

PROGRAMA DE MELHORAMENTO DE CITROS POR HIBRIDAÇÃO CONTROLADA NO CENTRO APTA CITROS “SYLVIO MOREIRA”/IAC EM 1997–2005

MARIÂNGELA CRISTOFANI^{1, 2}, VALDENICE MOREIRA NOVELLI¹, MAINA SIA PERIN^{1,3},
ANTONIO CARLOS DE OLIVEIRA⁴, ROBERTO PEDROSO OLIVEIRA⁵,
MARINÊS BASTIANEL^{1,6} e MARCOS ANTONIO MACHADO^{1,2}

RESUMO

A obtenção de genótipos portadores de resistência genética a patógenos em citros é preconizada como alternativa racional diante do combate e do convívio às inúmeras doenças da cultura. Embora os desafios na obtenção de progênies híbridas no cruzamento dentro do gênero *Citrus* e entre gêneros próximos sejam consideráveis, existem várias fontes de resistência a fatores bióticos e abióticos que podem ser empregadas na obtenção de indivíduos que, além de apresentar resistência a doenças, sejam dotados de características agrônômicas e industriais desejáveis. Essa abordagem é particularmente importante quando a ela se agregam ferramentas da biologia molecular, que auxiliam na seleção de indivíduos zigóticos e nucelares, no mapeamento genético, culminando com a seleção assistida por marcadores, uma etapa ainda em processo de incorporação

¹ Centro APTA Citros “Sylvio Moreira”– IAC, Caixa Postal 4, 13490-970 Cordeirópolis (SP). (E-mail: mariangela@centrodecitricultura.br).

² Bolsista do CNPq.

³ Bolsista da FAPESP.

⁴ Departamento de Ciências Naturais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, Caixa Postal 95, 45083-900 Vitória da Conquista (BA).

⁵ Embrapa Clima Temperado, Caixa Postal 403, 96001-970 Pelotas (RS).

⁶ Departamento de Genética e Evolução, UNICAMP, 13.083-970 Campinas (SP).

aos programas de melhoramento de citros. Com o objetivo de explorar as fontes de resistência às doenças existentes, realizaram-se cruzamentos interespecíficos e intergenéricos em plantas do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) no Centro APTA Citros “Sylvio Moreira”/IAC. Esses cruzamentos fazem parte de um programa de melhoramento genético de porta-enxertos e copas, visando à síntese e à seleção de material genético para ampliar o número de cultivares da citricultura brasileira.

Termos de indexação: *Citrus*, resistência, doenças, mapas genéticos, germoplasma

SUMMARY

THE PROGRAM FOR CITRUS BREEDING THROUGH CONTROLLED CROSSES AT CENTRO APTA CITROS “SYLVIO MOREIRA”/IAC, IN BRAZIL, FROM 1997 TO 2005

Obtaining genotypes carrying genetic resistance to pathogens in citrus is a reasonable alternative to control and coexist with the several diseases of the culture. Although the challenge of obtaining hybrid progenies from controlled crossings within *Citrus* spp. or with related genera are considerable, there are sources of resistance to biotic and abiotic factors that can be potentialized to obtain plants with desirable agronomic and industrial characteristics. This approach is particularly important when we aggregate tools of molecular biology helping with the selection of zygotic and nucellar individuals, the construction of genetic maps, and marker-assisted selection. Aiming to explore the sources of resistance in existence, several interespecific and intergeneric crosses were carried out using plants of the Citrus Germplasm Bank of the Centro APTA Citros “Sylvio Moreira” “Instituto Agronômico de Campinas” (São Paulo State, Brazil). These crosses are part of a wide program of genetic breeding of rootstock and scion varieties with the goal of obtaining promising materials to broaden the number of cultivars for the Brazilian citriculture.

Index terms: *Citrus*, resistance, diseases, genetic maps, germplasm.

1. INTRODUÇÃO

O histórico da citricultura é marcado por uma sucessão de doenças causadas por diferentes agentes etiológicos. A vulnerabilidade dos citros a pragas e doenças decorre da adoção de um sistema de produção monocultural para as espécies de interesse econômico, em que um número reduzido de variedades, com estreita base genética, é cultivado em grandes extensões de área. Diferentes fitopatógenos de citros tornaram-se problemas graves, no Brasil no século XX, tais como o vírus da tristeza dos citros (CTV), nos anos 40s, o declínio, de etiologia desconhecida, nos anos 70s (RODRIGUEZ et al., 1979) e a clorose variegada dos citros (CVC), nos anos 90s (ROSSETTI et al., 1990). Com o início do século XXI, duas importantes doenças foram constatadas: a morte súbita dos citros (MSC) (GIMENES-FERNANDES & BASSANEZI, 2001; MÜLLER et al., 2001) e o huanglongbing (HLB) (*ex-greening*) (COLETTA FILHO et al., 2004).

Apesar de o gênero *Citrus* apresentar grande diversidade de espécies, um pequeno número de cultivares é utilizado comercialmente. Em relação às cultivares-copa de maturação tardia, segundo POMPEU JUNIOR et al. (2004), no período 1999-2004, a laranja 'Pêra' foi o cultivar mais plantado (34,8%), seguido por 'Valência' (32,9%), 'Natal' (14,8%), 'Folha Murcha' (4,5%), 'Westin' (2,1%) e 'Valência Americana' (0,7%), presentes nas mudas. A 'Hamlin' liderou o grupo das precoces com 8,9% das mudas, seguidas pelas laranjas-de-umbigo, 'Bahia' e 'Baianinha', que, em conjunto, representaram 1,4%.

As tangerinas e seus híbridos constituem o segundo grupo entre os cítricos de maior importância comercial no Estado de São Paulo. São dez milhões de plantas distribuídas pelas mais diferentes regiões edafoclimáticas. Entretanto, cerca de 80% desses plantios baseiam-se apenas em duas variedades - a tangerina 'Ponkan' e o tangor 'Murcott' - sendo essa adequada para a exportação como fruta *in natura* (AZEVEDO & PIO, 2002).

Quanto aos porta-enxertos, o limão 'Cravo' lidera a preferência no Estado de São Paulo, sendo a principal razão a precocidade e a alta produtividade conferida à variedade-copa nele enxertada. Plantas sobre limão 'Cravo' têm geralmente boas safras a partir dos três anos de idade. A característica mais associada ao seu bom desempenho é, provavelmente, sua resistência à seca, fator importante, já que mais de 90% da citricultura paulista está con-

centrada em regiões com *deficit* hídrico sazonal e com estiagens de 60 a 120 dias durante a florada. Adicionalmente, o limão ‘Cravo’ é tolerante à tristeza, embora seja suscetível a doenças como: exocorte, xiloporose, gomose e declínio. Assim, o histórico das doenças na citricultura brasileira até o início do século XXI permite concluir que as características indesejáveis do limão ‘Cravo’ não foram limitantes e as vantagens da sua utilização justificam sua preferência na citricultura até hoje.

Entretanto, com o recente surgimento e expansão da MSC, dada a suscetibilidade do limão ‘Cravo’, um dos principais objetivos de programas de melhoramento genético de citros passou a ser o estudo de porta-enxertos que o substituam. Em um ano, houve redução de 49,34% na produção de porta-enxertos de limão ‘Cravo’ em 396 viveiros telados de São Paulo e do Triângulo Mineiro (TODA FRUTA, 2003).

O melhoramento genético de porta-enxertos representa um dos maiores interesses da citricultura, uma vez que os citros raramente são cultivados na forma de pé franco e o método de propagação mais usual é a enxertia, ou seja, a combinação de uma variedade-copa com um porta-enxerto mais adaptado às condições adversas, resultando em tolerância a estresses diversos, melhoria da qualidade do fruto e aumento de produtividade (GROSSER & GMITTER JR., 1990). No Brasil, grande número de pesquisas tem sido feito, desde aquelas que resultaram na indicação de porta-enxertos tolerantes à tristeza até outras que avaliaram o comportamento em relação à gomose, ao declínio, a condições de solo e, particularmente, à qualidade da fruta e produtividade (PASSOS et al., 2002). Experimentos visando à substituição do limão ‘Cravo’ em função da MSC já estão ocorrendo com as tangerinas ‘Sunki’ e ‘Cleópatra’, o citrumelo ‘Swingle’ e vários híbridos de *Poncirus trifoliata* que se mostram tolerantes à mesma⁷.

Todos os porta-enxertos usados atualmente, no mundo, possuem limitações, não havendo, portanto, nenhum porta-enxerto cítrico perfeito. Ao longo de muitos anos, cada região citrícola selecionou porta-enxertos adaptados as suas condições. Muitos locais, porém, ainda não têm porta-enxertos apropriados. Por esse motivo, os principais países produtores conduzem

⁷ J. POMPEU JUNIOR. Comunicação pessoal, 2005.

programas de melhoramento contínuos para obtenção de porta-enxertos. No Brasil, vários trabalhos como seleção de novos porta-enxertos para os principais cultivares de laranja e resistência às doenças têm sido realizados (POMPEU JUNIOR, 2001; BORDIGNON et al., 2004).

O melhoramento dos citros por métodos tradicionais sofre limitações em vista de fatores biológicos característicos do gênero, como, por exemplo, longos ciclos de reprodução, juvenilidade, poliembrião nucelar e poliploidia (GROSSER & GMITTER JR., 1990). Entre esses fatores, a apomixia e/ou poliembrião talvez seja o que mais dificulta a obtenção de grande número de indivíduos zigóticos na progênie, uma vez que o desenvolvimento de populações segregantes é condição para o estabelecimento de um programa de melhoramento bem sucedido havendo, portanto, necessidade de recuperar e selecionar o embrião zigótico.

Embora os desafios na obtenção de progênies no cruzamento dentro do gênero *Citrus* e entre gêneros próximos sejam consideráveis, existem várias fontes de resistência a fatores bióticos e abióticos que podem ser potencializadas na obtenção de indivíduos com características agrônômicas e industriais desejáveis. Essa abordagem é particularmente importante quando se agregam ferramentas adicionais, que auxiliem na seleção de indivíduos zigóticos, na obtenção de marcadores morfológicos e moleculares, e no mapeamento genético, culminando com a seleção assistida por marcadores, uma etapa ainda em processo de incorporação aos programas de melhoramento de citros.

Com o objetivo de explorar as fontes de resistência a doenças e pragas, realizaram-se diversos cruzamentos interespecíficos e intergenéricos no Centro APTA Citros “Sylvio Moreira”. Esses cruzamentos fazem parte de um programa de melhoramento genético de porta-enxertos e copas, que visam ampliar o número de cultivares na citricultura.

2. PROGRAMA DE MELHORAMENTO DE CITROS POR HIBRIDAÇÃO CONTROLADA NO CENTRO APTA CITROS “SYLVIO MOREIRA”/IAC

Para obtenção de híbridos de citros, realizaram-se 17 diferentes cruzamentos controlados, em acessos do Banco Ativo de Germoplasma do Centro APTA Citros “Sylvio Moreira”, nas floradas de 1993, 1997 e 2003.

As espécies e híbridos envolvidos nos cruzamentos foram: tangerina ‘Sunki’ (*Citrus sunki* Hort. ex Tan.), trifoliata [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.], tangor ‘Murcott’ [*C. sinensis* (L.) Osbeck x *C. reticulata* Blanco], laranjas-doces ‘Caipira’, ‘Pêra’ e ‘Valência’ [*C. sinensis* (L.) Osbeck], tangelo ‘Orlando’ [*C. paradisi* (Macf.) x *C. reticulata* Blanco], mexerica ‘Rio’ (*C. deliciosa* Ten) limão ‘Cravo’ (*C. limonia* Osbeck), citrumelo ‘Swingle’ (*C. paradisi* x *P. trifoliata*), limão ‘Volkameriano’ (*C. volkameriana*), tangerinas ‘Ponkan’ e ‘Cravo’ (*C. reticulata*), toranja (*C. grandis* Osbeck.), e laranja ‘Azeda’ (*C. aurantium* L.). Os parentais utilizados nos cruzamentos foram escolhidos em função do comportamento diferencial em relação à resistência às doenças.

A viabilidade dos grãos de pólen foi determinada observando-se a germinação em meio de cultura constituído de 1% de ágar, 15% de sacarose, 100 mg/L de H_3BO_3 , 300 mg/l de $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 200 mg/L de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ e 100 mg/L de KNO_3 . Os grãos de pólen foram espalhados na superfície de uma lâmina de microscopia contendo 2 mL do meio de cultura e colocados, em seguida, em caixas de plástico com papel de filtro umedecido. A incubação foi realizada a 24 °C por 24 horas.

Coletaram-se os frutos maduros oriundos dos cruzamentos controlados entre maio e julho dos anos seguintes às polinizações. As sementes foram extraídas, descascadas, desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio comercial (2% do princípio ativo) a 25% e colocadas em frascos contendo meio de cultura MT (MURASHIGE & TUCKER, 1969), com a metade da concentração de macro e de micronutrientes e sem adição de sacarose, visando favorecer a germinação dos embriões zigóticos. Os frascos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 24 °C. As plântulas obtidas foram transplantadas em tubetes contendo substrato comercial Rendmax® e mantidas em casa de vegetação.

Aproximadamente três meses após a germinação, iniciou-se o processo de seleção das plântulas quanto à natureza híbrida, empregando-se marcadores morfológicos como a folha trilobada para os cruzamentos nos quais um dos parentais foi *Poncirus trifoliata* ou híbridos de trifoliata e marcadores microssatélites - *Simple Sequence Repeats* - SSR (Tabela 1). No último caso, a identificação de plântulas zigóticas e nucelares dos cruzamentos foi realizada através da comparação dos padrões de bandas dos indivíduos da progênie e dos parentais.

Tabela 1. Relação dos locos microsatélites utilizados para a identificação de híbridos oriundos de diversos cruzamentos, nucleotídeos e número de repetições e as seqüências *forward* e *reverse*, dos iniciadores (*primers*)

Loco	Número de repetições (nucleotídeos)	<i>Forward</i> (5' → 3')	<i>Reverse</i> (3' → 5')
CCSM4	(AG)n	ttctcctcatcttcgactcc	cggatcttacgacgtatcaa
CCSM6	(AG)n	atctgtgtgaggactgaa	cctctattaatgtgcctg
CCSM13	(AG)n	ctagagccgaattcacc	aacagctaccaagacacc
CCSM40	(GCAACA)10	acaagagtcgcaacaatc	gacaacagtggaatacc
CCSM68	(AG)18	acatggacaggacaactaag	cacttctgccttgcctatg
CCSM69	(AG)21	gcaaggagttagtaatgtgg	ccattcctgagacagtgaag
CCSM75	(TC)14	accttgaattcatctctct	gcaattccaatgttagc

3. RESULTADOS OBTIDOS ATÉ O MOMENTO

Os cruzamentos que geraram um número suficiente de progênes híbridas (i.e., mais de 100 indivíduos) foram utilizados para a construção de mapas genéticos de ligação e para avaliar resistência às doenças, tais como *Citrus tristeza virus* (CTV), gomose de *Phytophthora*, clorose variegada dos citros (CVC), leprose, mancha marrom de alternária e características como enraizamento de estacas e quantidade de frutos e sementes.

A Tabela 2 apresenta os 17 cruzamentos interespecíficos e intergenéricos realizados, o número de plântulas avaliadas e de híbridos obtidos e também a frequência (%) de embriões zigóticos, que variou de 0 a 100% nas progênes avaliadas. Os cruzamentos com maior número de híbridos por número de plantas avaliadas foram os de toranja *vs.* tangerina 'Cravo' com 100% de híbridos, pois a toranja é monoembriônica, e tangerina 'Sunki' *vs.* *Poncirus trifoliata*, nos quais 99% das plantas eram zigóticas. Provavelmente, o clone de 'Sunki' utilizado era monoembriônico, possibilitando altíssima frequência de zigóticos.

Os *primers* que melhor diferenciaram os parentais para o cruzamento entre tangor 'Murcott' *vs.* laranja 'Pêra'; tangerina 'Cravo' *vs.* laranja 'Pêra', laranja 'Azeda' *vs.* limão 'Cravo', laranja 'Caipira' *vs.* limão 'Cravo' foram o CCSM4 e CCSM6, toranja 346 *vs.* tangerina 'Cravo' e entre limão 'Cravo Limeira' *vs.* citrumelo 'Swingle' (Figuras 1 e 2), foram os *primers* CCSM6 e o CCSM40 respectivamente. Para o cruzamento entre tangor 'Murcott' *vs.* 'Ponkan' e tangor 'Murcott' *vs.* laranja 'Pêra', selecionaram-se os *primers* CCSM4, CCSM6 e CCSM13, pois apresentavam polimorfismo entre os parentais e, portanto, permitiram a discriminação das plântulas zigóticas.

Tabela 2. Relação dos cruzamentos realizados no programa de melhoramento de citros no Centro APTA Citros “Sylvio Moreira”/IAC e seus resultados

Cruzamentos	Flores po- linizadas	Plântulas avaliadas	Híbridos obtidos	Zigóticos
				%
Tangerina ‘Sunki’ x <i>Poncirus trifoliata</i>	74	316	314	99,0
Tangor ‘Murcott’ x laranja ‘Pêra’	4.404	1.096	305	27,8
Tangerina ‘Cravo’ x laranja ‘Pêra’	3.929	750	146	19,4
Tangelo ‘Orlando’ cv 225 x laranja ‘Pêra’	982	534	10	1,8
Laranja ‘Pêra’ x <i>Poncirus trifoliata</i> 833	538	20	12	60,0
Tangerina ‘Cravo’ x laranja ‘Valência’	315	319	21	6,5
Mexerica ‘Rio’ x laranja ‘Pêra’	1.066	246	14	5,6
Tangor ‘Murcott’ x laranja ‘Valência’	796	468	17	3,6
Limão ‘Cravo Limeira’ x citrumelo ‘Swingle’	1.630	570	190	34
Citrumelo ‘Swingle’ x limão ‘Cravo’	250	31	0	0,0
Limão ‘Cravo Limeira’ x trifoliata Rubidoux	340	304	72	23,6
Limão ‘Volkameriano’ x limão ‘Cravo’	115	7	0	0,0
Tangor ‘Murcott’ x tangerina ‘Ponkan’ cv 172	65	384	41	10,6
Toranja cv 346 x tangerina ‘Cravo’	50	150	150	100,0
Tangor ‘Murcott’ x tangerina ‘Cravo’	100	98	0	0,0
Laranja ‘Caipira’ x limão ‘Cravo’	125	96	9	9,4
Laranja ‘Caipira’ x laranja ‘Azeda’	560	282	17	16,5
Total			1.318	

Produziram-se 1.318 híbridos e desenvolveram-se seis mapas de ligação genético (Tabela 3) para os seguintes cruzamentos: laranja ‘Pêra’ e tangerina ‘Cravo’ (OLIVEIRA et al., 2004), tangerina ‘Sunki’ e *Poncirus trifoliata* cv. Rubidoux (CRISTOFANI et al., 1999, 2003) e laranja ‘Pêra’ e tangor ‘Murcott’ (BASTIANEL et al., 2002, OLIVEIRA et al., 2002). As principais características desses mapas estão resumidas na Tabela 3. Regiões genômicas associadas às características quantitativas e qualitativas foram localizadas nesses mapas, tais como: resistência/tolerância a CTV, CVC, gomose de *Phytophthora*, leprose, mancha marrom de alternária e apomixia (CRISTOFANI et al., 1999; SIVIERO, 2001; OLIVEIRA et al., 2002; SIVIERO et al., 2003; BASTIANEL et al., 2004 a,b).

A avaliação para CTV foi realizada nos 276 híbridos da população de tangerina ‘Sunki’ vs. *Poncirus trifoliata* em condições de campo através do ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) (CRISTOFANI et al., 2004). Cento e trinta e quatro híbridos, cerca de 48% da população, foram

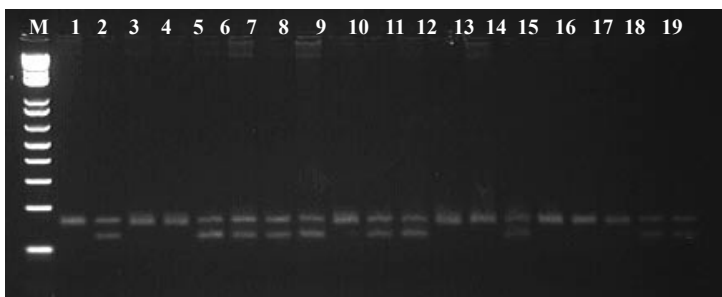


Figura 1. Amplificação de fragmentos de DNA com *primer* CCSM6 em plantas provenientes do cruzamento entre toranja e tangerina 'Cravo'. M = DNA Ladder 1kb, (1) toranja, (2) tangerina 'Cravo' (3, 4, 9, 12, 13, 15, 16 e 17), embriões nucelares e (5, 6, 7, 8, 10, 14, 18 e 19) e embriões zigóticos.

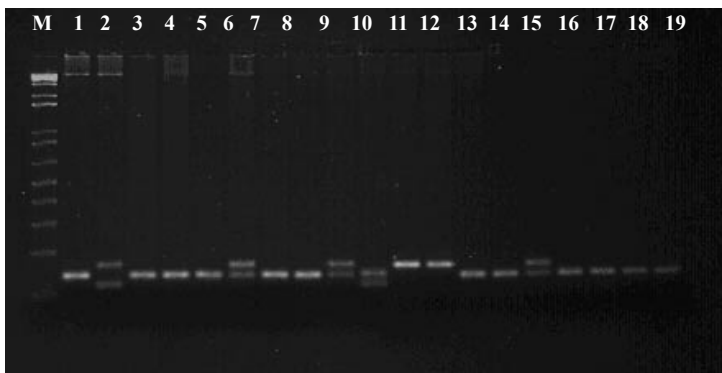


Figura 2. Amplificação de fragmentos de DNA com *primer* CCSM40 em plantas provenientes do cruzamento entre limão 'Cravo' e citrumelo 'Swingle'. M= DNA Ladder 1kb, (1) limão 'Cravo', (2) citrumelo 'Swingle' (3, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 16, 17, 18, 19 e 20); embriões nucelares (6, 9, 10, 11, 12 e 15) e embriões zigóticos.

resistentes ao CTV e, 142, tolerantes, isto é, apresentam o vírus mas não os sintomas. Quanto à avaliação para gomose de *Phytophthora*, analisaram-se 100 indivíduos da progênie citada e, comparando os híbridos com o parental *C. sunki*, 68 híbridos e o parental trifoliata 'Rubidouxx' revelaram diferenças com relação ao parental suscetível ('Sunki'), sugerindo material promissor para resistência/tolerância à gomose, apresentando, dois híbridos, com maior resistência/tolerância que o próprio parental 'Rubidouxx' (tolerante) (BOAVA, 2004).

Tabela 3. Mapas de ligação obtidos através de diferentes cruzamentos

	<i>Poncirus trifoliata</i>	Tangerina 'Sunki'	Tangor 'Murcott'	Laranja 'Pêra'	Laranja 'Pêra'	Tangerina 'Cravo'
Tamanho da população mapa	314	314	150	150	72	72
Tipos de marcadores	RAPD, SSR, AFLP	RAPD, SSR, AFLP	RAPD, SSR, AFLP	RAPD, SSR, AFLP	RAPD, SSR, AFLP	RAPD, SSR, AFLP
Quantidade de marcadores	251	221	1:1* ~ 138 3:1** ~ 445	1:1 ~ 168 3:1 ~ 445	1:1 ~ 117 3:1 ~ 239	1:1 ~ 51 3:1 ~ 239
Número de grupos de ligação	9	9	10	10	11	11
Mapa integrado			X	X	X	X
Características mapeadas (Resistência/tolerância a)	CTV Enraizamento, Gomose, Quantidade de frutos e sementes	Gomose	CVC Leptose	mancha marrom de alternária		

Todas as variedades comerciais de laranja doce sobre diferentes porta-enxertos são afetadas pela CVC. Já nas tangerinas ‘Cravo’ e ‘Ponkan’, no tangor ‘Murcott’, nos limões verdadeiros e na lima ácida ‘Galego’, mesmo em áreas altamente infectadas, não têm sido encontrados sintomas (LARANJEIRA et al., 1998). Para avaliação de tolerância à CVC, utilizou-se a progênie de laranja ‘Pêra’ vs. tangor ‘Murcott’, e cerca de 30% dos híbridos mostraram variado grau de tolerância, quando se avaliou a capacidade de trocas gasosas e redução da multiplicação da *X. fastidiosa*, agente causal da CVC (OLIVEIRA, 2003). A mesma progênie foi utilizada para estudo da herança da resistência à leprose e à mancha marrom de alternária. Entre 143 híbridos avaliados quanto à expressão fenotípica da leprose, 93 foram classificados como plantas resistentes e, 50, como suscetíveis (BASTIANEL et al., 2005). Foram encontradas duas regiões genômicas no mapa de laranja ‘Pêra’, sinalizando para uma resistência à mancha marrom de alternária controlada por poucos genes (BASTIANEL et al., 2004b).

Estudos de enraizamento de estacas foram realizados na progênie de tangerina ‘Sunki’ vs. *P. trifoliata*. A porcentagem de enraizamento para tangerina ‘Sunki’ foi de 10% e, para *P. trifoliata*, de 70%. Para os 80 híbridos estudados, a porcentagem de enraizamento diversificou de 50 a 100%, encontrando-se, portanto, híbridos com segregação transgressiva em relação ao parental trifoliata (SIVIERO et al., 2003).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos os híbridos obtidos no programa de melhoramento do Centro APTA Citros “Sylvio Moreira” estão sendo avaliados em uma rede de experimentos de campo com cerca de dez mil plantas, em cinco campos experimentais no Estado de São Paulo e do Paraná. Na estimativa das respostas dos genótipos às características avaliadas, estão sendo consideradas: morte súbita dos citros (MSC), clorose variegada dos citros (CVC), tristeza (CTV), gomose, leprose, cancro cítrico, mancha marrom de alternária, pinta-preta, qualidade de fruta e compatibilidade dos híbridos de porta-enxerto com as variedades de laranja ‘Pêra’ e ‘Valência’.

Os experimentos de campo estão sendo desenvolvidos para apreciação do comportamento dos híbridos em diferentes ambientes; após essa etapa,

vários desses híbridos poderão ser incorporados ao programa de matrizes para distribuição a viveiristas e produtores.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro do CNPq-PRONEX e Instituto do Milênio e da FAPESP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, F. A. & PIO, R. M. Estudo da polinização na redução do número de sementes do tangor 'Murcott'. **Laranja**, Cordeirópolis, v.23, n.2, p.489-497, 2002.
- BASTIANEL, M.; CRISTOFANI, M.; OLIVEIRA, A. C.; RODRIGUES, V.; ARRIVABEM, F. & MACHADO, M. A. Identificação de QRLs de citros à alternária (*Alternata citri*), agente causal da mancha marrom das tangerineiras. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 50., 2004. Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBG, 2004a.
- BASTIANEL, M.; OLIVEIRA, A. C.; CRISTOFANI, M.; GUERREIRO, O. F.; FREITAS-ASTÚA, J.; RODRIGUES, V.; ARRIVABEM, F. & MACHADO, M. A. Leprose dos citros: herança da resistência e seleção de híbridos resistentes de laranja 'Pêra' e tangor 'Murcott'. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005. Gramado. **Anais...** Gramado: SBMP, 2005. (CD ROM)
- BASTIANEL, M; OLIVEIRA, A. C.; CRISTOFANI, M. & MACHADO, M. A. Marcadores AFLP em mapas de ligação para estudo de herança da resistência à leprose dos citros. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 48., 2002. Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: SBG, 2002. (CD ROM)
- BASTIANEL, M; OLIVEIRA, A. C.; RODRIGUES, V.; CRISTOFANI, M.; FREITAS-ASTÚA, J. & MACHADO, M. A. Avaliação da herança da resistência à leprose dos citros. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.87, 2004b.
- BOAVA, L. P. **Estabilidade de QTLs ligados à resistência dos citros a gomose, causada por *Phytophthora parasitica***. 2004. 67p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.
- BORDIGNON, R.; MEDINA-FILHO, H.; SIQUEIRA, W. & TEÓFILO SOBRINHO, T. The genetics of tolerance to tristeza disease in citrus rootstocks. **Genetics and Molecular Biology**, v.27, n.2, p.199-206, 2004.
- COLETTA FILHO, H. D.; TARGON, M. L. P. N.; TAKITA, M. A.; DE NEGRI, J. D.; POMPEU JR.; MACHADO, M. A.; AMARAL, A. M. & MÜLLER, G. W. First

- report of the causal agent of huanglongbing (“*Candidatus liberibacter asiaticus*”) in Brazil. **Plant Disease**, v.88, p.1382, 2004.
- CRISTOFANI, M.; BACOCINA, G.; SANTOS, F. A.; TARGON, M. L. & MACHADO, M. A. QTL associated to citrus tristeza virus tolerance in Sunki mandarin. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF CITRUS CONGRESS, 10., 2004. Agadir. **Proceedings**... Agadir: ISC, 2004. p.85.
- CRISTOFANI, M.; MACHADO, M. A. & GRATTAPAGLIA, D. Genetic linkage maps of *Citrus sunki* Hort. ex. Tan. and *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. and mapping of citrus tristeza virus resistance gene. **Euphytica**, v.109, p.25-32, 1999.
- CRISTOFANI, M.; MACHADO, M. A.; NOVELLI, V. M.; SOUZA, A. A. & TARGON, M. L. P. N. Construction of linkage maps of *Poncirus trifoliata* and *Citrus sunki* based on microsatellite markers. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF CITRUS CONGRESS, 9., 2000. Orlando. **Proceedings**... Orlando: ISC, 2003. p.175-178.
- GIMENES-FERNANDES, N. & BASSANEZI, R. B. Doenças de causa desconhecida afeta pomares cítricos no norte de São Paulo e sul do Triângulo Mineiro. **Summa Phytopathologica**, v.27, n.1, p.93, 2001.
- GROSSER, J. W. & GMITTER JR., F. G. Somatic hybridization of Citrus with wild relatives for germoplasm enhancement and cultivar development. **HortScience**, Alexandria, v.25, p.147-151, 1990.
- LARANJEIRA, F. F.; POMPEU JR, J; HARAKAVA, R.; FIGUEIREDO, J. O.; CARVALHO, S. A. & COLETTA FILHO, H. Cultivares e espécies cítricas hospedeiras de *Xylella fastidiosa* em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, p.147-154, 1998.
- MÜLLER, G. W.; NEGRI, J. D.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; MATTOS JR., D.; POMPEU JR., J.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; MACHADO, M. A.; CARVALHO, S. A. & GIROTTO, L. F. Quick Blight of sweet orange: a new citrus disease in Brazil. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 15., Paphos, 2001. **Programme & Abstracts**... Paphos: IOCV, 2001. p.100.
- MURASHIGE, T. & TUCKER, D. P. H. Growth factor requirements of citrus tissue culture. In: INTERNATIONAL CITRUS SYMPOSIUM, 1., Riverside, 1968. **Proceedings**... Riverside: University of California, 1969. v.3, p.1155-1166.
- OLIVEIRA, A. C. **Clorose variegada dos citros**: quantificação molecular de agente causal, avaliação de trocas gasosas de plantas infectadas e mapeamento de locos de resistência quantitativa de citros à *Xylella fastidiosa* Wells et al. (1987) com fAFLPs. 2003. 287p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas.
- OLIVEIRA, A. C.; BASTIANEL, M.; CRISTOFANI, M.; MEDINA, C.L.; MACHADO, E. C.; GOLDMAN, G. H. & MACHADO, M. A. Mapeamento genético de

- marcadores AFLP ligados a locos de resistência quantitativa de citros à *Xylella fastidiosa*. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 48., 2002. Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: SBG, 2002. (CD ROM).
- OLIVEIRA, R. P.; CRISTOFANI, M. & MACHADO, M. A. Genetic linkage maps of Pêra sweet orange and Cravo mandarin with RAPD markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.159-165, 2004.
- PASSOS, O. S.; SOARES FILHO, W. S. & DONADIO, L. C. História do melhoramento de citros. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE MELHORAMENTO DE CITROS, 7., 2002. Bebedouro. **Anais...** Bebedouro: EECB, 2002. p.1-16.
- POMPEU JUNIOR, J. Rootstocks and scions in the citriculture of the São Paulo State. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF CITRUS NURSERYMEN, 6., Ribeirão Preto, 2001. **Proceedings...** Ribeirão Preto: ISCN, 2001. p.75-88.
- POMPEU JUNIOR, J.; SALVA, R. & BLUMER, S. Copas e porta-enxertos nos viveiros de mudas cítricas do Estado de São Paulo. **Laranja**, v.25, n.2, p.413-426, 2004.
- RODRIGUEZ, O.; ROSSETTI, V.; MÜLLER, G. W.; MOREIRA, C. S.; PRATES, H. S.; NEGRI, J. D. & GREVE, A. Declínio de plantas cítricas em São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 5., 1974. Pelotas. **Anais...** Pelotas: SBF, 1979. p.927-932.
- ROSSETTI, V.; GARNIER, M.; BERETTA, M. J. G.; TEIXEIRA, A. R. R.; QUAGGIO, J. A.; BATTAGLIA, O. C.; GOMES, M. P.; DE NEGRI, J. D. & BOVÉ, J. M. Resultados preliminares de estudos sobre uma nova anormalidade dos citros observada nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Summa Phytopathologica**, v.16, p.13, 1990.
- SIVIERO, A. **Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasitica* e mapeamento de QTLs de resistência em híbridos de *Citrus sunki* vs. *Poncirus trifoliata* à gomose**. 2001. 117p. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.
- SIVIERO, A.; CRISTOFANI, M. & MACHADO, M. A. QTL mapping associated with rooting stem cuttings from *Citrus sunki* vs. *Poncirus trifoliata* hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.3, p.83-88, 2003.
- TODA FRUTA. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/noticias>. consultado em: 15/10/2003.