



Scientia Agraria

ISSN: 1519-1125

sciagr@ufpr.br

Universidade Federal do Paraná

Brasil

WEILER, Roberto Luis; BRUGNARA, Eduardo Cesar; BASTIANEL, Marinês; MACHADO, Marcos Antonio; SCHIFINO-WITTMANN, Maria Teresa; SOUZA, Paulo Vitor Dutra de; SCHWARZ, Sergio Francisco

TESTE DE PATERNIDADE E AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS DE POSSÍVEIS HÍBRIDOS DE  
TANGERINEIRA 'SUNKI'

Scientia Agraria, vol. 10, núm. 6, noviembre-diciembre, 2009, pp. 429-435

Universidade Federal do Paraná

Paraná, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=99512492002>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto



*Scientia Agraria*

ISSN 1519-1125 (printed) and 1983-2443 (on-line)

## TESTE DE PATERNIDADE E AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS DE POSSÍVEIS HÍBRIDOS DE TANGERINEIRA 'SUNKI'<sup>1</sup>

### PATERNITY TEST AND AGRONOMIC EVALUATION OF POSSIBLE HYBRIDS OF 'SUNKI' TANGERINE

Roberto Luis WEILER<sup>2</sup>

Eduardo Cesar BRUGNARA<sup>3</sup>

Marinês BASTIANEL<sup>4</sup>

Marcos Antonio MACHADO<sup>5</sup>

Maria Teresa SCHIFINO-WITTMANN<sup>6</sup>

Paulo Vitor Dutra de SOUZA<sup>7</sup>

Sergio Francisco SCHWARZ<sup>8</sup>

#### RESUMO

A produção de citros está espalhada em todos os continentes agricultáveis e no Brasil ela representa o maior volume de frutas produzidas. O porta-enxerto é extremamente importante no estabelecimento de um pomar de qualidade. Na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, está localizada uma população de híbridos cítricos, implantada em 1990 e oriunda de polinização aberta, sendo o genitor feminino o tangerineiro 'Lee' [*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x (*C. tangerina* Hort. ex Tan. x *C. paradisi* Macf.)]. Dentre os híbridos deste pomar foram selecionadas quatorze plantas com características morfológicas semelhantes as do porta-enxerto tangerineira 'Sunki' Hort. ex. Tan.). Para confirmar a paternidade dos híbridos foram utilizados marcadores moleculares microssatélites. A análise molecular permitiu identificar onze híbridos que não tiveram a 'Sunki' como parental masculina. Os demais híbridos, potenciais híbridos de tangerineira 'Sunki', genótipos 49, 77 e 92, tiveram maior taxa de poliembrionia, maior número de plântulas emergidas por semente e maior número de sementes produzidas por fruto quando comparadas a tangerineira 'Sunki'.

**Palavras-chave:** *Citrus sunki*; porta-enxertos; poliembrionia; microssatélites.

#### ABSTRACT

Citrus production is spread all over the world. In Brazil citrus represent the major volume of fruit production. Rootstock is extremely important to establish a good-quality orchard. At the Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul was established placed a hybrid citrus plants orchard, originated from open pollination with 'Lee' tangelo [*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x (*C. tangerina* Hort. ex Tan. x *C. paradisi* Macf.)] as female parent. Amongst those hybrids, fourteen plants were selected with characteristics alike to those of the rootstock tangerine (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.). In order to confirm hybrids paternity, single sequence repeat (SSR) markers were used. The molecular analysis allowed to identify eleven hybrids that did not have 'Sunki' tangerine as male parent. The hybrids 49, 77 and 92, potencialy hybrids of 'Sunki', stood out for higher poliembriony, higher number of emerged seedling per seed and higher number of seeds per fruit in comparison to 'Sunki'.

**Key-words:** *Citrus sunki*; rootstocks; poliembriony; SSR markers.

<sup>1</sup> Trabalho realizado durante a pesquisa orientada, disciplina obrigatória do curso de mestrado, no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

<sup>2</sup> Engenheiro Agrônomo, Mestre em Fitotecnia, Departamento de Horticultura e Silvicultura, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: robertoluismw@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Engenheiro Agrônomo, Mestre em Fitotecnia, Departamento de Horticultura e Silvicultura, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: edubrugnara@ibest.com.br

<sup>4</sup> Engenheira Agrônomo, Doutora em Agronomia, Centro APTA Citros Sylvio Moreira, Cordeirópolis, São Paulo, Brasil. E-mail: mbastianel@centrodecitricultura.br

<sup>5</sup> Engenheir Agrônomo, Doutor em Agronomia, Centro APTA Citros Sylvio Moreira, Cordeirópolis, São Paulo, Brasil. E-mail: marcos@centrodecitricultura.br

<sup>6</sup> Biologa, Doutora em Genética, Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: mtschif@ufrgs.br

<sup>7</sup> Engenheiro Agrônomo, Doutor em Agronomia, Departamento de Horticultura e Silvicultura, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: pvdsoza@ufrgs.br

## INTRODUÇÃO

A citicultura é o principal cultivo frutícola mundial, encontrando-se dispersa em todos os continentes agricultáveis do mundo. As principais áreas de produção comercial encontram-se entre as latitudes 20° e 40° N e S, sendo o Brasil responsável por cerca de 20% da produção mundial de citros (FAO, 2008).

Os porta-enxertos aportam à planta cítrica a capacidade de adaptação aos fatores abióticos como salinidade, pH, excessos ou déficits de água no solo, tolerância ao frio, resistência ou tolerância frente aos nematóides, fungos, vírus e víróides. Ademais, influem de forma decisiva nas características da variedade copa, como vigor e tamanho da planta, produção, qualidade e época de maturação dos frutos (Castle, 1987).

No Brasil, cerca de 80% dos pomares estão plantados sobre o porta-enxerto limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osb.), preferido pela sua característica de induzir grande vigor, maior tolerância a estresse hídrico e alta produtividade (Pompeu Júnior, 2005). O Rio Grande do Sul é o único Estado do Brasil onde predomina o porta-enxerto *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., utilizado em mais de 90% do total de mudas produzidas (Schäfer & Dornelles, 2000). No Estado de Sergipe, o limoeiro 'Rugoso' (*C. jambhiri* Lush.) divide com o 'Cravo' a primazia na maioria dos pomares (Soares Filho et al., 2008). A falta de diversificação de porta-enxertos acarreta vulnerabilidade dos pomares, com o aparecimento de novas moléstias, como ocorrido no caso da tristeza dos citros na década de 40 (Schäfer et al., 2004) e, mais recentemente, a morte súbita na região sudeste do Brasil (Jesus Júnior & Bassanezi, 2004).

Nas espécies cítricas apomíticas, os processos sexual e apomítico ocorrem simultaneamente em um mesmo óvulo (Koltunow, 1993), de forma que o embrião zigótico e os nucelares competem por nutrientes e espaço (Morais-Lino et al., 2008). Os embriões apomíticos são originários de células do tecido nucelar, parede interna do saco embrionário; daí os mesmos também serem denominados embriões nucelares (Frost & Soost, 1968). Os embriões nucelares iniciam seu desenvolvimento independentemente da fertilização, mas para que estes tenham seu desenvolvimento pleno até embriões maduros e viáveis em condições naturais de germinação, há a exigência de que o óvulo seja fertilizado (Koltunow et al., 1995).

O porta-enxerto tangerineira 'Sunki' (*C. sunki* Hort. ex. Tan) é originário do sudeste da China e é indicado como porta-enxerto para laranjeiras, tangerineiras e pomeleiros por suas características desejáveis, como: indução de boa formação de copa, tolerância a tristeza, xiloporoze e declínio e tolerância a solos salinos (Castle, 1987; Pompeu Júnior, 2005). Esta variedade está sendo utilizada na citicultura brasileira como alternativa ao

indesejáveis como suscetibilidade à gomose exocorte (Pompeu Júnior, 2005), sem tamanho reduzido e pequeno número de sementes viáveis por fruto.

O presente estudo teve como objetivo identificar dentro de uma população, híbridos que tenham como genitor masculino a tangerineira 'Sunki' e determinar o comportamento quanto ao tamanho e rendimento de sementes, frutos, poliembrionia e germinação das sementes servindo como subsídio para novas variedades porta-enxerto para uso na citicultura.

## MATERIAL E MÉTODOS

Na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), localizada no município de Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul (30°29'S e 51°45'W), mantém-se uma população segregante obtida a partir da polinização aberta do tangerineiro 'Lee' [*Citrus clementina* Hort. ex Tan. (*C. tangerina* Hort. ex Tan. x *C. paradisi* Macf.)], servindo como subsídio para novas variedades porta-enxerto para uso na citicultura.

O clima do local é do tipo Cfa, ou seja, temperado sem estação seca definida (Köppen, 1948). As temperaturas médias anuais mínimas e máximas da região são 14 °C e 24, respectivamente, com uma temperatura anual de 19,6 °C. A precipitação pluvial média anual é de 1.398 mm e a umidade relativa média anual de 79% (Mota et al., 1971).

Da população total de cerca de 250 plantas quatorze foram selecionadas pela sua semelhança à tangerineira 'Sunki' quanto à forma (achatinada), tamanho (pequeno) dos frutos, hábito de frutificação (em pencas), sabor do fruto e aroma das essências da casca do fruto.

Para confirmação da paternidade das sementes híbridas foram realizados testes moleculares usando marcadores de DNA do tipo microsatélite no Laboratório de Biotecnologia do Centro de Citricultura e Cordeirópolis – IAC (Centro de Citricultura e Cordeirópolis/SP, em julho e agosto de 2005).

A extração de DNA foi feita em folhas maceradas com nitrogênio líquido, utilizando a metodologia descrita por Shillito & Saul (1988) com adaptações desenvolvidas pelo Laboratório de Biotecnologia do Centro de Citricultura, utilizando-se sarcosyl 1% no tampão de extração e na etapa final, sem extração com fenol, adicionando-se RNAase para digestão do RNA, sendo a mistura mantida a uma temperatura de 37 °C cerca de 1 h.

A quantificação de DNA foi feita em gel de agarose a 0,8%, corado com brometo de etidio. A sua concentração foi determinada por comparação com marcadores com concentração conhecida. O DNA foi mantido a uma concentração de 1 µg  $\text{mm}^{-3}$  e deixado em congelador a -20 °C.

As reações de amplificação foram realizadas utilizando oligonucleotídeos iniciadores (primers)

Um total de nove pares de primers foram utilizados para análise das plantas: CCSM 06 (AG)<sub>n</sub>, CCSM 10 (AG)<sub>n</sub>, CCSM 49 (CAA)<sub>8</sub>, CCSM 52 (CA)<sub>27</sub>, CCSM 72 (TC)<sub>12</sub>, CCSM 101 (AG)<sub>12</sub>, CCSM 140 (TC)<sub>19</sub>, CCSM 150 (AG)<sub>11</sub>N(AG)<sub>8</sub>, CCSM 170 (GA)<sub>21</sub>. As sequências dos primers são apresentadas na Tabela 1. As reações foram preparadas num volume de 25 mm<sup>3</sup>, contendo 1,5 unidades da enzima Taq polimerase; 10 mmol dm<sup>-3</sup> de dNTP mix (dATP, dTTP, dCTP, dGTP); 2,5 mm<sup>3</sup> de tampão 10X (10 mmol dm<sup>-3</sup> de Tris - HCl 9 pH 8,3), 50 dm<sup>-3</sup> de MgCl<sub>2</sub>, 60 ng de cada primer (Direto e Reverso), 100 ng de DNA genômico e H<sub>2</sub>O autoclavada, e realizadas em termociclos MJ Research programados para 30 ciclos de 94 °C por 30 s, 65-56 °C por 30 s e 72 °C por 5 s. A

temperatura de anelamento se iniciou a 95 °C decrescendo até 0,3 °C a cada ciclo seguidos de ciclos de anelamento a 56 °C. A visualização foi feita em gel de agarose a 3,0% preparado com tampão TAE (0,04 mol dm<sup>-3</sup> de Tris-acetato, 1 mmol dm<sup>-3</sup> de EDTA pH 8,3), corados com brometo de etídio (0,5 µg cm<sup>-3</sup>) e com migração no gel por 2 h a 120 V em cubas horizontais. A visualização também foi feita em géis de poliacrilamida corados com nitrato de prata. Os géis de poliacrilamida foram utilizados quando a diferença no tamanho dos alelos foi muito pequena (menor que 15 pb), ou quando a amplificação em gel de agarose mostrava dúvidas quanto à nitidez das bandas.

TABELA 1 – Primers utilizados na população analisada, suas sequências, número (NAA) e tamanho (TA) dos alelos amplificados e conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) de cada loco.

Primer	Seqüências dos primers 5' ->3'	Seqüências dos primers 5' ->3'	NAA	TAA (pb)	F
CCSM 06	atctgtgtgaggactgaa	cctcttaatgtgcctg	2	230-270	0
CCSM 10	gactggattagatgtctcg	atggatgtgttatctcactc	1	240	0
CCSM 49	accgatcagcagaagagg	ttgcgttgcgtctgttg	2	80-95	0
CCSM 52	ccaagctcccggttaccgc	agtgtctggaaatccgc	4	60-95	0
CCSM 72	cacatgcttagtgcattcg	aaaatgcatacacaaaccc	2	80-90	0
CCSM 101	tgtgattactgattattg	ctacttgtatgtgcct	1	110	0
CCSM 140	gtgattagatgtgtgagg	attatggatgattatacac	1	90	0
CCSM 150	tcagacaatgtgttagagag	tccgttgctactgttac	2	130-170	0
CCSM 170	agtgtgactgtgtgcgaa	ctaattggctgagagatgtc	2	170-195	0

Foi calculado o Conteúdo de Informação de Polimorfismo (PIC), para cada loco, o que fornece uma estimativa do poder discriminante (ou o poder de discriminação) do marcador. Para calcular o PIC, obteve-se as freqüências alélicas através de contagem direta no gel de revelação e aplicou-se na equação PIC = 1 -  $\sum p_i^2$ , onde  $p_i$  é a freqüência do alelo i na população.

A seleção dos possíveis filhos da tangerineira 'Sunki' foi feita por exclusão dos híbridos que não apresentaram o alelo desta variedade. Neste caso, a tangerineira 'Sunki' possivelmente homozigota para um alelo A e o tangeleiro 'Lee' homozigoto para um alelo B, como observado na Figura 1 e 2, obrigatoriamente sua F1 precisa apresentar heterozigose naquele loco, apresentando AB. Desta forma, plantas que não apresentaram ambos os alelos AB, foram consideradas filhas de outro pai e não da 'Sunki'. Paralelamente, plantas da progénie que apresentaram alelos diferentes dos presentes em 'Sunki' e 'Lee' foram eliminados do grupo de possíveis filhos da 'Sunki'. Para exclusão de uma

Em junho de 2004 e de 2005, frutos de plantas selecionadas pela morfologia foram colhidos. A colheita foi realizada em dois anos, fato de nem todas as plantas apresentavam um número suficiente de frutos para as análises. Cada safra, já que as plantas são mantidas em condições de fracos e nenhum tipo de raleio de frutos foi realizado tentando diminuir o efeito da alteração de produção, justamente para avaliar o comportamento fisiológico das mesmas.

Destes frutos foi medido o diâmetro, altura, a massa, e feita a contagem do número de sementes (sementes chochas foram desprezadas). As sementes foram extraídas e mantidas por 24 horas submersas no próprio suco para fermentação e extração da mucilagem. Após esse procedimento, as sementes foram lavadas em água e secas à sombra. Quando secas, as sementes foram tratadas com óxido de cobre para controlar ataque de fungos, embaladas em sacos plásticos e mantidas em geladeira (4 °C). Em janeiro de 2005 as sementes dos frutos colhidos em 2004 foram postas para germinar, o mesmo se procedendo em outubro de 2005.

WEILER, R.L. et al. Teste de paternidade e avaliações agronômicas...

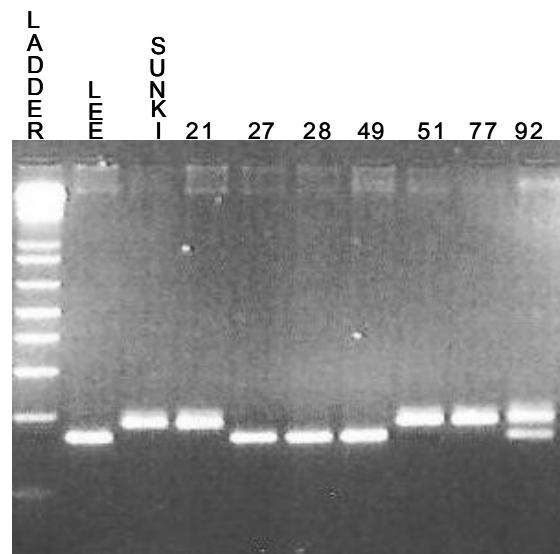


FIGURA 1 – Foto do gel amplificado com o *primer* CCSM 170: na primeira canaleta o marcador Ladd 100 pb, na seqüência o genitor feminino 'Lee', a tangerineira 'Sunki' e as plantas 21, 27, 28, 49, 51, 77, 92 do estudo.

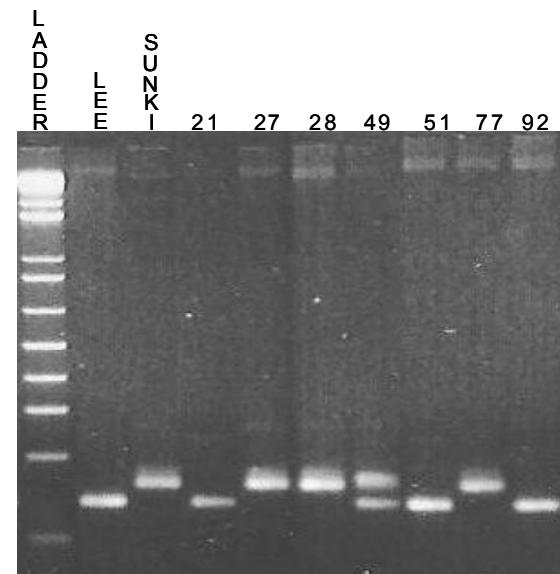


FIGURA 2 – Foto do gel amplificado com o *primer* CCSM 150: na primeira canaleta o marcador Ladd 100 pb, na seqüência o genitor feminino 'Lee', a tangerineira 'Sunki' e as plantas 21, 27, 28, 49, 51, 77, 92 do estudo.

Para cada planta a ser avaliada foram postas a germinar 200 sementes em bandejas de isopor de 200 alvéolos (uma semente por alvéolo) diretamente em substrato composto de casca de

0,33:0,22:0,22:0,22, respectivamente, a profundidade de cerca de 1,5 cm, e mantido sistema de irrigação do tipo *floating* por 62 dias na casa de vegetação do Laboratório de Biotecnologia.

plantas emergidas por semente germinada (NPE). Arrancaram-se as plantas para contagem com o intuito de evitar erros devidos a bifurcação de plantas.

Para contagem do número de embriões por semente (NES), 50 sementes de cada genótipo, tomadas ao acaso, foram descascadas cuidadosamente, com auxílio de pinça de relojoaria e agulha histológica, e os embriões foram contados ao microscópio estereoscópico de 20 aumentos. O número de sementes por fruto, assim como, o número de embriões e número de plântulas emergidas por semente foram comparados com os de 'Sunki', referentes ao mesmo ano, pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir de nove pares de *primers* de microssatélites polimórficos entre 'Lee' e 'Sunki' foram avaliados 9 locos e 17 alelos. Os *primers* utilizados amplificaram de 1 a 4 alelos por *primer*, destacando-se o CCSM 52 que apresentou o maior PIC: 0,72. O número de alelos amplificados por *primer*, o tamanho dos fragmentos e o PIC são apresentados na Tabela 1. Os valores de PIC encontrados foram, em geral, mais altos que os observados por Corazza-Nunes et al. (2002) em *C. paradisi* Macf. e *C. maxima* (Burm.) Merr., e semelhantes aos encontrados por NOVELLI et al. (2006) em *C. sinensis* L. Osb., com exceção do CCSM 72, que teve um PIC de apenas 0,12, e do CCSM 52, que teve um valor bastante elevado. Essas diferenças são esperadas já que tratam-se de populações e *primers* diferentes.

Os dados gerados permitiram identificar que onze dos quatorze híbridos pré-selecionados (21, 27, 28, 51, 93, 99, 154, 196, 232, 276 e 292)

não são filhos da tangerineira 'Sunki'. Naturalmente, o procedimento não permitiu inferir que as plantas número 49, 77 e 92 sejam filhas da 'Sunki', já que os alelos iguais aos encontrados neste par podem ter sido herdados de outros pais durante a polinização da 'Lee', que não foi controlada. Análise mais conclusiva poderia ser feita se a totalidade dos possíveis genitores masculinos pudesse ser acessada, mas, vários desses acessos (para os genótipos) já não se encontram mais na coleção de citros da EEA/UFRGS. Grattapaglia et al. (2003) usaram marcadores microssatélites para avaliar a paternidade em eucalipto e a técnica se mostrou eficiente na identificação dos genitores masculinos da progénie avaliada, apontando a existência de pais não identificados que, provavelmente, pertenciam à população em estudo.

É desejável que um porta-enxerto produza o máximo possível de sementes por fruto, já que é necessário um menor número de frutos para obter o número almejado de plantas. Os genótipos com possíveis filhos da tangerineira 'Sunki' avaliados apresentaram um número maior de sementes por fruto comparado com o porta-enxerto 'Sunki', que apresentou 3,40 e 4,45 sementes por fruto nos anos de 2004 e 2005, respectivamente, número semelhante ao obtida por Soares Filho et al. (2000), que apresentaram 3,40 e 4,45 sementes por fruto. As seleções da tangerineira 'Sunki', como 'Maravilhosa' e 'Tropical', apresentam número de sementes por fruto igual a 7,7 e 18,7, respectivamente (Silva et al., 2003). A polinização cruzada pode ser um fator de variação do número de sementes por fruto, o que, juntamente com as causas genéticas, pode explicar as diferenças citadas.

TABELA 2 - Características dos frutos de 4 genótipos de *Citrus* sp. da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, 2004/05

Ano	Planta	Massa (g)	Nº Sementes Viáveis (%)
2004	77	38,80	08,70**
	Sunki	16,93	03,40
2005	49	36,28	10,35**
	92	30,54	06,35*
	Sunki	11,60	04,45

\*\* Diferença em relação à Sunki significativa dentro do ano (Teste de Kruskal-Wallis -  $p<0,0001$ )

\* Diferença em relação à Sunki significativa dentro do ano (Teste de Kruskal-Wallis -  $p=0,0334$ )

Obs. As plantas 49 e 92 não foram avaliadas no ano de 2004, assim como a planta 77 não foi avaliada no ano de 2005. Nesses anos não houve produção destes híbridos por causa da alternância de produção, pois cada híbrido é representado por um indivíduo.

As sementes de todos os híbridos avaliados neste estudo apresentaram um NES maior que o porta-enxerto 'Sunki'. A tangerineira 'Sunki' apresentou número máximo de três embriões em uma mesma semente, enquanto que o híbrido 92 apresentou oito. Para porta-enxertos é desejável alta taxa de polimorfismo, pois possibilita

à planta de origem (embriões de origem nuclear) maior porcentagem de sementes poliembrionárias. A taxa de polimorfismo da tangerineira 'Sunki' foi 22% e 18% para os anos de 2004 e 2005, respectivamente. Os híbridos 49 e 92 apresentaram 98% de sementes poliembrionárias (Tabela 3). Diferenças na poliembrionia entre diferentes variedades podem ocorrer por

WEILER, R.L. et al. Teste de paternidade e avaliações agronômicas...

1941; Soares Filho et al., 2003). Soares Filho et al. (2000) determinaram o número de embriões em 'Sunki', que variou de 1 a 13, com média de 1,3. Essa média é muito semelhante à de 1,24, obtida neste trabalho, porém, bastante distante do número máximo de três embriões por semente aqui identificado (Tabela 3). Em estudo posterior,

Soares Filho et al. (2003) avaliaram diferentes seleções de tangerineira 'Sunki', obtendo resultados semelhantes ao encontrado no presente trabalho, avaliarem material que denominaram de comum, com média de 1,3 embriões por semente, número máximo de 4 embriões por semente.

TABELA 3 - Média de embriões por semente e freqüência relativa de sementes com 1 a 8 embriões genótipos de *Citrus* sp. da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, 2004/05.

Ano	Planta	Média	Embriões por semente						
			Frequência relativa (%)						
2004	77	2,86**	4	40	28	24	2	2	0
	Sunki	1,22	78	22	0	0	0	0	0
2005	49	4,06 **	2	10	24	28	20	12	4
	92	4,02 **	2	14	26	22	16	16	2
	Sunki	1,26	78	18	4	0	0	0	0

\*\* Diferença em relação à Sunki significativa dentro do ano (Teste de Kruskal-Wallis - p<0,0001)

Os genótipos 49, 77 e 92 tiveram germinação superior ao da 'Sunki', sendo que esta teve 79,5% e 78% de germinação nos anos de 2004 e 2005, respectivamente. Já no genótipo 77 a germinação foi de 94,5% (Tabela 4). Ocorrem diferenças entre genótipos no tempo necessário

para germinação das sementes, como observado por Soares Filho et al. (2003) e Soares et al. (2005). Porém, considera-se 62 dias tempo suficiente para que sementes de citros germinem em temperaturas superiores a 20 °C.

TABELA 4 - Porcentagem de germinação (G), número médio de plântulas emergidas por semente (N) e freqüência relativa de sementes com emergência de 1 a 8 plântulas em 4 genótipos de *Citrus* sp. da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, 2004/05.

Ano	Planta	G (%)	Média	NPE						
				Frequência relativa (%)						
2004	77	94,5	1,78**	39,17	47,08	11,64	2,11	0	0	0
	Sunki	79,5	1,07	93,00	7,00	0	0	0	0	0
2005	49	89,0	1,38 **	64,04	33,71	2,35	0	0	0	0
	92	89,0	1,65 **	48,88	38,76	10,67	1,69	0	0	0
	Sunki	78,0	1,01	98,72	1,28	0	0	0	0	0

\*\* Diferença em relação à Sunki significativa dentro do ano (Teste de Kruskal-Wallis - p<0,0001)

Das sementes que originaram mais de uma planta certamente emergiu pelo menos uma plântula de origem nucelar, que é um clone. Segundo Frost & Soost (1968) embriões apomíticos geralmente são mais vigorosos. Neste caso, seria possível selecionar os clones através da eliminação das plântulas menos vigorosas. Contudo, Soares Filho et al. (2000) observaram pronunciada concentração de embriões zigóticos na classe de maior tamanho em sementes com baixa a moderada poliembrionia.

Os híbridos 49, 77 e 92 destacaram-se por superarem a tangerineira 'Sunki' em todos os parâmetros de propagação avaliados, ou seja, número de sementes por fruto, número de embriões

clonal em relação a tangerineira 'Sunki', tendo herdado desta as características de indução da formação de copa, tolerância à tristeza, xilogênio, declínio e morte súbita, o que será avaliado no futuro.

## CONCLUSÕES

Nas condições do presente experimento conclui-se, que:

Da população de híbridos avaliados, plantas 21, 27, 28, 51, 93, 99, 154, 196, 232, 292 não têm a tangerineira 'Sunki' como parente masculino.

Os híbridos 49, 77 e 92 apresentam aptidão para propagação clonal via sementes.

WEILER, R.L. et al. Teste de paternidade e avaliações agronômicas

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Centro APTA Citros  
Sylvio Moreira pelo auxílio na análise molecular, à

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal  
Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de  
Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq),  
pelas bolsas concedidas.

## REFERÊNCIAS

1. CASTLE, W. S. Citrus rootstocks. In: ROM, R.C.; CARLSON, R.F. (Ed.) **Rootstocks for fruits crops**. New York: Wiley, 1987. p. 361-399.
2. CORAZZA-NUNES, M. J. et al. Assessment of genetic variability in grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) and pummelos (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) using RAPD and SSR markers. **Euphytica**, v. 126, n. 2, p. 169-176, 2002.
3. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Dados agrícolas de FAO**. Roma, 2008. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 07 julho 2008.
4. FROST, H. B.; SOOST, R. K. Seed reproduction: development of gametes and embryos. In: REUTHER, J.; BATCHELOR, L. D.; WEBBER, H. J. (Ed.). **The Citrus Industry**. Berkeley: University of California, 1968. v.2, p. 324.
5. GRATTAPAGLIA, D.; RIBEIRO, V. J.; REZENDE, G. D. Retrospective selection of elite parent trees using parentage testing with microsatellite markers: an alternative short term breeding tactic for Eucalyptus. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 109, n. 1, p. 192-199, 2004.
6. JESUS JÚNIOR, W. C. de; BASSANEZI, R. B. Análise da dinâmica e estrutura de focos da morte súbita dos frutos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 399-405, 2004.
7. KÖEPFEN, W. **Climatologia**. Cidade do México: Fondo de Cultura Econômica, 1948. 478 p.
8. KOLTUNOW, A. M. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The Plant Cell**, v. 5, n. 10, p. 1425-1437, 1993.
9. KOLTUNOW, A. M. et al. Anther, ovule, seed and nucellar embryo development in *Citrus sinensis* cv. Valencia. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, n. 10, p. 1567-1582, 1995.
10. MORAIS-LINO, L. S. et al. Adequação de nutrientes do meio MT para o cultivo de embriões imaturos de tangerina 'Cleópatra'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 1-6, 2008.
11. MOREIRA, S.; GURGEL, J. T. A. A fertilidade do pólen e sua correlação com o número de sementes em espécies e formas do gênero *Citrus*. **Bragantia**, v. 1, n. 11-12, p. 669-711, 1941.
12. MOTA, F. S.; BEIRSDORF, M. I. C.; GARCEZ, J. R. B. **Zoneamento agroclimático do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**: normais agroclimáticos. Porto Alegre: Ministério da Agricultura - Instituto de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul, 1971. 80 p. (Circular, 50).
13. NOVELLI, V. M. et al. Development and characterization of polymorphic microsatellite markers for the sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 1, p. 90-96, 2006.
14. POMPEU JÚNIOR, J. Porta-enxertos. In: MATTOS JÚNIOR, D. de; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JÚNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico/ Fundag, 2005. p. 61-104.
15. RAMOS, J. D.; PASQUAL, M. Alterações na poliembrionia e identificação do híbrido em sementes de limão 'Pera' obtidas de cruzamentos com *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 3, p. 421-426, 1992.
16. SCHÄFER, G.; BASTIANEL, M.; DORNELLES, A. L. C. Diversidade genética de porta-enxertos baseada em marcadores moleculares RAPD. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1437-1442, 2004.
17. SCHÄFER, G.; DORNELLES, A. L. C. Produção de mudas cítricas no Rio Grande do Sul: diagnóstico da produtora. **Ciência Rural**, v. 30, n. 4, p. 587-592, 2000.
18. SCHÄFER, G. et al. Substratos na emergência de plântulas e expressão da poliembrionia em porta-enxertos de laranja. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 471-474, 2005.
19. SHILLITO, R. D.; SAUL, M. W. Protoplast isolation and transformation. In: SHAW, C.H. (Ed.) **Plant Molecular Biology: a practical approach**. Oxford: IRL Press, 1988. p. 161-185.
20. SOARES FILHO, W. S. et al. 'Maravilha': uma nova seleção de tangerina 'Sunki'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 268-271, 2003.
21. SOARES FILHO, W. S. et al. Potencial de obtenção de novos porta-enxertos em cruzamentos envolvendo limão 'Cravo', laranjeira 'Azeda', tangerineira 'Sunki' e híbridos de *Poncirus trifoliata*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 223-228, 2008.
22. SOARES FILHO, W. S. et al. Poliembrionia e freqüência de híbridos em *Citrus* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 4, p. 857-864, 2000.

