas para este caracter.

UENO et al. (1967) fizeram contagem de embriões em sementes de 108 cultivares do gênero Citrus, 5 cultivares do gênero Fortunella, 1 do Poncirus e 2 híbridos intergenéricos. Eles observaram no extremo micropilar, um grande número de embriões pequenos, esféricos junto ao nucelo desenvolvido. As células do nucelo dessas cultivares podem continuar desenvolvendo embriões por algum tempo, induzindo assim, o alto grau de poliembriõnia. Nas cultivares com baixa porcentagem de poliembriõnia as células nucelares pareciam cessar seu desenvolvimento e desapareciam antecipadamente.

UENO e NISHIURA (1969) estudaram a influência das condições ambientais no número de embriões desenvolvidos nas sementes. Observaram que para as condições de Japão, ao polinizar Citrus madurensis com Natsudaidai, o número de embriões desenvolvidos foi significativamente mais alto em sementes oriundas de flores desenvolvidas em maio, do que de flores de setembro. Supõem que a causa provável foi a das baixas temperaturas, que impediram nas flores de setembro a continuação da divisão celular do nucelo.

Por outra parte, Furasato et al. em 1955, citado por FROST e SOGST (1968), informaram que o maior número de embriões por semente, foi encontrado no lado norte das árvores mais velhas.

Os embriões extras em Citrus não somente podem-se formar do nucelo, como também das sinérgidas. SHOLOKHOVA (1970) fez essa observação ao polinizar com Poncirus trifoliata: C. unshi, C. ichangensis e C. grandis, obtendo sementes poliembriônicas em todas as combinações, independentemente do polinizador utilizado.

CHOWDHURY e MITRA (1973) sugeriram que a poliembria pode ter relação com concentração de aminoácidos. Assim, eles acharam glicina, fenilalanina, lisina e treonina em C. maxima (monoembriônica); triptofano, ácido aspártico, leucina e treonina em C. aurantifolia (poliembriônico); asparagina, tirosina, ácido glutâmico, alanina e arginina em C. sinensis (altamente poliembriônico).

3.1.1. Número de embriões e plântulas.

Os embriões numa semente poliembriônica, a miúdo, diferem muito em tamanho e forma. O número médio de plântulas produzido por semente, é comumente muito menor que o número total de embriões, e as plântulas são, sem dúvida derivadas, principalmente, dos embriões comparativamente maiores. Algumas cultivares têm alta poliembria, porém, poucas vezes uma semente produz mais de 2 ou 3 plântulas. Daí a diferença que se nota quando se utilizam os métodos de germinação da semente e também o da contagem direta de embriões. (MOREIRA et al. 1947, FROST e SOOST, 1968).

FROST (1926) verificou que os limões verdadeiros 'Eureka' e 'Lisboa' apresentam baixa poliembria, com apenas um embrião na maioria das sementes, e pequena porcentagem de embriões nucelares. No C. aurantium L. a proporção de plântulas nucelares foi alta.

Estudando o fenômeno da poliembria em laranjas doces (C. sinensis, Osb.), MOREIRA et al. (1947), assinalam que o número de embriões por semente foi de 1,3; 1,4 e 2,0 respectivamente. Aqueles autores estudando a frequência de poliembria em diversas espécies e híbridos, encontraram os seguintes resultados:

- Papeda (C. hystrix D.C.) foi a única espécie cujas sementes mostraram ser sempre monoembriônicas;
- Toronjas (C. grandis Osb.) mostraram-se monoembriônicas;
- Laranja azeda (C. aurantium L.) apresentou uma porcentagem de poliembria variando de 36 a 64,6 % e um número médio

de embriões por semente, de 1,6;

- Limão cravo (C. limonia, Osb.) mostrou baixa e constante porcentagem de poliembrionia, ao redor de 8,0 %, e número médio de embriões de 1,1 ;
- Nas laranjas doces (C. sinensis, Osb.) encontraram representantes de alta poliembrionia (laranja macaé, mangara-tiba, seleta amarela, e São Sebastião), com uma porcentagem superior ao 40 %; de média poliembrionia (laranja caipira, abacaxi, coronel e sanguinea) com 15 a 30 %; e de baixa poliembrionia (laranja Setubal e açoriana) com menos de 15 %.

MONTENEGRO (1958) cita que a média de embriões em laranja doce (C. sinensis, Osb.) é de 4,5 e que as tangerinas (C. reticulata Blanco) produzem número variável (1 a 20) de embriões nucelares e zigóticos por semente.

Segundo FROST e SOOST (1968), as tangerinas incluindo-se as cultivares 'Dancy', 'Ponkan', 'Willow leaf' e 'Satsuma', apresentam numerosos embriões e elevada proporção de plântulas nucelares.

SALIBE (1972) estudando a poliembrionia em limão cravo' e 'limão volkameriano' constatou os seguintes valores médios: para 'limão cravo' 49,6 % de poliembrionia e 1,7 embriões por semente, e para 'limão volkameriano', 50 % de poliembrionia com 1,6 embriões por semente.

THAKUR e BAJWA (1971) estudando a poliembrião - nia em algumas espécies e cultivares de Citrus, acharam o maior número de embriões por semente, em mandarina 'Emperor' e laranja doce 'Jaffa', sendo que em toronja encontraram o menor número de embriões. Ao mesmo tempo, eles observaram que o número de embriões estava diretamente relacionado com seu tamanho.

SINGH (1971) tentando diferenciar as sementes monoembriônicas das poliembriônicas, pelo tamanho e densidade relativa delas, não acharam diferenças que permitissem utili-

zar esses padrões como meio de seleção. Eles também cultivaram embriões de C. karna em vários meios. Os embriões com mais de 0,4 cm. de comprimento germinaram com maior sucesso, sendo o papel filtro úmido o melhor meio de cultivo, mas o crescimento posterior foi melhor em vermiculita.

PORTO (1976) observou que o potencial poliembriônico do 'limoeiro cravo' (C. limonia, Osbeck), foi maior quando as sementes germinaram em germinador Stultz, do que germinadas em condições de campo (em sacos plásticos, em alfobre ou em areia).

PORTO e MOREIRA (1977) fizeram uma investigação que teve por objetivo estudar a influência do tamanho da semente de 'limão cravo' na viabilidade, poliembrionia e desenvolvimento das plântulas até atingirem o estágio de repicagem. Os testes sobre viabilidade e expressão de potencial poliembriônico, foram efetuados em condições de campo e em germinador Stultz. As sementes retidas em peneiras do tipo 11 x 3/4 e 10 x 3/4 (grandes), apresentaram maior taxa de poliembrionia, tanto no germinador quanto no campo.

As sementes do tipo 11 x 3/4, após 90 dias de semeadura, apresentaram uma média de 1,41 plântulas emergidas por cada semente, diferindo estatisticamente dos demais tamanhos de semente.

Com relação à altura da haste, a partir do colo, somente houve diferença estatística entre as plântulas originadas de sementes dos tamanhos 8 x 3/4 e 11 x 3/4. Attingiram maior desenvolvimento as plântulas oriundas de sementes do tamanho 8 x 3/4.

4. MATERIAIS E METODOS

4.1. Materiais

4.1.1. Substratos de germinação.

Todas as espécies e cultivares de Citrus que se utilizaram, foram testadas em três tipos de substratos de germinação, de modo a oferecer diferentes condições à germinação. São eles:

- solo franco de alfobre
- areia lavada
- papel toalha, marca Xuga

Um dos ensaios foi instalado em casa de vegetação no Setor de Horticultura e o outro no germinador (marca Stultz) do Laboratório de Sementes, Setor de Agricultura e Horticultura da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil.

4.1.2. Sementes.

As sementes de Citrus utilizadas nos experimentos são de 4 cultivares porta-enxertos dentre os recomendados pelo Instituto Agronômico de Campinas para a citricultura:

- a) Limão cravo (Citrus limonia, Osbeck)
- b) Limão volkameriano (Citrus volkameriano, Pasq.)
- c) Tangerina cleópatra (Citrus reticulata, Blanco)
- d) Laranja caipira (Citrus sinensis (L.) Osbeck)

4.2. Métodos

4.2.1. Obtenção das sementes.

Os frutos de 'limão cravo', 'limão volkameriano' e 'laranja caipira', foram colhidos de árvores da Estação Experimental de Limeira de Instituto Agronômico de Campinas, enquanto que os frutos de 'tangerina cleópatra' foram colhidos das árvores da coleção da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Foram utilizados frutos maduros e representativos da cultivar, e colhidos de árvores sadias, vigorosas e bem desenvolvidas.

Não foi feita polinização controlada para produção de sementes.

Depois de realizada a colheita dos frutos, no dia seguinte, procedeu-se à extração das sementes, a qual foi feita em forma manual, mediante corte superficial da casca com faca. Logo após, as duas metades foram separadas por torção e, a seguir, espremeu-se manualmente o fruto, deixando cair as sementes junto ao suco numa lata, onde fermentou por aproximadamente 3 dias, a fim de facilitar por lavagem em água a separação da mucilagem que envolve a semente.

4.2.2. Classificação das sementes por tamanho.

As sementes lavadas foram secadas à sombra sobre papel e então classificadas segundo o tamanho; com auxílio de um jogo de peneiras de perfuração circular, separando-as em 3 tamanhos.

As sementes de tamanho muito grandes e as de tamanho muito pequeno, quando ocorreram em quantidades diminutas, foram eliminadas. Elas foram separadas por peneiras de diâmetros não consecutivos, de modo a permitir melhor caracterização do tamanho da semente.

Como as sementes em estudo apresentaram tamanhos muito diferentes entre as 4 cultivares, não foi possível escolher os mesmos 3 tamanhos para os 4 porta-enxertos.

Na seleção por tamanho foram usadas:

- para 'limão cravo', aquelas sementes que ficaram retidas nas peneiras números 13, 11 e 9, cujos diâmetros de furo eram , respectivamente, 13/64, 11/64 e 9/64 de polegada;
- para 'tangerina cleópatra' e 'limão volkameriano', aquelas sementes que ficaram retidas nas peneiras número 15, 13 e 11 respectivamente, de diâmetros iguais a 15/64, 13/64 e 11/64 de polegada;
- para 'laranja caipira', as sementes que ficaram retidas nas peneiras de números 18, 16 e 14, cujos diâmetros de furo eram 18/64, 16/64 e 14/64 de polegada.

Depois de feita a classificação por tamanho às sementes foram tratadas com o fungicida Thiram (Rhodiauram, nome comercial) na doses de 00015 gramas por grama de semente.

4.2.3. Preparo dos substratos

Para a preparação do solo franco de alfobre misturou-se uma parte de areia, uma parte de terriço e uma parte de terra argilosa vermelha. Com esta mistura encheram-se 12 caixas plásticas (cujas dimensões eram 0,40 m. de comprimento, 0,29 m. de largura e 0,10 m. de altura), com furos no fundo pa

ra drenagem da água de irrigação. Cada caixa foi dividida ao meio com uma tábua fina, servindo assim, para duas repetições.

Foi utilizada também areia lavada de rio, sem qualquer preparo, com a que foram cheias igualmente 12 caixas. Tanto os tratamentos em solo franco quanto em areia, foram instalados na casa de vegetação.

O terceiro substrato de germinação utilizado, foi o papel toalha marca Xuga, o qual foi previamente lavado em água corrente por 24 horas.

4.2.4. Semeadura.

As caixas contendo o substrato solo franco e areia, foram colocadas na casa de vegetação e aí permaneceram durante todo o tempo que durou o ensaio. As sementes em número de 30 em cada repetição e tratamento, foram colocadas para germinar nesses substratos a uma profundidade de 1,5 cm, distando 3 cm uma da outra em cada linha, e 4 cm. uma linha da outra. A temperatura durante o tempo que decorreu da semeadura até a retirada das plântulas, variou entre 19,3°C (mínima) e 42,6°C (máxima). A umidade relativa oscilou ao redor de 72 %.

No terceiro substrato, papel toalha umedecido, as 30 sementes de cada repetição foram distribuídas, com um contador de sementes, sobre duas folhas. Após isso, foram cobertas com uma terceira folha de papel umedecido, e depois enroladas e colocadas no germinador Stultz a 30°C e umidade relativa superior a 90 %.

4.2.5. Condução do experimento

Logo após a semeadura no solo franco e na areia, os cuidados se consistiram em irrigação, com irrigador de crivos finos, feita diariamente. O controle de ervas daninhas se realizou manualmente.

Não foi feita adubação e quando as plântulas tinham as reservas dos cotilédones esgotados, o que se mani -

festava por sintomas de deficiência nutricional, elas foram desplantadas. Isso acontecia quando tinham 5 ou 6 folhinhas. Este estágio de desenvolvimento foi alcançado aos 61 dias de pois da sementeira, para 'limão cravo' e 'limão volkameriano' no solo franco; e para 'limão cravo', 'limão volkameriano' e 'tangerina cleópatra' em areia. Nas demais cultivares ocorreu aos 66 dias. Depois de desplantadas, elas foram levadas para o laboratório para se fazer a determinação da matéria seca.

As sementes do substrato papel toalha após germinarem no germinador Stultz e apresentando o primeiro par de folhas, o que ocorreu aos 30 dias, foram plantadas em solo franco na casa de vegetação. Elas foram mantidas aí para se desenvolverem até o esgotamento das reservas dos cotilédones. A desplantação destas plântulas foi feita aos 69 dias após a sementeira, no caso de 'limão volkameriano' e aos 84 dias após a sementeira, no caso de 'limão cravo' 'tangerina cleópatra' e 'laranja caipirã'.

Na sementeira feita na casa de vegetação, a emergência das primeiras plântulas começou aos 26 dias nos dois substratos. Após a emergência ocorreu ataque de fungos em alguns tratamentos, sendo necessário o seu controle. Primeiramente usou-se Difolatan (70 %) na doses de 2,4 cc. por litro de água e, posteriormente, mudou-se para PCNB (70 %). Este produto foi aplicado em três oportunidades, a cada 7 dias, em proporção de 3,5 gramas de ingrediente ativo por 10 litros de água.

Durante o decorrer do ensaio foram feitos os seguintes testes:

4.2.6. Germinação em condições controladas.

Utilizou-se como substrato o papel toalha marca Xuga, o qual foi previamente lavado em água corrente, durante 24 horas. O germinador marca Stultz foi regulado para temperatura constante de 30°C e umidade superior a 90%. As

leitura das plântulas normais (desenvolvimento normal de ra dícula e plúmula) foram feitas aos 10, 15, 20, 25 e 30 dias a pós a instalação do teste.

Com os dados obtidos determinou-se porcentagem de sementes germinadas em cada repetição, velocidade de germinação e tempo necessário para germinar o 50 % das sementes de cada repetição.

A velocidade de germinação calculou-se de acordo com fórmula de MAGUIRE (1962).

4.2.7. Emergência em condições de casa de vegetação.

A capacidade de emergência foi avaliada pela velocidade de emergência das plântulas, segundo MAGUIRE (1962)

Utilizou-se como substrato o solo franco e a areia. Igual ao teste de germinação cada repetição continha 30 sementes. A partir da emergência das primeiras plântulas, foram efetuadas contagens diárias das plântulas emergidas, até que esse número se mantivesse constante, o que ocorreu entre 51 e 62 dias após a instalação do teste.

Considerou-se emergida quando na plântula era possível distinguir as primeiras duas folhinhas.

Determinou-se também porcentagem de emergência e tempo necessário para emergir plântulas do 50 % das sementes.

4.2.8. Peso da matéria seca.

Utilizaram-se para esta determinação, tanto as plântulas emergidas no germinador e desenvolvidas em solo franco em casa de vegetação, como aquelas emergidas e desenvolvidas nos dois substratos na casa de vegetação.

As plântulas foram desplantadas, no momento em que deixaram de se alimentar dos cotilédones. Depois de colhidas as plântulas, foram colocadas em estufa a 50°C e secadas até que seu peso se mantivesse constante.

4.2.9. Altura das plântulas.

As plântulas foram medidas no seu máximo desenvolvimento, antes de serem colocadas na estufa para a determinação do peso da matéria seca.

A altura foi medida à partir do colo da plântula até a extremidade superior da haste, e com auxílio de uma regua.

Este é mais um dado a completar a avaliação do vigor das plântulas.

4.2.10. Porcentagem de poliembryonia em sementes germinadas.

Na última contagem do teste de germinação e do teste de emergência, contou-se o número de embriões germinados em cada semente e calculou-se a porcentagem de poliembryonia. No germinador Stultz a contagem foi feita após 30 dias da instalação do teste, e na casa da vegetação a contagem foi feita decorridos 51 a 62 dias da semeadura. Nessas épocas a quase totalidade das sementes haviam germinado.

4.2.11. Determinação da poliembryonia por contagem direta de embriões.

Para conhecer o número absoluto de embriões existentes em cada tamanho de semente, foi determinado o número de embriões por contagem direta na semente.

Para isso retirava-se os integumentos, expondo-se os embriões. Em seguida, com o auxílio de uma lupa binocular, utilizando aumentos de 4 e 10 vezes, ia-se, com uma pinça desmontando a semente e separando-se os embriões. Dessa forma obteve-se por contagem direta, o número de embriões por semente.

As sementes destinadas a fazer o número de embriões por contagem direta, foram conservadas em agar-agar,

para provocar o entumecimento delas e facilitar a operação. Como o trabalho tomou largo tempo, algumas sementes tornaram-se imprestáveis para essa determinação; assim o número de sementes utilizadas foi variável. Em um dos tamanhos de semente de 'limão volkameriano' não foi possível fazer-se essa determinação, pues todas as sementes estavam imprestáveis.

4.2.12. Delineamento estatístico.

A análise estatística foi feita, considerando os tratamentos do germinador, como um experimento, e aqueles reunidos na casa de vegetação, como outro experimento. Eles foram designados, respectivamente, como experimento nº1 e experimento nº2.

Foram estudados os fatores tamanhos de semente (T) e cultivar porta-enxerto (P) nos dois experimentos. No experimento nº 2, feito na casa de vegetação, foi também estudada a influência do substrato (S).

Os níveis em que atuava cada fator, foram:

- = porta-enxerto 'limão cravo'
- = porta-enxerto 'limão volkameriano'
- porta-enxerto 'tangerina cleópatra'
- porta-enxerto 'laranja caipira'
- = semente de menor tamanho
- = semente de tamanho médio
- = semente de maior tamanho

- S_f = solo franco
- S_a = areia
- S_t = papel toalha marca Xuga

O delineamento estatístico utilizado para a análise dos dois experimentos, foi o de fatorial inteiramente casualizado, com duas repetições. No experimento nº 1 utilizou-se o fatorial 4 x 3, e no experimento nº 2, o fatorial 4 x 3 x 2.

No experimento nº 1, onde foram estudados quatro (4) porta-enxertos e três (3) tamanhos de sementes, o esquema de análise é o seguinte:

Fonte de variação	G.L.
Porta-enxertos (P)	3
Tamanhos (T)	2
P x T	6
Resíduo	12
Total	23

Neste caso o número de tratamentos foi de (3 x 4) 12 tratamentos com duas repetições e (12 x 2) 24 parcelas.

A combinação de fatores e níveis dá como resultado os seguintes tratamentos:

$P_{Cr}^{T_1}$	$P_V^{T_1}$	$P_{Cl}^{T_1}$	$P_{Ca}^{T_1}$
$P_{Cr}^{T_2}$	$P_V^{T_2}$	$P_{Cl}^{T_2}$	$P_{Ca}^{T_2}$
$P_{Cr}^{T_3}$	$P_V^{T_3}$	$P_{Cl}^{T_3}$	$P_{Ca}^{T_3}$

No experimento nº 2 foram estudados os mesmos quatro (4) porta-enxertos, os mesmos três (3) tamanhos de semente, em dois (2) substratos de germinação. O esquema de análise está na folha seguinte.

Fonte de variação	G.L.
Porta-enxertos (P)	3
Tamanhos (T)	2
Substratos (S)	1
S x P	3
S x T	2
T x P	6
S x T x P	6
Resíduo	24
<hr/>	
Total	47

Neste caso o número de tratamentos foi de (4 x 3 x 2) 24 com duas repetições, ou seja (24 x 2) 48 parcelas.

A combinação dos fatores e níveis deu como resultado os seguintes tratamentos:

$P_{Cr}T_1S_f$	$P_VT_1S_f$	$P_{Cl}T_1S_f$	$P_{Ca}T_1S_f$
$P_{Cr}T_2S_f$	$P_VT_2S_f$	$P_{Cl}T_2S_f$	$P_{Ca}T_2S_f$
$P_{Cr}T_3S_f$	$P_VT_3S_f$	$P_{Cl}T_3S_f$	$P_{Ca}T_3S_f$
$P_{Cr}T_1S_a$	$P_VT_1S_a$	$P_{Cl}T_1S_a$	$P_{Ca}T_1S_a$
$P_{Cr}T_2S_a$	$P_VT_2S_a$	$P_{Cl}T_2S_a$	$P_{Ca}T_2S_a$
$P_{Cr}T_3S_a$	$P_VT_3S_a$	$P_{Cl}T_3S_a$	$P_{Ca}T_3S_a$

5. RESULTADOS

5.1. Germinação

5.1.1. Porcentagem de germinação.

O estudo estatístico dessas porcentagens de germinação, pelo teste de Tukey, mostrou existir diferenças significativas, ao nível de 5 %, entre as cultivares, conforme observa-se na Tabela 1.

O tamanho da semente não teve influência na porcentagem de germinação.

TABELA 1. Porcentagem de sementes germinadas de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, após 30 dias no germinador Stultz.

Cultivar	médias (1)
limão cravo	94,98 a
limão volkameriano	91,08 a
tangerina cleópatra	76,08 b
laranja caipira	43,86 c

5 % = 11,25

C.V. = 8,58

(1) as médias seguidas por letras diferentes apresentam diferença significativa, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

= diferença mínima signifivativa.

Na análise estatística das médias de porcentagem de germinação, observou-se também interação entre tamanhos de semente e cultivares de porta-enxerto.

TABELA 2. Porcentagem de germinação de sementes, de 4 porta-enxertos de Citrus, de 3 tamanhos diferentes, após 30 dias no germinador Stultz.

	'l. cravo'	'l. volkam.'	't. cleopat'	'l. caip.'
T ₃	96,65 a	88,30 ab	78,30 ab	46,65 bc
T ₂	98,30 a	93,30 ab	69,94 b	51,65 bc
T ₁	90,00 ab	91,65 ab	80,00 ab	33,30 c

5 % = 26,09

C.V. = 8,58

5.1.2. Velocidade de germinação

A análise de variância não revelou valor de F significativo ao nível de 5 % para tamanhos de semente.

Na Tabela seguinte apresenta-se a comparação das médias de velocidade de germinação de sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus e suas respectivas significâncias estatísticas.

TABELA 3. Médias de velocidade de germinação de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, em germinador Stultz. Expressa em número de sementes germinadas por dia.

Cultivar	médias
limão volkameriano	1,86 a
limão cravo	1,57 a
tangerina cleópatra	0,99 b
laranja caipira	0,59 c

$$5 \% = 0,33$$

$$C.V. = 15,52$$

Além da diferença encontrada entre cultivares, a análise estatística mostrou interação entre as 4 cultivares e os 3 tamanhos de semente.

TABELA 4. Médias de velocidade de germinação das sementes, de 4 porta-enxertos de Citrus, de 3 tamanhos diferentes, no germinador Stultz. Expressa em número de sementes germinadas por dia.

	'l. cravo'	'l. volkam.'	't. cleóp.'	'l. caipira'
T ₃	1,62 abcd	1,76 ab	0,97 cde	0,54 e
T ₂	1,47 abcd	1,84 ab	0,92 de	0,58 e
T ₁	1,63 abcd	1,97 a	1,09 cde	0,66 e

$$5 \% = 0,77$$

5.1.3. Tempo necessário para germinar o 50 % das sementes.

A análise estatística mostrou, pelo teste de Tukey, influência significativa dos tamanhos de semente e das cultivares.

TABELA 5. Número médio de dias necessários para germinar o 50 % das sementes de Citrus de 3 tamanhos, no germinador Stultz.

Tamanhos	médias
T ₃	22,18 a
T ₂	21,00 a
T ₁	18,87 b

$$5 \% = 1,66$$

$$C.V. = 6,02$$

TABELA 6. Número médio de dias necessários para germinar o 50 % das sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, em germinador Stultz.

Cultivar	média
laranja caipira	28,50 a
tangerina cleópatra	24,25 b
limão cravo	15,33 c
limão volkameriano	14,66 c

$$5 \% = 2,13$$

$$C.V. = 6,02$$

Houve também interação entre tamanhos de semente e cultivares de porta-enxerto.

TABELA 7. Número médio de dias necessários para germinar o 50 % das sementes, de 4 porta-enxertos de Citrus, de 3 tamanhos diferentes, no germinador Stultz.

	'l. cravo'		'l. volkam.'		't. cleóp.'		'l. caipira'
T ₃	17,00	c	16,00	c	24,75	b	31,00 a
T ₂	13,50	c	15,00	c	25,50	b	30,00 ab
T ₁	15,50	c	13,00	c	22,50	b	24,50 b

$$5 \% = 4,95$$

$$C.V. = 6,02$$

5.2. Emergência

5.2.1. Porcentagem de emergência

Mediante o teste de Tukey, não se observou diferenças significativas entre os substratos nem entre os tamanhos de semente, sendo que somente o fator cultivar mostrou influência.

TABELA 8. Porcentagem de emergência de plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, em casa de vegetação

Cultivar	médias	
limão cravo	93,86	a
limão volkameriano	93,84	a
tangerina cleópatra	88,30	a
laranja caipira	73,30	b

$$5 \% = 9,23$$

$$C.V. = 9,39$$

A análise estatística mostrou interação entre tamanhos de semente e porta-enxertos. O estudo dessa interação é apresentado na Tabela 9, abaixo.

TABELA 9. Médias da porcentagem de emergência de plântulas provenientes de sementes, de 4 porta-enxertos de Citrus de 3 tamanhos diferentes, na casa de vegetação.

	'l. cravo'	'l. volkam.'	't. cleóp.'	'l. caipira'
T ₃	95,80 ab	82,47 abcd	90,77 abcd	71,65 d
T ₂	91,65 abcd	93,32 abc	98,30 a	75,80 bcd
T ₁	94,15 ab	89,12 abcd	92,47 abcd	72,47 c

5 % = 20,91

C.V. = 9,39

5.2.2. Velocidade de emergência

No estudo estatístico das médias de velocidade de emergência, achou-se diferenças significativas por influência dos tamanhos de semente e das cultivares. Também houve interação entre substratos de germinação e cultivares; entre tamanhos de semente e cultivares.

TABELA 10. Velocidade de emergência de plântulas provenientes de sementes de Citrus de 3 tamanhos, em casa de vegetação. Expressa em número de plântulas emergidas por dia.

Tamanhos	médias
T ₃	0,73 a
T ₂	0,82 b
T ₁	0,76 a b

5 % = 0,06

C.V. = 9,16

TABELA 11. Velocidade de emergência de plântulas provenientes de sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Ci
trus, em casa de vegetação.

Cultivares	médias
limão cravo	0,93 a
limão volkameriano	0,84 b
tangerina cleópatra	0,76 c
laranja caipira	0,55 d

5 % = 0,07

C.V. = 9,16

TABELA 12. Médias de velocidade de emergência de plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de Ci
trus, em solo franco e areia, em casa de vegetação.

	l. cravo	l. volkam.	t. cleóp.	l. caipira
solo franco	0,93 a	0,84 ab	0,74 b	0,52 c
areia	0,94 a	0,84 ab	0,77 b	0,57 c

5 % = 0,13

C.V. = 9,16

TABELA 13. Médias de velocidade de emergência de plântulas provenientes de sementes, de 4 porta-enxertos de Citrus, de 3 tamanhos diferentes, em casa de vegetação.

	'l. cravo'	'l. volkam.'	't. cleóp.'	'l. caipira'
T ₃	0,90 ab	0,76 b	0,72 bc	0,53 c
T ₂	0,99 a	0,92 ab	0,80 b	0,56 c
T ₁	0,90 ab	0,82 ab	0,75 b	0,50 c

$$5 \% = 0,18$$

$$C.V. = 9,16$$

5.2.3. Tempo necessário para emergir plântulas de 50% das sementes.

No estudo estatístico achou-se diferenças significativas entre as 4 cultivares de porta-enxerto. Houve também interação entre substratos e cultivares, e entre substratos e tamanhos de semente.

TABELA 14. Número médio de dias necessários para emergir plântulas de 50 % das sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, em casa de vegetação.

Cultivares	médias
limão cravo	29,33 a
limão volkameriano	31,41 a
tangerina cleópatra	36,95 b
laranja caipira	44,12 c

$$5 \% = 2,58$$

$$C.V. = 6,48$$

TABELA 15. Número médio de dias necessários para emergir plântulas de 50 % das sementes, de 4 porta-enxertos de Citrus, de 3 tamanhos diferentes, em casa de vegetação.

	'l. cravo'	'l. volkam.'	't. cleóp.'	'l. caipira'
T ₃	30,00 c	32,75 c	38,37 b	44,50 a
T ₂	28,75 c	29,87 c	36,25 b	44,50 a
T ₁	29,25 c	31,62 c	36,25 b	43,37 a

5 % = 5,86

C.V. = 6,48

5.3. Matéria seca

5.3.1. Matéria seca das plântulas emergidas no germinador Stultz e desenvolvidas em solo franco, em casa de vegetação.

Observou-se, ao aplicar o teste de Tukey, que as medias diferiam significativamente, ao nível de 5 % , por influência dos tamanhos de semente e das cultivares.

TABELA 16. Peso em gramas de matéria seca das plântulas obtidas de sementes de Citrus de 3 tamanhos, germinadas no germinador Stultz e desenvolvidas em solo franco, em casa de vegetação.

tamanhos	médias
T ₃	0,10 a
T ₂	0,10 ab
T ₁	0,08 b

5 % = 0,01

C.V. = 13,41

TABELA 17. Peso em gramas de matéria seca obtida de plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, emergidas no germinador Stultz e desenvolvidas em solo franco, na casa de vegetação.

Cultivares	médias
limão cravo	0,11 a
limão volkameriano	0,09 ab
tangerina cleópatra	0,08 b
laranja caipira	0,09 ab

$$5 \% = 0,02$$

$$C.V. = 13,41$$

5.3.2. Matéria seca das plântulas emergidas e desenvolvidas em dois tipos de substratos, na casa de vegetação.

Na análise estatística achou-se diferenças significativas, ao nível de 5 % de probabilidade, por influência das cultivares, dos tamanhos de semente e dos tipos de substratos utilizados. Além disso encontrou-se interação entre tamanhos de semente e substratos, entre cultivares de porta-enxerto e substratos, e também entre tamanhos de semente e cultivares de porta-enxerto.

TABELA 18. Peso médio, em gramas, de matéria seca das plântulas de porta-enxerto de Citrus, provenientes de sementes de 3 tamanhos semeadas em dois tipos de substratos, na casa de vegetação.

	T ₃	T ₂	T ₁	médias para os substratos
solo franco	0,11 a	0,11 a	0,09 ab	0,10 a
areia	0,09 ab	0,08 b	0,08 b	0,08 b
médias para os tamanhos	0,10 a	0,10 ab	0,08 b	

$$5 \% (S \times T) = 0,02$$

$$5 \% (S) = 0,0082$$

$$5 \% (T) = 0,0121$$

$$C.V. = 14,13$$

TABELA 19. Peso médio, em gramas, da matéria seca obtida de plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, desenvolvidas em dois substratos, na casa de vegetação.

	l. cravo	l. volkam.	t. cleóp.	l. caip.
solo franco	0,11 ab	0,13 a	0,09 b	0,09 b
areia	0,09 b	0,10 ab	0,06 c	0,08 bc
médias das cultivares	0,10 b	0,12 a	0,07 c	0,09 bc

$$5 \% (S \times P) = 0,02$$

$$5 \% (P) = 0,01$$

$$C.V. = 14,13$$

TABELA 20. Peso médio da matéria seca, em gramas, obtido das plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de Ci-trus, provenientes de sementes de 3 tamanhos, na casa de vegetação.

	l. cravo	l. volkam.	t. cleópatra	l. caipira
T ₃	0,11 ab	0,13 a	0,07 c	0,09 bc
T ₂	0,10 abc	0,12 a	0,07 bc	0,08 bc
T ₁	0,08 bc	0,10 abc	0,08 bc	0,09 bc

$$5 \% (T \times P) = 0,03$$

$$C.V. = 14,13$$

5.4. Altura das plântulas

5.4.1. Altura das plântulas emergidas no germinador Stultz e desenvolvidas em solo franco, na casa de vegetação.

Não achou-se diferenças significativas por influência dos fatores aqui estudados.

5.4.2. Altura das plântulas emergidas e desenvolvidas em dois substratos, na casa de vegetação.

Ao se aplicar o teste de Tukey nas médias da altura dessas plântulas, observou-se diferenças significativas, devido a influência dos tamanhos de semente, das cultivares e dos substratos. Houve também interação entre esses três fatores.

TABELA 21. Médias da altura, em centímetros, das plântulas de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, desenvolvidas em dois substratos, na casa de vegetação.

	l.cravo	l. volkam.	t.cleóp.	l.caipira
solo franco	10,28 ab	11,18 a	8,61 c	8,28 cd
areia	9,23 bc	9,47 bc	6,83 e	6,86 de
médias das cultivares	9,75 a	10,32 a	7,72 b	7,57 b

$$5 \% (S \times P) = 1,42$$

$$5 \% (P) = 0,84$$

$$C.V. = 8,49$$

TABELA 22. Médias da altura, em centímetros, das plântulas emergidas de sementes de Citrus, de 3 tamanhos, semeadas em dois substratos, na casa de vegetação.

	T ₃	T ₂	T ₁	médias para os substratos
solo franco	9,91 a	9,85 a	9,00 ab	9,59 a
areia	8,43 bc	8,01 b	7,84 b	8,10 b
Médias para os tamanhos	9,17 a	8,93 ab	8,42 b	

$$5 \% (S \times T) = 1,16$$

$$5 \% (S) = 0,44$$

$$5 \% (T) = 0,66$$

$$C.V. = 8,49$$

TABELA 23. Médias da altura, em centímetros, das plântulas, de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, e -
mergidas de sementes de 3 tamanhos e desenvolvi-
das em casa de vegetação.

	l. cravo	l. volkam.	t. cleóp.	l. caipira
T ₃	10,20 ab	11,08 a	7,49 d	7,91 cd
T ₂	10,32 ab	10,14 ab	7,90 cd	7,37 d
T ₁	8,75 bcd	9,75 abc	7,77 d	7,43 d

$$5 \% (P \times T) = 1,91$$

$$C.V. = 8,49$$

5.5. Porcentagem de poliembrionia em sementes germinadas

As contagens do número de embriões em cada semente, serão apresentadas em cuadros separados, de modo a informar o ocorrido quando a germinação se deu no germinador ou na casa de vegetação, ou ainda quando foi feita a contagem direta em sementes não germinadas.

5.5.1. Porcentagem de poliembrionia em sementes germinadas em papel toalha, no germinador Stultz.

Os dados obtidos referente a porcentagem de poliembrionia e numero de embriões por semente, para cada cultivar, são apresentados na Tabela 24.

TABELA 24. Poliembrionia em sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, germinadas em papel toalha no germinador Stultz.

Cultivar	tamanho da semente	nº sementes germinadas	nº de embriões	média de embriões/semente	Frequência de Poliemb.				% de Poliemb.
					nº de embriões/semente				
					1	2	3	4	
l. cravo	T ₃	58	78	1,30	49	18	1		25,65
	T ₂	59	74	1,25	44	15			20,10
	T ₁	54	59	1,05	49	5			8,20
l. volkam.	T ₃	53	90	1,70	15	20	7	1	40,94
	T ₂	56	77	1,35	28	23	1		37,10
	T ₁	55	85	1,53	30	20	5		34,65
t. cleópat.	T ₃	47	68	1,45	27	19	1		31,88
	T ₂	42	54	1,28	30	12			24,56
	T ₁	48	59	1,16	37	11			15,77
l. caipira	T ₃	28	37	1,33	19	9			24,70
	T ₂	31	45	1,44	17	14			31,12
	T ₁	29	36	1,24	22	7			19,52

Ao se aplicar o teste de Tukey às médias de porcentagem de poliembrionia, constatou-se diferenças significativas entre os 3 tamanhos de semente e entre as 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus.

TABELA 25. Porcentagem de poliembrionia em sementes de Citrus de 3 tamanhos, germinadas no germinador Stultz.

Tamanhos	médias
T ₃	30,54 a
T ₂	25,71 ab
T ₁	19,52 b

5% = 8,69

C.V. = 25,81

TABELA 26. Porcentagem de poliembrionia em sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, germinadas no germinador Stultz.

Cultivares	médias
limão cravo	17,98 a
limão volkameriano	34,23 b
tangerina cleópatra	23,73 ab
laranja caipira	25,10 ab

5 % = 11,18

C.V. = 25,81

5.5.2. Porcentagem de poliembrionia em sementes germinadas em solo franco e areia, na casa de vegetação.

TABELA 27. Poliembrionia em sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, germinadas em solo franco, na casa de vegetação.

Cultivar	Tamanho da semente	nº sementes germinadas	nº de embriões	média de embriões/sem.	Frequência de Poliemb.				
					nº de embriões/semente				% de Poliemb.
					1	2	3	4	
l. cravo	T ₃	56	75	1,35	40	13	3		25,20
	T ₂	51	61	1,17	41	10			15,70
	T ₁	57	73	1,27	42	14	1		21,70
l. volkam.	T ₃	48	76	1,57	27	14	7		36,40
	T ₂	58	92	1,58	28	26	4		36,75
	T ₁	52	88	1,68	19	30	3		40,90
t. cleópat.	T ₃	51	84	1,63	24	22	4	1	38,85
	T ₂	59	82	1,38	37	21	1		28,00
	T ₁	55	74	1,34	38	16		1	25,70
l. caipira	T ₃	39	67	1,71	16	18	5		41,60
	T ₂	48	67	1,39	31	16		1	28,15
	T ₁	41	69	1,69	15	24	2		40,90

TABELA 28. Poliembria em sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, germinadas em areia, na casa de vegetação.

Cultivar	Tamanho da semente	nº sementes germinadas	nº de embriões	média de embriões/sem.	Frequência de Poliemb.				% de Poliemb.
					nº de embriões/semente				
					1	2	3	4	
l. cravo	T ₃	59	75	1,27	45	12	3		21,90
	T ₂	59	73	1,23	45	14			19,15
	T ₁	56	69	1,22	43	13			18,25
l. volkam.	T ₃	52	90	1,73	21	24	7		42,15
	T ₂	54	89	1,63	24	26	4		38,60
	T ₁	55	70	1,27	41	15	1		21,40
t. cleópat.	T ₃	58	105	1,77	23	26	8	1	43,25
	T ₂	59	83	1,40	35	24			28,85
	T ₁	56	71	1,26	41	15			20,95
l. caipira	T ₃	47	74	1,56	24	19	4		36,15
	T ₂	43	69	1,58	20	21	1	1	35,50
	T ₁	46	66	1,43	28	16	2		30,10

Na comparação das médias das porcentagens de poliembrionia apresentada pelas 4 cultivares de Citrus, observou-se ao aplicar o teste de Tukey, diferenças significativas por influência das cultivares e dos tamanhos de semente. Apresentou-se também interação entre cultivares e substratos; entre cultivares e tamanhos de semente; entre substratos e tamanhos de semente.

O fator substrato não teve influência na porcentagem de poliembrionia.

TABELA 29. Médias da porcentagem de poliembrionia apresentadas pelas sementes de Citrus, de 3 tamanhos, semeadas em dois substratos, na casa de vegetação.

	T ₃		T ₂		T ₁	
solo franco	35,51	a	27,14	bc	32,31	ab
areia	35,86	a	30,52	ab	22,67	c
médias para os tamanhos	35,68	a	28,83	b	27,49	b

$$5 \% (T \times S) = 7,12$$

$$5 \% (T) = 4,07$$

$$C.V. = 15,03$$

TABELA 30. Médias da porcentagem de poliembrionia apresentada pelas sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, germinadas em dois substratos, na casa de vegetação.

	l. cravo	l. volkam.	t. cleóp.	l. caipira
solo franco	20,88 b	38,01 a	30,85 a	36,88 a
areia	19,76 b	34,04 a	31,01 a	33,91 a
médias para as cultivares	20,32 a	36,03 b	30,93 b	35,39 b
	5 % (S x P) = 8,81			
	5 % (P) = 5,19			
	C.V. = 15,03			

TABELA 31. Médias da porcentagem de poliembrionia apresentada por sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus de 3 tamanhos, germinadas em dois substratos, na casa de vegetação.

	l. cravo	l. volkam.	t. cleóp.	l. caipira
T ₃	23,54 cde	39,27 ab	41,05 a	38,87 ab
T ₂	17,42 e	37,67 ab	28,42 bcd	31,82 abc
T ₁	20,00 de	31,14 abcd	23,32 cde	35,50 ab

$$5 \% (T \times P) = 11,76$$

$$C.V. = 15,03$$

5.6. Determinação da póliembrionia por contagem direta de embriões.

Os dados obtidos na contagem são apresentados na Tabela 32, abaixo.

TABELA 32. Contagem direta de embriões em sementes de 4 cultivares de porta-enxerto de Citrus, de três tamanhos diferentes.

Cultivares	Família da semente	nº sementes	Germinadas	Embriões de cada semente	Educação de semente por semente	Frequência de Poliembria												% de Poliemb.
						nº de embriões por semente												
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
l. cravo	T ₃	24	66	2,7	5	7	8	2			1	1					63,6	
	T ₂	15	44	2,9	2	4	5	1	3								65,9	
	T ₁	48	92	1,9	12	29	6	1									47,8	
l. volkame- riano	T ₃	22	53	2,4	6	8	4	2	1	1							48,5	
	T ₂	34	77	2,2	11	11	5	6	1								55,7	
	T ₁	-	-	-													--	
t. cleópa- tra	T ₃	48	231	4,8	1	2	12	6	12	5	7		1				79,2	
	T ₂	59	254	4,3	7	8	14	5	7	4	4	2	3	1	1	1	76,7	
	T ₁	50	228	4,5	2	6	9	8	8	8	5	2	1				78,0	
l. caipira	T ₃	45	223	4,9			5	13	11	9	7						79,8	
	T ₂	42	217	5,1	1	5	7	5	4	7	9	1	2				80,5	
	T ₁	49	167	3,4	4	11	13	9	8	3		1					70,6	

6. DISCUSSÃO

6.1. Germinação

6.1.1. Porcentagem de germinação

Não se apresentou diferenças significativas ao nível de 5%, em relação ao tamanho das sementes.

O exame da Tabela 1 permite observar que, 'limão cravo' e 'limão volkameriano' diferiram estatisticamente dos outros dois porta-enxertos. A maior porcentagem de germinação correspondeu ao 'limão cravo' e 'limão volkameriano' com valores médios de 94,98 e 91,08 % respectivamente. Na 'tangerina cleopatra' obteve-se 76,08 % de sementes germinadas, sendo significativamente inferior ao 'limão cravo' e 'limão volkameriano', porém superior a laranja caipira, cultivar que germinou, até essa época, somente 43,46 % de suas sementes.

No estudo da interação das cultivares com tamanhos de semente observou-se, na Tabela 2, que a porcentagem de germinação, nas 4 cultivares estudadas, não se modificou ao utilizar sementes de tamanhos variáveis. Sem embargo, a

tendência foi obter maior porcentagem de germinação nas sementes de tamanho médio.

6.1.2. Velocidade de germinação

Na velocidade de germinação não houve diferença estatística entre os 3 tamanhos de semente, não entanto, a Tabela 2 indica como o mais rápido para germinar, o menor tamanho de semente.

Pelo exame da Tabela 1, podê-se verificar diferenças significativas na velocidade de germinação entre as 4 cultivares. O limão cravo e limão volkameriano foram os cultivares mais rápidos em germinar, obtendo médias de 1,57 e 1,86 sementes germinadas por dia, respectivamente. O 2º lugar correspondeu a 'tangerina cleopatra', com uma média de 0,99. Em 3º e último lugar estava 'laranja caipira', com uma velocidade de germinação de apenas 0,59.

Pode-se notar também, interação entre os dois fatores, tamanhos de semente e cultivares. No menor tamanho de semente todas as cultivares apresentaram maior velocidade de germinação, mas no tamanho grande e médio o valor deste parâmetro não seguiu uma tendência uniforme. A melhor combinação foi 'limão volkameriano' no menor tamanho de semente (observar Tabela 2).

6.1.3. Tempo necessário para germinar o 50 % das sementes

Com respeito ao tamanho das sementes determinou-se que nas sementes de tamanho grande e médio, o número médio de dias necessários para germinar 50% das sementes, foi de 22,18 e 21 dias respectivamente, valores esses que diferem significativamente do tempo utilizado pela semente de menor tamanho, que foi de 18,8 dias.

O 'limão cravo e 'limão volkameriano' demoraram apenas 15,33 e 14,66 dias para germinar a metade das sementes. Estas cultivares precisaram menos tempo que tangerina cleopatra, que necessitou 24, 25 dias, e laranja caipira que

foi a mais demorada, 28,5 dias. (Tabela 6).

No estudo da interação das cultivares com tamanhos de semente, destacaram-se como mais rápidos o tamanho menor de limão volkameriano e tamanho médio de limão cravo, sendo que os mais vagorosos foram os tamanhos grande e médio de laranja caipira.

Em resumo podemos dizer que para os 3 tamanhos de semente estudados, a velocidade de germinação, a porcentagem de germinação e o tempo necessário para germinar o 50 % das sementes, não variaram significativamente. A única exceção observada foi no número de dias necessários para germinar 50 % das sementes que foi mais reduzido no menor tamanho de semente.

Possivelmente a falta de variação encontrada deve-se ao fato de que os tres tamanhos de semente elegidos fossem muito próximos um de outro. Tal vez a eleição do tamanho de semente deveria ter sido entre os extremos, mas esses tamanhos eram muito escassos e em número insuficiente para fazer o experimento.

Em relação aos cultivares, pôde-se observar nas Tabelas 1, 3 e 6, que a ordem entre elas é a mesma tanto na velocidade de germinação, porcentagem de germinação, como no tempo necessário para emergir as plântulas do 50 % das sementes. A ordem entre as cultivares é a seguinte:

- 1º 'limão volkameriano' e 'limão cravo'
- 2º 'tangerina cleopatra'
- 3º 'laranja caipira'

Quando interatuaem os dois fatores, esta ordem das cultivares se mantem no parâmetro tempo necessário para emergir plântulas do 50% das sementes. Na velocidade de germinação só para limão volkameriano, pois o limão cravo igualou-se a tangerina cleopatra. Na porcentagem de germinação somente 'limão cravo' nos tamanhos grande e médio e superior ao tamanho médio de 'tangerina cleopatra' e 'laranja caipira.

A pesar da 'laranja caipira' ser realmente mais vagarosa em germinar, a porcentagem de germinação obtida neste ensaio, pode ter sido alterado pelo ataque de fungos que se apresentou no germinador Stultz, atacando quase todas as cultivares, mas com maior intensidade a 'laranja caipira', especialmente nas sementes de menor tamanho.

6.2. Emergência

Neste teste, o fator substrato não influenciou quer dizer, que a velocidade de emergência, a porcentagem de emergência e tempo necessário para emergir plântulas do 50 % das sementes, foram semelhantes nos dois substratos para um mesmo tamanho de semente ou cultivar.

6.2.1. Porcentagem de emergência.

Na análise estatística não se apresentou diferenças significativas, na porcentagem de emergência, entre os 3 tamanhos de semente.

A Tabela 13 mostra que a porcentagem de emergência, foi similar nos porta-enxertos 'limão cravo', 'limão volkameriano' e 'tangerina cleopatra'. A 'laranja caipira' foi a cultivar que apresentou a menor porcentagem de emergência.

No estudo da interação, observa-se que as sementes de tamanho médio de 'tangerina cleopatra', tiveram o mais alto porcentagem de emergência, sendo significativamente superior a 'laranja caipira'. A emergência foi também alta nas sementes grandes e pequenas de 'limão cravo'.

6.2.2. Velocidade de emergência.

A velocidade de emergência variou segundo o tamanho de semente utilizado. As sementes de tamanho médio germinaram mais rápido que as sementes grandes, mas não diferiu das pequenas.

Analisando as cultivares isoladamente, verifi-

Analisando as cultivares isoladamente, verificou-se na Tabela 11, que há diferenças significativas entre todas elas. A velocidade de emergência diminuiu na ordem seguinte:

'Limão cravo'
'limão volkameriano'
' tangerina cleópatra'
'laranja caipira'

Quando estudamos a interação cultivares e substratos, observamos na Tabela 12, que 'limão cravo' não é mais rápido do que 'limão volkameriano', mas sim de 'tangerina cleópatra' e 'laranja caipira'.

A Tabela 13 relaciona os 3 tamanhos de semente com as 4 cultivares. Encontramos que 'limão cravo' no tamanho médio de semente, é significativamente mais rápido em emergir que 'limão volkameriano' nas sementes de tamanho grande; que 'tangerina cleópatra' nas sementes de tamanho grande e médio e que 'laranja caipira', nos 3 tamanhos de semente.

De acordo com os resultados, a melhor alternativa é utilizar sementes de tamanho médio dos porta-enxertos 'limão cravo' ou 'limão volkameriano' que apresentaram os níveis mais altos de velocidade de emergência, nos dois substratos.

6.2.3. Tempo necessário para emergir plântulas do 50 % das sementes.

O tamanho de semente não influenciou significativamente no número de dias necessários para a emergência das plântulas, mas a Tabela 15 mostra que nas sementes de tamanho médio, o número de dias foi menor.

De acordo com a Tabela 14, o 'limão cravo' e 'limão volkameriano' demoraram apenas 29,33 e 31,41 dias para emergir. A 'tangerina cleópatra' precisou de uma quantidade significativamente maior, que foi de 36,95 dias. 'Laranja caipira' foi a cultivar mais demorada.

Com respeito a emergência podemos dizer, em termos gerais, que nos 3 parâmetros estudados, a influência do substrato foi nula. O tamanho de semente só influenciou na porcentagem de emergência, pois nas sementes de tamanho médio a porcentagem de emergência foi maior.

Os resultados encontrados em relação a velocidade de emergência e número de dias necessários para a emergência de plântulas do 50 % das semente, permitem afirmar que 'limão cravo' e 'limão volkameriano' foram mais rápidos para emergir que 'tangerina cleópatra' e 'laranja caipira'.

O comportamento das cultivares na porcentagem de emergência foi similar no 'limão cravo', 'limão volkameriano' e 'tangerina cleópatra'. 'Laranja caipira' teve a menor porcentagem de emergência.

6.3. Matéria seca

6.3.1. Matéria seca das plântulas emergidas no germinador Stultz e desenvolvidas em solo franco, na casa de vegetação.

As plântulas provenientes de sementes de maior tamanho foram as que tiveram maior quantidade de matéria seca. As sementes pequenas produziram plântulas cujo peso de matéria seca foi significativamente menor que nas sementes grandes, mas não diferiram das sementes de tamanho médio (Tabela 16).

Na Tabela 17 pôde-se observar que os porta-enxertos 'limão cravo' e 'tangerina cleópatra' produziram plântulas com o maior e o menor peso de matéria seca, respectivamente. 'Limão volkameriano' e 'laranja caipira' foram intermédios entre eles.

6.3.2. Matéria seca das plântulas emergidas e desenvolvidas em dois substratos, na casa de vegetação.

Encontrou-se diferenças significativas na quantidade de matéria seca obtida por plântula, segundo o substrato de germinação utilizado.

Na Tabela 18, pôde-se verificar que no solo franco desenvolveram-se plântulas que produziram maior quantidade de matéria seca. A razão da diferença obtida entre os dois substratos, esteve no fato de que as plântulas, no solo franco, presumivelmente começaram-se a alimentar do substrato antes de esgotar totalmente as reservas dos cotilédones e como o solo franco é mais rico em substâncias nutritivas do que a areia, logicamente produziu plântulas com maior peso. Pôde-se observar também que essa diferença entre os dois substratos foi significativa nas sementes de tamanho médio. As sementes de tamanho grande e médio, em solo franco, produziram maior matéria seca que as sementes de tamanho médio e pequeno em areia.

Nas 4 cultivares estudadas, verifica-se na Tabela 19, que o peso da matéria seca foi maior nas plântulas emergidas em solo franco que em areia, mas somente na 'tangerina cleópatra' essa diferença foi significativa. De acordo com os pesos de matéria seca obtida pelas cultivares, a ordem entre elas foi a seguinte:

- 1º Limão volkameriano (0,12 gr.)
- 2º limão cravo (0,10 gr.)
- laranja caipira (0,09 gr, intermediária)
- 3º tangerina cleópatra (0,07 gr)

No solo franco o 'limão volkameriano' obteve maior quantidade de matéria seca, que a 'tangerina cleópatra' e a 'laranja caipira'.

Para um mesmo porta-enxerto, o peso da matéria

seca das plântulas, foi independente do tamanho da semente. As plântulas de 'limão volkameriano' provenientes de sementes de tamanho grande e médio, produziram maior quantidade de matéria seca que as plântulas de 'limão cravo' provenientes de sementes pequenas, e também foi superior a 'laranja caipira' nos 3 tamanhos de semente.

6.4. Altura das plântulas

6.4.1. Altura das plântulas emergidas no germinador Stultz e desenvolvidas em solo franco, na casa de vegetação.

Não houve diferenças na altura das plântulas. Observou-se nelas grande mortalidade na plantação em solo franco. Apresentavam as hastes muito compridas devido a falta de luz no germinador. Com dificuldade se mantinham em pé e muitas apodreceram pelo contato da haste com o solo, ficando só as mais eretas e resistentes a mudança de condições.

6.4.2. Altura das plântulas emergidas e desenvolvidas em solo franco e areia, na casa de vegetação.

A altura obtida pelas plantulas foi maior no solo franco que na areia, especialmente nas plântulas provenientes de sementes grandes e médias. O motivo é o mesmo que na matéria seca.

Na Tabela 21, pôde-se observar que a altura das plântulas para uma mesma cultivar foi maior no solo franco que na areia, mas no 'limão volkameriano' e 'tangerina cleópatra', a diferença em altura entre os dois substratos, foi significativa. Em ambos substratos, o 'limão cravo' e 'limão volkameriano' alcançaram maior altura que 'tangerina cleópatra' e 'laranja caipira'.

Pôde-se observar na Tabela 23, que para um mesmo porta-enxerto a altura das plântulas não variou em relação

ao tamanho da semente, mas a tendência foi lograr maior altura nas sementes de maior tamanho.

6.5. Poliembrionia em sementes germinadas de Citrus spp.

6.5.1. Poliembrionia em sementes germinadas, no germinador Stultz..

Analisando juntamente as Tabelas 24 e 25 pôde-se observar que as porcentagens de poliembrionia apresenta das pelas sementes, variam de acordo com o tamanho delas. Assim temos que na medida que decresce o tamanho, decresce também a porcentagem de poliembrionia, a exceção só de 'laranja caipira' que apresentou maior número de embriões na semente de tamanho médio.

Esses resultados concordam com os encontrados por PORTO e MOREIRA (1977) quais trabalharam com 5 tamanhos de semente de 'limão cravo'. Eles determinaram aos 90 dias após a semeadura, um número significativamente maior de plântulas em aquelas sementes de maior tamanho (1.41 plântulas/semente).

Fazendo comparação entre cultivares, observou-se na Tabela 26, que o 'limão cravo' apresentou somente 17,98 % de poliembrionia. O 'limão volkameriano' foi o porta-enxerto que apresentou o maior porcentagem de poliembrionia com 34,23 %, sendo significativamente superior a 'limão cravo' similar a 'tangerina cleópatra' e 'laranja caipira'. PORTO (1976) encontrou em 'limão cravo' no germinador Stultz, um 20 % de sementes poliembriônicas, dado similar ao encontrado neste ensaio.

6.5.2. Poliembrionia em sementes germinadas em dois substratos, na casa de vegetação.

Quando se aplicou o teste de Tukey, ao nível de 5 %, as porcentagens de poliembrionia encontradas, não achou-se diferenças significativas entre os substratos.

Na Tabela 29, pode-se apreciar que igualmente

como aconteceu no germinador Stultz, a semente de maior tamanho apresentava a maior porcentagem de poliembrionia.

Nestas condições de casa de vegetação, o 'limão cravo' também apresentou a menor porcentagem de poliembrionia, 20,32 %. No 'limão volkameriano' encontrou-se o mais alto nível de poliembrionia, 36,03 %, mas não diferiu da 'laranja caipira' com 35,39 % nem de 'tangerina cleópatra' com 30,93 %. Se compara-se estes dados com os encontrados no germinador Stultz, veremos que na casa de vegetação, a porcentagem de poliembrionia foi superior em todas as cultivares. Esta diferença como pode-se observar nas Tabelas 26 e 30, foi mais notável em 'laranja caipira' e 'tangerina cleópatra'. Estes porta-enxertos foram mais seriamente afetados por ataque de fungos o que influenciou tanto na porcentagem de germinação como na porcentagem de poliembrionia.

PORTO (1976) encontrou maior porcentagem de poliembrionia, para 'limão cravo', no germinador Stultz que em condições de campo. Segundo esse autor, as condições apresentadas no germinador Stultz, são mais favoráveis para o desenvolvimento daqueles embriões mais fracos, que em condições adversas não se desenvolveriam. Em esta investigação os resultados se inverteram devido provavelmente a que as condições encontradas no germinador Stultz não são tão ideais como se pensa, pois houve ataque de fungos especialmente em 'tangerina cleópatra' e 'laranja caipira'. Nessas cultivares a porcentagem de germinação e de poliembrionia foram mais baixas no germinador Stultz.

Como segundo FROST (1926) os embriões sexuais são menos vigorosos, é possível que a maioria dos embriões desenvolvidos no germinador Stultz, sejam de origem nucelar.

É possível também que as condições apresentadas pela casa de vegetação sejam mais apropriadas para o desenvolvimento dos embriões de semente de Citrus, por quanto até o momento não existe normas de germinação de sementes daquele gênero.

Ao relacionar as cultivares com os tamanhos de semente, observamos na Tabela 31, que para uma mesma cultivar a porcentagem de poliembrionia não variava, a exceção só das sementes grandes de 'tangerina cleópatra' que tiveram uma maior porcentagem de poliembrionia que as sementes de tamanho médio e pequenas.

Utilizando a classificação feita por MOREIRA et al. (1947) para porcentagem de poliembrionia em sementes germinadas, temos o seguinte: O 'limão cravo' apresentou uma porcentagem de poliembrionia de 20,32, sendo pois considerada como uma cultivar de média poliembrionia; o 'limão volkameriano', 'tangerina cleópatra' e 'laranja caipira' que apresentaram, respectivamente, 36,93 % , 30,93 % e 35,39 % de poliembrionia, foram consideradas como cultivares de alta taxa de poliembrionia. Para aqueles autores o 'limão cravo' e 'laranja caipira' apresentam poliembrionia baixa e média, respectivamente.

6.6. Poliembrionia por contagem direta de embriões

Na Tabela 32, pôde-se observar que apesar do reduzido número de sementes analisadas, quase não existe variação na porcentagem de poliembrionia, de um tamanho de semente a outro no 'limão volkameriano' e na 'tangerina cleópatra'. A semente de menor tamanho de 'limão cravo' e 'laranja caipira' apresentaram uma diferença considerável, na porcentagem de poliembrionia, com respeito aos outros dois tamanhos de semente.

Ao comparar os valores de porcentagem de poliembrionia obtidos em sementes germinadas e pela contagem direta observou-se uma diferença notável em todas as cultivares. Na contagem direta esse valor é mais alto, devido ao fato de que na sementeira nem todos os embriões germinam pois de um modo geral, segundo cita MONTENEGRO (1958), o fazem somente aqueles maiores de 5 mm e de preferência os de origem nucelar. Toxopeus em 1936, de acordo com citação de FROST e SOOST (1968) ,

menção três fatores desfavoráveis ao desenvolvimento dos embriões zigóticos:

- a) a célula ovo começa a se desenvolver quando a maioria dos embriões nucelares tem várias células;
- b) o jovem embrião zigótico localizado perto do ápice, parece menos favoravelmente situado com respeito ao transporte de nutrientes, como na oportunidade de ocupar espaço;
- c) a maior parte das plântulas zigóticas são de constituição genética mais fraca que as plântulas nucelares.

Pode-se também observar, na Tabela 32, grande número de embriões por semente nas 4 cultivares. No caso de 'tangerina cleópatra' encontraram-se até 12 embriões por semente. 'Laranja caipira' apresentou baixo número de sementes monoembriônicas. Na contagem realizada em sementes germinadas, todas as cultivares apresentaram maior número de sementes monoembriônicas, sendo que o máximo de plântulas contabilizadas foi 4.

Utilizando a classificação feita por MOREIRA et al. (1947) baseada na porcentagem de poliembrionia determinada por contagem direta, podemos ordenar as cultivares nas seguintes categorias:

- 'limão cravo', uma taxa de poliembrionia média a alta;
- 'limão volkameriano', uma taxa poliembriônica média;
- 'tangerina cleopatra' e 'laranja caipira' apresentaram uma alta taxa de poliembrionia.

Como já mencionamos, quando algumas cultivares apresentaram grande número de embriões por semente, o tamanho deles diminuía. Por este motivo foi necessário fazer uma contagem muito cuidadosa para não ferir aqueles pequenos embriões que se localizavam de preferência na região micropilar, geralmente presos na película que recobre os embriões. Esta observação também foi feita por MOREIRA et al. (1947) e UENO et al. (1967).

Apresentou-se também casos de ocorrência de embriões com 1 e 3 cotilédones, mas muito raramente.

Uma outra observação feita na contagem direta, refere-se ao aspecto externo da semente. Quanto mais irregular ela era, o número de embriões na semente era maior.

Fazer uma comparação dos resultados obtidos nesta investigação referente ao número de embriões por semente em cada cultivar, com a outros autores, é um tanto difícil, por quanto ou eles não trabalharam com as mesmas cultivares nesses tamanhos de semente, ou bem não especificam claramente em que condições fizeram a determinação.

Na contagem direta de embriões realizada no 'li mão cravo', obteve-se uma média de 2,55 embriões por semente. Esse valor é superior ao encontrado por MOREIRA et al. (1947) que foi de 1,7 embriões por semente. Possivelmente a razão esteja no fato de que esses autores trabalharam com maior número de semente, ou bem se deva a época diferente de colheita de frutos, pois a poliembrionia varia da ano a ano, de árvore para árvore, de fruto para fruto e de semente para semente.

Furasato et al. em 1955, segundo citação de FROST e SOOST (1968), encontraram diferença no grau de poliembrião segundo o lado da árvore em que se desenvolviam os frutos.

7. CONCLUSÕES

As análises dos dados e a interpretação dos resultados obtidos no presente trabalho, permitiram que se chegasse as seguintes conclusões principais:

- a) No germinador Stultz, ao determinar a velocidade de germinação, encontrou-se interação entre os 4 cultivares e os tamanhos de semente. O menor tamanho de semente de limão volkameriano germinou mais rapidamente que os 3 tamanhos de semente de tangerina cleopatra e laranja caipira. A velocidade de germinação dos cultivares era a mesma nos 3 tamanhos de semente..

Nos 3 tamanhos de semente L. caipira germinou mais demoradamente que L. cravo e 'limão volkameriano.

- b) Na casa de vegetação, para um mesmo tamanho de semente ou porta-enxerto, a influência do substrato foi nula.
Na porcentagem de emergência, não houve muita variabilidade entre as 4 cultivares nos 3 tamanhos de semente. Sem embargo, na 'laranja caipira' emergiu o menor núme-

ro de plântulas.

Os porta-enxertos 'limão cravo' e 'limão volkameriano' emergiram com a mesma velocidade e em menor número de dias emergiram as plântulas do 50% das sementes. A semente de tamanho médio produziu plântulas com maior rapidez, porém na semente de menor tamanho a emergência no 50% das sementes ocorreu em menos dias.

- c) As plântulas emergidas em papel toalha no germinador Stult produziram maior quantidade de matéria seca quando provinham de sementes grandes.

O 'limão cravo' foi o porta-enxerto que obteve plântulas com maior peso de matéria seca, enquanto que 'tangerina cleopatra' produziu plântulas com menor matéria seca.

Na casa de vegetação, o peso de matéria seca foi maior nas plântulas emergidas em solo franco que em areia, em especial quando provinham de sementes de tamanho médio.

Num mesmo porta-enxerto, o peso da matéria seca foi similar nos 3 tamanhos de semente. Plântulas provenientes de sementes de tamanho grande ou médio, no 'limão volkameriano', produziram maior quantidade de matéria seca que 'tangerina cleopatra', 'laranja caipira' e 'limão cravo' na semente de tamanho pequeno.

'Tangerina cleopatra' foi o único cultivar que apresentou em solo franco, uma quantidade de matéria seca significativamente superior, que na areia.

- d) Aquelas plântulas emergidas no germinador Stultz e desenvolvidas em solo franco na casa de vegetação, não mostraram diferenças na altura da haste.

Nas plântulas emergidas e desenvolvidas em solo franco e areia, na casa de vegetação, quando provinham de sementes de tamanho grande ou médio, alcançaram maior altura quando desenvolveram em solo franco.

Os porta-enxertos 'limão cravo' e 'tangerina cleopatra' alcançaram maior altura quando emergiram e se desenvolveram

em solo franco. O 'limão cravo' foi, em solo franco, mais alto que 'tangerina cleopatra' e 'laranja caipira'.

Para um mesmo porta-enxerto, o tamanho da semente não influenciou, na altura alcançada pelas plântulas. O 'limão cravo' e 'limão volkameriano' foram os porta-enxertos mais altos.

- e) Tanto no germinador Stultz quanto na casa de vegetação, a porcentagem de poliembrionia, determinada em sementes germinadas, foi menor no 'limão cravo' que nos outros 3 porta-enxertos, que tiveram um comportamento similar. A pesar de não existir diferenças significativas na porcentagem de poliembrionia de cada porta-enxerto, nos 3 tamanhos de semente, a tendência foi obter maior porcentagem de poliembrionia nas sementes de maior tamanho. Ao comparar a porcentagem de poliembrionia determinada em sementes germinadas, com contagem direta de embriões, nestas os valores foram sempre mais altos. Nas sementes germinadas o número máximo de embriões encontrados foi 4, enquanto que na contagem direta, em 'tangerina cleopatra' foi encontrado até 12 embriões.

8 . SUMMARY

The present investigation was realized at the Department of Agriculture and Horticulture of Superior School of Agriculture "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo, Brasil. The objective was to study the effect of substrate in the germination and vigor of seeds of 4 graft carriers of Citrus, as well as in the polyembryonic expression in seeds germinated and ungerminated.

The factors of variation were:

- a) substrates: paper towel (germinator Stultz), seedbed soil and sand (Green House).
- b) Sizes of seed: large, mediam and small.
- c) rootstocks: 'limão cravo', 'limão volkameriano', 'tangerina cleopatra' e 'laranja caipira'.

The delineation statistic design utilezed was factorial. Each treatment resulting in the combination of factors, consisted of 30 seeds and of 2 repetitions. The comparison between the averages was made by the Tukey test, at the level of 5 % probability.

The results became from the following tests:

germination, emergency, dry material and height of seedlings, percentage of polyembryony in seeds germinated in the Stultz germinator and in the green house, direct counting of embryos.

The experiment was finished when the seedlings exhausted the reserves of the cotyledons.

With regard to the analise of data and the interpretation of the results, the principle conclusions were:

'limão cravo' and 'limão volkameriano' were the rootstock most rapid to germinate, in the germinator and in the green house.

In the percentage of germination and emergency there wasn't big differences between the cultures. Only the 'laranja caipira' exceled to be the rootstock with a lower level of germination.

The seeds of large and mediam sizes produced seedlings of greater weight of dry material, in the germinator and in the green house.

'limão cravo' and 'limão volkameriano' were the rootstock that obtained the greatest content of dry material, in both locations.

Only 'tangerina cleopatra' obtained greater quantity of dry material in soil. In the other rootstock there wasn't any differences between the two substrates.

Seedlings emerged in the Stultz germinator presented the same height of the stem, after having been developed in soil.

The seedlings of 'limão cravo' and 'tangerina cleopatra' reached a greater height in soil than in sand. In soil 'limão cravo' was taller than 'tangerina cleopatra' and 'laranja caipira'.

The seedlings produced of three diferents sizes of seed in 'limão cravo' and 'limão volkameriano' reached

a greater height than 'tangerina cleopatra' and 'laranja cai
pira', in the green house.

Both the Stultz germinator as the green house, the percentage of polyembryony, determined in seeds germinated, was less in the 'limão cravo' than in the other 3 rootstocks.

There was a tendence to produce a greater number of seedlings in the seeds of greater size.

In the direct counting of embryos, the percentage of polyembryony was greater than in the seeds germinated.

9. LITERATURA CITADA

- BACCHI, O., 1944. Observações citológicas em Citrus. III. Megasporogenese, fertilização e poliembrionia. Bragantia, Campinas, 4:405-412.
- CAMPOS, J.S., 1976. Cultura dos Citros. Campinas, CATI. 100p. (Boletim técnico 88).
- CHOWDHURY, A.R. e G.C. MITRA, 1973. Free aminoacid contents of developing flower bud of Citrus spp. Science and Culture, 39 (6):277-9. Apud Plant Breeding Abstracts, 44 (6):331, 1974.
- FROST, H.B., 1926. Polyembryony, heterozygosis and chimeras in Citrus. Hilgardia, Berkeley, 1 (16):365-402.
- FROST, H.B. e R.K. SOOST, 1968. Seed Reproduction: development of gametes and embryos. In: REUTHER, W., L.D. BATCHELLOR e H.J. WEBBER, ed. The Citrus Industry. Berkeley, University of California, v. 2, p. 290-324.

- FURASATO, K., Y. OTA e K. ISHIBASHI, 1968. Genetical observations on Citrus hybrids and nucellar seedlings. Rep. Ki-hara Inst. Biol. Res. (20):77-93. Apud Plant Breeding Abstracts, 40 (4):1083, 1970.
- GURGEL, J.T.A., 1952. Poliembrionia e Embrionia Adventicia em Citrus, Mangifera e Eugenia. Dusenias, Curitiba, 3 (6):443-450.
- IWAMASA M., I. UENO e M. NISHIURA, 1967. Inheritance of nucellar embryony in Citrus. Bull. Hort. Res. Sta. Ser. B. O - kitsu, 7:1-10. Apud Plant Breeding Abstracts, 39 (2): 446, 1969.
- KAPANADZE, I.S., 1967. Fertilization and formation of supernumerary embryos in Citrus trees. Trans. Suhumi Exp. Sta. Subtrop. Crops, 1:189-96. Apud Plant Breeding Abstracts, 40(2):470, 1970.
- MAGUIRE, J.D., 1962. Speed of germination. Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop. Sci. Madison, 2 (2):176.
- MONTENEGRO, H.W.S., 1958. Curso Avançado de Citricultura. Piracicaba, E.S.A. "Luiz de Queiroz", 241 p.
- MOREIRA, S., J.T.A. GURGEL e L.F. ARRUDA, 1947. Poliembrionia em Citrus. Bragantia, Campinas, 7:69-106.
- MOREIRA, S., 1962. Clones nucleares: Caminho para uma nova Citricultura. Revista de Agricultura, Piracicaba, 37 (2):73-82.
- PORTO, O. de M., 1976. Influência de métodos de semeadura e de repicagem no desenvolvimento do porta-enxerto de "limoeiro" cravo (Citrus limonia, Osbeck). Piracicaba, ESALQ/ USP. 70 p. (Tese de Mestrado).

- PORTO, o. de M. e C.S. MOREIRA, 1977. Influência do tamanho da semente, na viabilidade, poliembrionia e desenvolvimento de seedlings de "limoeiro"-cravo (Citrus limonia, Osbeck). In: IV Congresso Brasileiro de Fruticultura, Salvador, Bahia, p.33. (Resumos).
- RUSSO F. e A. STARRANTINO, 1975. Studies on the hereditability of polyembryony in Citrus. Annali dell' Istituto Sperimentale per l' Agromicoltura, (5): 51-67. Apud Plant Breeding Abstracts, 47 (6):461, 1977.
- SALIBE, A.A., 1972. Poliembrionia nos limões cravo e volkameriano. In: Anais da 11^a Jornada Científica da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, p. 81.
- SHOLOKHOVA, V.A., 1970. The problem of polyembryony in the Genus Citrus. Nauka:220-24. Apud Plant Breeding Abstracts, 44 (2):89, 1974.
- SINGH, U.P., 1971. Nucellar embryony in Citrus. Indian Journal of Horticulture, 28 (2):117-22. Apud Horticultural Abstracts, 44 (1):61, 1974.
- SUCO rendeu US \$ 177 milhões, 1978. Citrus, São Paulo, 1 (1): 9.
- THAKUR, D.R. e B.S. BAJWA, 1971. Extend of polyembryony in some species and varieties of Citrus. Indian Journal of Horticulture, 28 (1):25-8. Apud Horticultural Abstracts, 43 (12):876, 1973.
- TRAUB, H.P. e T.R. ROBINSON, 1937. Improvement of subtropical fruit crops: Citrus. Yearbook of Agriculture, United States Dept. of Agriculture, Washington,:794.

UENO, I., M. IWAMASA e M. NISHIURA, 1967. Embryo number of various Citrus varieties and their relatives. Bull. Hort. Res. Sta. Okitsu, (7):11-21. Apud Horticultural Abstracts, 39 (1):169, 1969.

UENO, I., e M. NISHIURA, 1969. Studies on polyembryony and its relatives. The influence of enviromental conditions on the number of embryos/seed. Bull Hort. Res. Sta. Okitsu, (9):11-19. Apud Horticultural Abstracts, 41 (1):287, 1971.

WEBBER, H.J., 1932. Variation in Citrus seedlings and their relation to rootstock seletion. Hilgardia, Berkeley, 7(1): 1-78.