Boletim de Pesquisa 77 e Desenvolvimento ISSN 1809-5003 Maio, 2016

Polinização cruzada para ampliação da produção de sementes do portaenxerto híbrido de citros trifoliolado HTR-051





Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Mandioca e Fruticultura Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 77

Polinização cruzada para ampliação da produção de sementes do porta-enxerto híbrido de citros trifoliolado HTR-051

Eldes Reinan Mendes de Oliveira Eduardo Augusto Girardi Orlando Sampaio Passos Walter dos Santos Soares Filho

Embrapa Mandioca e Fruticultura Cruz das Almas, BA 2016

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Rua Embrapa - s/n, Caixa Postal 007 44380-000, Cruz das Almas, Ba

Fone: (75) 3312-8048 Fax: (75) 3312-8097

SAC: www.embrapa.br/fale-conosco/sac/www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Comitê de Publicacões da Unidade

Presidente: Francisco Ferraz Laranieira

Secretária-executiva: Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro

Membro: Áurea Fabiana Apolinário Albuquerque

Cicero Cartaxo de Lucena Clóvis Oliveira de Almeida Eliseth de Souza Viana Fabiana Fumi Cerqueira Sasaki Jacqueline Camolese de Araújo

Leandro de Souza Rocha Tullio Raphael Pereira de Pádua

Supervisão editorial: Francisco Ferraz Laranjeira Revisão gramatical: Abelmon da Silva Gesteira

Normalização bibliográfica: *Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro* Editoração e tratamento de imagem: *Maria da Conceição Pereira B.*

dos Santos

Fotos da Capa: Maria Júlia da Silva Rodrigues

1ª edicão

Versão online: Maio (2016).

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Embrapa Mandioca e Fruticultura

Polinização cruzada para ampliação da produção de sementes do portaenxerto híbrido de citros trifoliolado HTR-051 / Eldes Reinan Mendes de Oliveira... [et. al.]. – Dados eletrônicos. – Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016.

24p. il. . (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Mandioca e Fruticultura, ISSN 1809-5003; 77).

Laranja. 2. Polinização. 3. Porta enxerto. I. Girardi, Eduardo Augusto.
Passos, Orlando Sampaio. III. Soares Filho, Walter dos Santos. VI. Título.
VI. Série.

CDD 634.31

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Material e Métodos	11
Resultados e Discussão	15
Conclusões	21
Agradecimentos	22
Referências	22

Polinização cruzada para ampliação da produção de sementes do porta-enxerto híbrido de citros trifoliolado HTR-051

Eldes Reinan Mendes de Oliveira¹ Eduardo Augusto Girardi² Orlando Sampaio Passos² Walter dos Santos Soares Filho²

Resumo

O Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura vem gerando diversos híbridos com potencial de lançamento de variedade como porta-enxerto. Contudo, a baixa formação de sementes em alguns destes híbridos pode limitar sua multiplicação comercial. O efeito da polinização cruzada foi avaliado sobre a produção de sementes em plantas matrizes do porta-enxerto híbrido de citros trifoliado HTR-051 em Cruz das Almas-BA. A polinização do híbrido HTR-051 foi necessária para resultar em maior fixação de frutos, com melhores resultados observados com autopolinização ou polinização cruzada com laranjeira 'Hamlin' e citrange 'Argentina'. A polinização cruzada resultou em maior número de sementes por fruto, especialmente empregando-se como polinizadora a laranjeira 'Hamlin'. A espécie ou variedade polinizadora influenciou no número de embriões formados por semente do híbrido HTR-051.

Palavras-chave: *Citrus* spp., *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., manejo cultural, melhoramento genético, plantas matrizes, propagação.

¹ Graduando em Engenharia Agronômica, estagiário da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas - BA.

² Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas - BA

Cross pollination to improve the seed production of citrus hybrid rootstock trifoliolate HTR-051

Abstract

TThe Citrus Breeding Program of Embrapa Cassava & Fruits has obtained several hybrids with potential of use as rootstocks. However, the low seed production in some of these genotypes may limit their future commercial multiplication by nucellar seedlings. The effect of cross pollination was evaluated on the seed production of mother plants of the hybrid citrus rootstock trifoliolate HTR-051 in Cruz das Almas-BA, Brazil. The pollination of HTR-051 was necessary to increase the fruit set, with better results following self pollination or cross pollination with 'Hamlin' sweet orange and 'Argentina' citrange. Cross pollination resulted in higher seed number per fruit, notably when the pollen donor was 'Hamlin' sweet orange. The pollen donor species or variety influenced on the number of embryos per seed.

Keywords: *Citrus* spp., *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., breeding, cultural practices, mother plants, propagation.

Introdução

O sistema de produção de mudas de citros consiste basicamente na semeadura da variedade porta-enxerto, visando à multiplicação do clone nucelar, seguida da enxertia com a variedade-copa desejada (CARVALHO et al., 2005). Desta forma, na propagação dos citros, diversos atributos são relevantes para a seleção do porta-enxerto, a par do desempenho agronômico e da reação a estresses abióticos e bióticos (SOARES FILHO et al., 2011).

Neste sentido, a alta produção de sementes é de grande interesse, pois é diretamente proporcional à multiplicação de novas plantas em viveiros (CUNHA SOBRINHO et al., 2013). O número de sementes no fruto é determinado por fatores genéticos, fisiológicos e ambientais, sendo sua manifestação diferenciada para cada cultivar (CARVALHO et al., 1997). Além disso, a maioria das cultivares-porta-enxerto de citros produz sementes poliembriônicas, devido ao forte potencial embriogênico do tecido nucelar do ovário, que normalmente origina um ou múltiplos embriões adventícios ao redor do embrião sexual, fenômeno denominado apomixia adventícia, em que os embriões adventícios são geneticamente idênticos à planta original (NAKANO et al., 2013).

O número de embriões nas sementes de cultivares poliembriônicas é determinado por vários fatores. Além do grau de poliembrionia típico de cada cultivar, a espécie polinizadora, o estado nutricional da planta, o clima e a disponibilidade hídrica, por exemplo, podem influenciar na formação dos embriões (GARCÍA et al., 1999; SOARES FILHO et al., 1995, 2002; KHISORE et al., 2012). Esta variação pode ocorrer ainda entre frutos da mesma planta, em ramos diferentes e em anos diferentes. Por outro lado, quanto mais alta a taxa de poliembrionia, maiores são as chances de se obter plantas de origem nucelar, clones da planta matriz, adequadas à multiplicação comercial de portaenxertos.

A produção de sementes dos porta-enxertos de citros emprega usualmente plantas matrizes a céu-aberto. Sabe-se que há grande variação no comportamento dos porta-enxertos quanto ao número de sementes produzidas, sua qualidade e poliembrionia, sendo estes atributos avaliados no melhoramento genético dos citros (SOARES FILHO et al., 2011). Contudo, poucas são as informações disponíveis acerca da interferência do manejo cultural sobre esses mesmos atributos.

Enquanto porta-enxertos comerciais como o limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck) e o citrumelo 'Swingle' [*C. paradisi* Macfad. cv Duncan x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] produzem de 10 a mais de 20 sementes viáveis por fruto), a tangerineira 'Sunki' [*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] em geral produz menos de três sementes por fruto(CUNHA SOBRINHO et al., 2013. Esse fenômeno decorre de um mecanismo de autoincompatibilidade, que pode ser revertida pela polinização cruzada com genótipos compatíveis (CARVALHO et al., 1997). No entanto, em função da baixa taxa de poliembrionia em sementes da tangerineira 'Sunki', essa polinização pode resultar também em maior frequência de embriões híbridos (SOARES FILHO et al., 2000).

O híbrido trifoliolado HTR-051 foi obtido em Cruz das Almas-BA pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura (PMG Citros), sendo os parentais não identificados. Esse genótipo vem se destacando pela resistência ao vírus-da-tristezados-citros (*Citrus tristeza virus* - CTV) e à gomose-de-Phytophthora, boa tolerância à seca e indução de menor tamanho da copa cítrica, associadas a elevada produção, precocidade e qualidade de frutos (RAMOS et al., 2012; RODRIGUES et al., 2014). Sendo assim, HTR-051 apresenta grande potencial para lançamento como porta-enxerto. Contudo, apresenta como limitação à sua multiplicação a pequena produção de sementes, em média 2 sementes por fruto, embora com taxa média de poliembrionia de 87,5% e 4,31 embriões por semente (RODRIGUES, 2013).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da polinização cruzada sobre a produção de sementes em plantas matrizes do híbrido HTR-051.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido de agosto de 2011 a maio de 2013 em campo experimental correspondente à Quadra de Híbridos Selecionados I da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, BA (12° 40′ 12″ S, 39° 06′ 07″ W, altitude 220 m). De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é uma transição do tipo Am a Aw (tropical subúmido a seco), com temperatura média anual do ar de 23,8°C, precipitação pluvial média anual de 1.224 mm, concentrada de junho a agosto, e umidade relativa do ar média de 82,3%.

O solo da área experimental é classificado como latossolo amarelo distrocoeso, apresentando os seguintes atributos químicos na camada 0-20 cm: pH 5,4; P 8 mg dm⁻³; K 0,31; Ca 1,70; Mg 0,84; H + Al 2,09; Na 0,02; SB 2,87; CTC 4,96 cmol_c dm⁻³; V 58% e MO 12 g kg⁻¹. Temperaturas médias, máxima e mínima do ar e precipitação pluviométrica foram registradas durante o período do experimento (Figuras 1 e 2), com coleta na estação meteorológica presente na sede da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Seis plantas matrizes do híbrido trifoliolado HTR-051 com 10 anos de idade foram utilizadas para os cruzamentos controlados. Essas plantas são clones idênticos, multiplicados a partir de gemas adultas retiradas da planta híbrida original, obtida pelo PMG Citros. As plantas receberam os tratos culturais usualmente aplicados para citros na região (AZEVEDO et al., 2006).

Em cada árvore, foram instalados sacos de papel em ramos, em três manejos: (i) antes da antese, para evitar a ação de polinizadores/ vento; (ii) antes da antese, para evitar a ação de polinizadores, mas realizando-se a emasculação seguida da polinização manual com pólen,

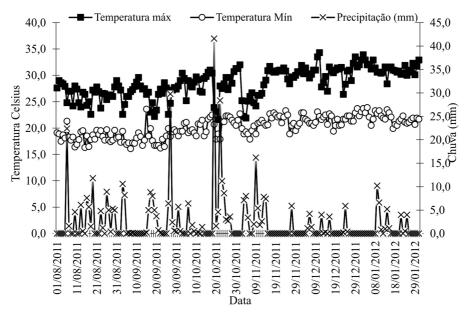


Figura 1. Temperaturas médias máxima e mínima do ar e precipitação pluviométrica na área experimental durante as avaliações realizadas nas polinizações de 2011. Cruz das Almas, BA, 2011-2012.

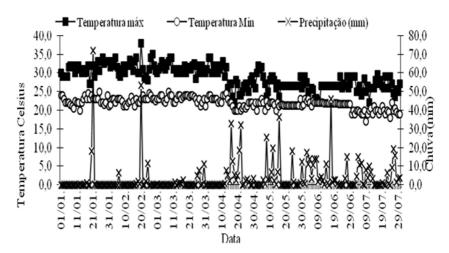


Figura 2. Temperaturas médias máxima e mínima do ar e precipitação pluviométrica na área experimental durante as avaliações realizadas nas polinizações de 2012. Cruz das Almas, BA, 2011-2012.

tendo como parentais masculinos o próprio HTR-051 (autopolinização), a laranjeira 'Hamlin' [*C. sinensis* (L.) Osbeck], citrange 'Argentina' [*C. sinensis* x *P. trifoliata* (L.) Raf.] e *C. webberi* Wester (polinização cruzada); (iii) polinização aberta. Para cada manejo, foram marcados 12 ramos por árvore, três em cada quadrante da copa, e o número de flores e taxa de fixação de frutos foram registrados (Tabela 1). Os genótipos polinizadores foram definidos em função de sua elevada fertilidade de pólen, de acordo com Domingues et al. (1999) no caso da laranjeira 'Hamlin', e com o banco de dados do PMG Citros, no caso do citrange 'Argentina' e *C. webberi*. Em agosto de 2012, esses mesmos procedimentos foram repetidos, porém os únicos parentais masculinos utilizados nos cruzamentos foram HTR-051 e laranjeira 'Hamlin' (Tabela 1).

As colheitas dos frutos foram realizadas em março de 2012 e maio de 2013, para cada experimento, respectivamente. Avaliaram-se, em frutos, a massa (pesagem em balança analítica), o comprimento e a altura (medição com régua graduada) e o número de sementes (contagem direta), e em sementes, a massa, o número de embriões por semente (contagem direta com auxílio de lente de aumento 10 X) e a taxa de poliembrionia (calculada pela percentagem de sementes com dois ou mais embriões).

Os resultados foram submetidos ao teste do Q-Quadrado ($P \le 0.05$) para avaliar os efeitos causados pela polinização cruzada sobre as variáveis estudadas. Para a avaliação dos frutos e sementes obtidos, os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \le 0.05$), com número de repetições correspondendo ao número de frutos obtidos em cada manejo de polinização e parental masculino.

Tabela 1. Data de polinizações, parental masculino utilizado, número de flores polinizadas, número e taxa de fixação de frutos após a polinização de matrizes do híbrido de citros trifoliolado HTR-051. Cruz das Almas, BA, 2011-2013.

Data de Polinização	Parental masculino	Flores polinizadas (unid)	Frutos fixados (unid)	Taxa de fixação (%)
02/09/2011	Flor fechada	58	12	20,7
05/09/2011	Flor fechada	68	5	7,4
06/09/2011	HTR-051	12	10	83,3
13/09/2011	HTR-051	26	8	30,8
12/09/2011	Laranjeira 'Hamlin'	13	7	53,8
28/09/2011	Citrange 'Argentina'	20	8	40,0
21/11/2011	Citrus webberi	16	1	6,3
28/11/2011	Polinização aberta	-	12	-
30/11/2011	Polinização aberta	-	12	-
04/02/2013	Laranjeira 'Hamlin'	24	0	0,0
04/02/2013	Laranjeira 'Hamlin'	15	4	26,7
06/02/2013	Laranjeira 'Hamlin'	12	2	16,7
06/02/2013	Laranjeira 'Hamlin'	13	5	38,5
01/02/2013	HTR-051	12	0	0,0
12/09/2012	Flor Fechada	51	0	0,0
04/09/2012	Flor Fechada	35	0	0,0
12/09/2012	Flor Fechada	49	5	10,2
04/09/2012	Flor Aberta	-	5	-
12/09/2012	Flor Aberta	-	5	-
14/09/2012	Flor Aberta	-	10	_

Resultados e Discussão

De maneira geral, observou-se baixo florescimento na área experimental em 2011 para todos os genótipos envolvidos no estudo, bem como de forma generalizada entre os demais genótipos presentes no banco de germoplasma da Embrapa. Este fato pode ter decorrido de efeitos climáticos sobre as plantas, uma vez que a precipitação pluviométrica excessiva no período, antecedendo e coincidindo com a florada, resultou tanto em baixa indução à florada nos citros como também em elevada e generalizada incidência da doença podridãofloral-dos-citros (Colletotrichum acutatum), vulgarmente conhecida como "estrelinha", reduzindo a fixação de flores e frutos (Figuras 1 e 2). Embora o ensacamento de flores emasculadas seja prática comum na hibridação de citros, o efeito do próprio saco causando baixa fixação de frutos não poderia ser descartado, por exemplo, devido a um aumento da temperatura e da umidade no ambiente em que as flores se encontravam, como consequência de uma má circulação do ar determinada pelo saco de papel.

Observou-se que a fixação dos frutos não diferiu entre flores autopolinizadas ou flores de polinização cruzada (Tabela 2). Observou-se que a fixação dos frutos foi menor quando o fornecedor de pólen foi *C. webberi*. A laranjeira 'Hamlin', o citrange 'Argentina' e o próprio HTR-051 não se distinguiram quanto à fixação dos frutos. As flores que foram mantidas fechadas em sacos de papel sem serem polinizadas apresentaram fixação de frutos inferior em relação às flores polinizadas artificialmente, indicando que é necessária a polinização por agentes como vento ou abelhas. O fato de se verificar 13,5% de fixação nas flores mantidas fechadas sem polinização artificial pode ser explicado pela existência de partenocarpia.

Após a realização do último levantamento referente ao vingamento de frutos foi feita a colheita (Tabela 3). A massa dos frutos não foi influenciada pelo polinizador das flores que os originaram, mas o tamanho dos frutos foi alterado. O comprimento de frutos

Tabela 2. Efeitos da polinização sobre a fixação de frutos em matrizes do híbrido de citros trifoliolado HTR-051. Cruz das Almas, BA, 2012.

Polinização	Flor (unid)	Frutos (unid)	Abortos (unid)	Frutos (%)	Aborto (%)	\mathbb{Q}^2
Auto	164	35	129	21,3	78,7	2,6508ns
Cruzada	49	16	33	32,7	67,3	
Parental masculino	Flor (unid)	Frutos (unid)	Abortos (unid)	Frutos (%)	Aborto (%)	\mathbb{Q}^2
HTR-051	38	18	20	47,4	52,6	9,5377*
Laranjeira 'Hamlin'	13	7	9	53,8	46,2	
Citrange 'Argentina'	20	8	12	40,0	0,09	
C. webberi	16	1	15	6,3	93,8	
Polinização	Flor (unid)	Frutos (unid)	Abortos (unid)	Frutos (%)	Aborto (%)	\mathbb{Q}^2
Ausente	126	17	109	13,5	86,5	18,5042**
Presente	87	34	53	39,1	60,9	

Tabela 3. Variáveis biométricas de frutos e sementes do híbrido de citros trifoliolado HTR-051 submetido a diferentes polinizações. Cruz das Almas, BA, 2012.

Parental masculino	Massa	Altura Fruto	Comp.	Sementes/	N° Embriões	Massa
	Fruto (g)	(mm)	Fruto (mm)	Fruto (unid)	Fruto (unid) / Semente	Sementes (g)
Laranjeira 'Hamlin'	13,11 a	27,82 a	24,90 ab	5,44 b	1,58 a	0,75 a
Citrange 'Argentina'	19,12 a	33,23 b	29,34 c	1,37 a	2,20 ab	0,41 a
Polinização aberta	12,75 a	28,17 a	23,81 a	0,49 a	4,18 ab	0,44 a
Polinização fechada	19,05 a	32,79 ab	27,94 bc	0,00 a	1	1
Autopolinização	17,43 a	32,00 b	27,37 abc	0,31 a	4,50b	1
CV (%)	19,29	13,84	13,78	49,15	25,59	13,46
Teste F	7,026*	7,763*	9,31*	18,81*	14,086*	0,11ns
Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade	diferentes na c	soluna diferem enti	e si pelo teste d	Tukey a 5% de	probabilidade	

foi menor após polinização aberta ou quando o polinizador foi a laranjeira 'Hamlin', em relação aos demais tratamentos, sendo que os polinizadores citrange 'Argentina' e HTR-051 também levaram a uma maior altura de frutos. O polinizador *C. webberi* resultou em único fruto (4,31 g) sem sementes, razão pela qual foi excluído da análise. Com relação ao número de sementes por fruto, flores polinizadas por laranjeira 'Hamlin' resultaram em frutos com o maior número de sementes, 5 a 6 vezes superior ao dos demais tratamentos, principalmente quando o polinizador foi o próprio HTR-051, que determinou a menor produção média de sementes. Frutos autopolinizados geraram apenas duas sementes (0,24 g), enquanto flores com polinização fechada não produziram sementes.

Quanto ao número de embriões por semente, flores polinizadas por pólen da laranjeira 'Hamlin' resultaram em sementes com o menor número de embriões, observando-se o contrário quando o polinizador foi o próprio HTR-051, que foi o tratamento com o maior número de embriões por semente. A variável massa das sementes não foi influenciada pelos polinizadores avaliados, mesmo apresentando um coeficiente de variação considerado baixo. Visualmente, observouse que as sementes de frutos provenientes de polinização por laranjeira 'Hamlin' apresentaram superfícies mais rugosas em relação às sementes dos demais frutos. A taxa média de poliembrionia de sementes de frutos provenientes de polinização aberta, de autopolinização e de polinização cruzada com laranjeira 'Hamlin' e com o citrange 'Argentina' correspondeu a, respectivamente, 85%, 50%, 58% e 80%.

O pólen de laranjeira 'Hamlin' apresenta elevada viabilidade quando comparado ao de outras laranjeiras (DOMINGUES et al., 1999), e, portanto, a alta fixação de frutos e a formação de um maior número de sementes por frutos era esperada. Contudo, apesar da elevada viabilidade, a taxa de germinação do pólen de laranjeira 'Hamlin' é inferior à de outras espécies cítricas, notadamente tangerineiras e seus híbridos (ALBRIGO; ACHOR, 2001). Assim, a taxa de formação de

sementes no híbrido trifoliolado HTR-051 poderia ser ampliada com uso de outros polinizadores e existindo óvulos suficientes pelo HTR-051 (CARVALHO et al., 1997).

A formação dos embriões nucelares ou somáticos em Citrus se inicia no tecido nucelar do saco embrionário ainda na antese, antes da polinização e da fecundação, portanto, a embriogênese está determinada já no estágio de florescimento, sendo regulada geneticamente (NAKANO et al., 2013). Contudo, a completa formação dos embriões nucelares é dependente do desenvolvimento do endosperma e, portanto, é necessário ocorrer a fecundação prévia (ALEZA et al., 2010). Daí decorre que a taxa de poliembrionia também pode ser influenciada por diversos fatores ambientais e de manejo, incluindo o polinizador utilizado, uma vez que esses podem, por exemplo, promover diferentes taxas de fecundação e, consequentemente, frequência distintas entre embriões zigóticos e nucelares (SOARES FILHO et al., 1995). Esse comportamento pode explicar a menor taxa de poliembrionia das sementes obtidas pela polinização com laranjeira 'Hamlin' em relação à autopolinização do híbrido HTR-051 observada neste trabalho. Possivelmente, enquanto ocorre autoincompatibilidade no HTR-051, promovendo maior formação de embriões nucelares, com pólen da laranjeira 'Hamlin' estimulou-se maior formação dos zigóticos.

Existe influência da fertilidade do pólen sobre a taxa de poliembrionia, com uma correlação positiva entre sementes com alta poliembrionia e uma alta percentagem de pólen viável, conforme Moreira et al. (1947). Esses autores relatam que a baixa ou nenhuma poliembrionia pode estar ligada à alta ou baixa fertilidade do pólen envolvido no cruzamento. Segundo Moreira; Gurgel (1941), na produção de sementes de citros, o pólen pode possuir uma correlação positiva, sendo que quanto maior a fertilidade do pólen, maior será o número de sementes, quando não ocorre nenhum tipo de incompatibilidade entre as variedades.

Essas observações se aplicam parcialmente aos resultados observados neste estudo, quando se comparam as polinizações efetuadas, e indicam a importância do estudo de cruzamentos controlados para o entendimento da produção de sementes viáveis com alta taxa de poliembrionia, com vistas ao estabelecimento de práticas de manejo de plantas matrizes de porta-enxertos de citros.

Resultados semelhantes foram observados no ano de 2012, após novas polinizações, dessa vez priorizando a laranjeira 'Hamlin' nas polinizações cruzadas (Tabelas 1, 4 e 5). A fixação média de frutos após a polinização com pólen de laranjeira 'Hamlin' foi de 17,2%, contudo a fixação variou muito entre as plantas polinizadas, entre um máximo de 38,5% até ausência de fixação (Tabela 1). As flores abertas foram utilizadas como testemunhas, cujos frutos sofreram livre interferência do meio, sendo sua obtenção, portanto, relacionada ao acaso, razão pela qual não foi calculada sua percentagem de fixação, já que foram selecionados frutos ao acaso. Quando HTR-051 foi polinizado com o próprio pólen, não se obteve fixação de frutos em 2013, e a polinização fechada resultou em fixação inferior àquela apresentada após a polinização cruzada (Tabela 4). Novamente em 2012, observaram-se condições climáticas pouco favoráveis à fixação dos frutos de citros de forma generalizada na área experimental (Figura 2).

Observaram-se maiores dimensões nos frutos obtidos pelas polinizações fechada e aberta em relação àqueles provenientes da polinização cruzada (Tabela 5). Com relação ao número de sementes, frutos resultantes da polinização com laranjeira 'Hamlin' apresentaram número médio de sementes (2,17) equivalente aos que foram submetidos à polinização aberta (1,63), porém superior ao rendimento de sementes nos frutos provenientes da polinização fechada (0,81). Contudo, houve elevado coeficiente de variação, pois o intervalo de número de sementes por fruto variou de zero a dez, notadamente em frutos de polinização fechada e cruzada, respectivamente (Figura 3).

Tabela 4. Efeitos da polinização sobre a fixação de frutos em matrizes do híbrido de citros trifoliolado HTR-051. Cruz das Almas, BA, 2012.

Polinização			Abortos (unid)		Aborto (%)	Q ²
Fechada	135	5	130	3,7	96,3	10,67*
Laranjeira 'Hamlin'	64	11	53	17,2	82,8	

Tabela 5. Variáveis biométricas de frutos e sementes do híbrido de citros trifoliolado HTR-051 submetido a diferentes polinizações. Cruz das Almas, BA, 2013.

Polinizador	Comprimento fruto (mm)	Diâmetro fruto (mm)	Sementes/ Fruto (unid)	Embriões/ Semente (unid)
Laranjeira 'Hamlin'	26,58 a	32,01 a	2,17 b	1,21 a
Polinização aberta	30,62 b	36,04 b	1,63 b	1,87 b
Polinização fechada	29,24 ab	36,63 b	0,81 a	-
CV (%)	9,33	10,77	46,69	48,23
Teste F	7,81**	7,61**	5,30*	20,87**

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Esses resultados reforçam aqueles obtidos no ano de 2012, indicando que frutos formados através de polinização com a laranjeira 'Hamlin' apresentam um maior número médio de sementes em relação ao verificado nos demais tratamentos estudados, em geral. Essas observações sugerem que o híbrido HTR-051 apresente algum grau de autoincompatibilidade, limitando também a produção de sementes em condições de plantio isolado. Para o número de embriões por semente, observou-se diferença entre os tratamentos, sendo que sementes formadas a partir de polinização por laranjeira 'Hamlin' foram em sua maioria monoembriônicas (Tabela 5), uma característica que foi observada no experimento anterior também. Essa condição, por sua vez, deve ser analisada a fim de se evitar a multiplicação comercial dos embriões zigóticos.

Outras observações pontuais foram realizadas no experimento, como a coloração dos frutos e da polpa dos frutos provenientes das diferentes polinizações. Os frutos que foram formados após a polinização com laranjeira 'Hamlin' apresentaram coloração mais esverdeada, tanto da polpa como da casca, além de polpa mais suculenta e espessura de casca menor em comparação aos frutos provenientes da polinização aberta e fechada (Figura 3). Frutos obtidos pela polinização fechada apresentaram casca mais espessa e rugosa, além de uma polpa mais ressecada, enquanto naqueles provenientes da polinização aberta observou-se variação entre esses caracteres.



Figura 3. Frutos e sementes do híbrido de citros trifoliolado HTR-051 obtidos após polinização com pólen de laranjeira 'Hamlin' (esq.), polinização aberta (cen.) e polinização fechada (dir.). Cruz das Almas, BA, 2013.

Conclusões

Considerando-se as condições deste trabalho, pode-se concluir que:

- A polinização de matrizes do híbrido trifoliolado HTR-051 resulta em maior fixação de frutos, com melhores resultados observados com autopolinização ou polinização cruzada com a laranjeira 'Hamlin' e com o citrange 'Argentina'.
- 2) A polinização cruzada do híbrido HTR-051 aumenta a produção de sementes por fruto, especialmente empregando-se como variedade polinizadora a laranjeira 'Hamlin'. Contudo, a taxa de poliembrionia das sementes resultantes dessa polinização é reduzida, o que pode acarretar em maior formação de porta-enxertos zigóticos ou "machinhos".

3) A espécie ou variedade polinizadora influencia no número de embriões formados por semente do híbrido HTR-051.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb), pelo auxílio financeiro (Termo de Outorga PPP030/2011) e pela bolsa de iniciação científica do primeiro autor (Termo de Outorga BOL1105/2012); à Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo apoio técnico e fornecimento de materiais vegetais; ao assistente de pesquisa Magno Guimarães Santos, pelo apoio técnico.

Referências

ALBRIGO, L. G.; ACHOR, D. S. Low production of Ambersweet orange in Florida related to poor pollen production and germination. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 114, p. 127-131, 2001.

ALEZA, P.; JUÁREZ, J; OLLITRAULT, P.; NAVARRO, L. Polyembryony in non-apomictic citrus genotypes. **Annals of Botany**, v. 106, n. 4, p. 533-545, 2010.

AZEVEDO, C. L. L.; PASSOS, O. S.; SANTANA, M. do A. Sistema de produção para pequenos produtores de citros do Nordeste. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 55 p.: il. (Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Documentos, 157).

CARVALHO, M. R. T.; BORDIGNON, R.; BALLVÉ, R. M. L.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; MEDINA FILHO, H. P. Aspectos biológicos do reduzido número de sementes da tangerina 'Sunki'. **Bragantia**, v. 56, n. 1, p. 69-73, 1997.

CARVALHO, S. A.; GRAF, C. C. D.; VIOLANTE, A. R. Produção de material básico e propagação. In: MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, P. **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas: Fundag, 2005. p. 281-316.

CUNHA SOBRINHO, A. P.; PASSOS, O.S.; SOARES FILHO, W. S.; GIRARDI, E. A. Propagação In: CUNHA SOBRINHO, A. P. da; MAGALHÃES, A. F. de J.; SOUZA, A. da S.; PASSOS, O. S.; SOARES FILHO, W. dos S.. (Org.). Cultura dos citros. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2013, v. 1, p. 321-346. Cap. 11.

DOMINGUES, E. T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Viabilidade do pólen em variedades de laranja doce. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 2, p. 265-272, 1999.

GARCÍA, R.; ASÍNS, M. J.; FORNER, J.; CARBONELL, E. A. Genetic analysis of apomixis in Citrus and Poncirus by moleculars markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.99, p.511-518, 1999.

KISHORE, K.; RINCHEN, M. N.; LEPCHA, B.; PANDEY, B. Polyembryony and seedling emergence traits in apomictic citrus. **Scientia Horticulturae**, Amsterdan, v.138, p.101-107, 2012.

MOREIRA, S.; GURGEL, J. T. A. A fertilidade do polen 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.

MOREIRA, S.; GURGEL, J.T.A.; ARRUDA, L.F. Poliembrionia em citrus. **Bragantia**, v.7, n.3, p. 69-106, 1947.

NAKANO, M.; KIGOSHI, K.; SHIMIZU, T.; ENDO, T.; SHIMADA, T.; FUJII, H.; OMURA, M. Characterization of genes associated with polyembryony and in vitro somatic embryogenesis in Citrus. **Tree Genetics & Genomes, Heidelberg**, v.9, n.3, p.795-803, 2013.

RAMOS, Y. C.; STUCHI, E. S.; GIRARDI, E. A.; LEAO, H. C.; GESTEIRA, A. S.; PASSOS, O. S.; SOARES FILHO, W. S. Dwarfing rootstocks for 'Valencia' sweet orange In: INTERNATIONAL CITRUS CONGRESS,12, 2012, Valencia - Espanha. **Book of Abstracts**... Valencia: International Society of Citriculture, 2012. p. 324 – 325.

RODRIGUES, M.J.S. **Produção de mudas de citros em novos porta- enxertos híbridos sob ambiente protegido**. 2013. 102f. (Dissertação de mestrado) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2013..

RODRIGUES, A. S.; BARBOSA, C. J.; SOARES FILHO, W. S.; FREITAS-ASTÚA, J. Comportamento de híbridos de citros em relação à infecção natural pelo Citrus tristeza virus e à presença de sintomas de descamamento eruptivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.3, p.731-737, 2014.

SOARES FILHO, W. S. (Ed.). **Reunião técnica**: obtenção, seleção e manejo de variedades porta-enxerto de citros adaptadas a estresses abióticos e bióticos. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2011. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Documentos, 200). 1 CD-ROM.

SOARES FILHO, W. S.; LEE, L. M.; CUNHA SOBRINHO, A. P. Influence of pollinators on polyembriony in citrus. **Acta Horticulturae**, n. 403, p.256-265, 1995.

SOARES FILHO, W. S.; MEDRADO, A. C. M.; CUNHA, M. A. P.; CUNHA SOBRINHO, A. P.; PASSOS, O. S. Frequência de híbridos em cruzamentos controlados de citros: cultivo de sementes versus cultivo in vitro de embriões. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.7, p.981-988, 2002.

SOARES FILHO, W. S.; MOREIRA, C. S.; CUNHA, M. A. P.; CUNHA SOBRINHO, A. P.; PASSOS, O. S. Poliembrionia e freqüência de híbridos em Citrus spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.4, p.857-864, 2000.



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

