

PARENTAIS FEMININOS MONOEMBRIÔNICOS NA OBTENÇÃO DE PORTA-ENXERTOS HÍBRIDOS DE CITROS¹

WALTER DOS SANTOS SOARES FILHO², CARLOS ALBERTO DA SILVA LEDO², ORLANDO SAMPAIO PASSOS², ANTÔNIO DA SILVA SOUZA², LORENNALVES MATTOS³, MATHEUS PIRES QUINTELA³

RESUMO - Visando a evitar os efeitos da poliembrião, os quais dificultam a distinção entre indivíduos híbridos e aqueles de origem materna (nucelares). O Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical selecionou híbridos monoembriônicos, com potencial de geração de novos porta-enxertos, e utilizou-os como parentais femininos em polinizações abertas. Esses parentais foram: trifoliados HTR-001; HTR-002; HTR-005; HTR-037; HTR-073 e HTR-135, além de LCR (limoeiro 'Cravo' *Citrus limonia*) x LRF (limoeiro 'Rugoso da Flórida' *C. jambhiri*) - 005. As progênies de meios-irmãos obtidas compreenderam, respectivamente, 364; 55; 12; 58; 51; 551 e 59 *seedlings* (plantas oriundas de sementes) zigóticos. Os híbridos dentro de progênies foram extremamente variáveis quanto à altura da planta e diâmetro do caule, também apresentando diferenças na presença de ramificações, formato, cor e textura do limbo foliar e tamanho de espinhos. A progênie mais vigorosa relacionou-se ao parental HTR-073, dando-se o contrário com aquela relativa ao híbrido LCR x LRF-005. Este trabalho indica que, em citros, a utilização de parentais femininos monoembriônicos em cruzamentos abertos constitui método simples e fácil de obtenção de híbridos.

Termos para indexação: Melhoramento genético, poliembrião, *Citrus limonia*, *C. jambhiri*, *Poncirus trifoliata*.

THE USE OF FEMALE MONOEMBRYONIC PARENTS TO OBTAIN CITRUS ROOTSTOCKS HYBRIDS

ABSTRACT - Seeking to avoid the effects of polyembryony, that difficult the identification of hybrids and individuals of maternal origin (nucellar), the Citrus Breeding Program of Embrapa Cassava & Tropical Fruits selected monoembryonic hybrids with potential of generating new rootstocks. Thus, the trifoliolate hybrids HTR-001, HTR-002, HTR-005, HTR-037, HTR-073 and HTR-135, besides LCR ('Rangpur' lime *Citrus limonia*) x LRF ('Florida' rough lemon *C. jambhiri*) - 005 were used as female parents in open pollinations design. The half-sibling progenies obtained were, respectively, 364; 55; 12; 58; 51; 551 and 59 zygotic seedlings. The hybrids inside progenies were extremely variable as regards the height of the plant and diameter of the stem, also showing differences in the presence of ramifications, format, color and texture of the limb of leaves and size of the thorns. The most vigorous progeny was derived from HTR-073 parent, the opposite being observed with the hybrid progeny related to the parent LCR x LRF-005. This work indicates that, in citrus, the use of female monoembryonic parents in open pollinated crossings constitutes a simple and easy method of obtaining hybrids.

Index terms: Citrus breeding, polyembryony, *Citrus limonia*, *C. jambhiri*, *Poncirus trifoliata*.

INTRODUÇÃO

A poliembrião é um fenômeno comum a muitas espécies de citros, grupo de plantas que compreende *Citrus* (Linnaeus) e gêneros afins a este, como *Poncirus* (Rafinesque) e *Fortunella* (Swingle). Caracteriza-se pela presença de dois ou mais embriões em uma mesma semente, verificando-se, na maioria das vezes, a existência de um único embrião obtido por via sexuada, sendo os demais de origem assexuada, geneticamente idênticos à planta-mãe, comumente denominados nucelares em razão de serem formados a partir de células do nucelo, tecido nutritivo temporário localizado na superfície do saco embrionário, estrutura essa que se desenvolverá na futura semente.

Ao lado do longo período pré-reprodutivo e da alta heterozigiosidade, a poliembrião constitui uma das principais

limitações à obtenção de híbridos em citros, por dificultar a identificação de indivíduos zigóticos, especialmente em cruzamentos envolvendo parentais estreitamente relacionados, sob o ponto de vista filogenético. Por outro lado, cabe acrescentar que a poliembrião é fundamental no desenvolvimento de porta-enxertos comerciais, uma vez que possibilita a reprodução assexuada, via semente, de indivíduos cuja propagação interesse ao viveirista de citros.

Visando a contornar os obstáculos determinados pela poliembrião, é comum, na obtenção de variedades-copa híbridas de citros, o emprego de parentais femininos monoembriônicos, dentre os quais se destaca a tangerineira 'Clementina' (*C. clementina* hort. ex Tanaka), que já deu origem a diversos híbridos comerciais, a exemplo das variedades Robinson, Lee, Nova e Osceola, resultantes do cruzamento 'Clementina' x

¹(Trabalho 094-07). Recebido em: 10-04-2007. Aceito para publicação em: 27-07-2007. Trabalho apresentado no XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura, Cabo Frio-RJ, setembro de 2006; pesquisa parcialmente financiada pelo CNPq e Fundecitrus.

² Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas - BA. O primeiro autor é bolsista de produtividade em pesquisa do CNPq, e-mails: wsoares@cnpmf.embrapa.br, ledo@cnpmf.embrapa.br, orlando@cnpmf.embrapa.br, assouza@cnpmf.embrapa.br

³ Alunos do Curso de Engenharia Agrônômica do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, CEP 44380-000, Cruz das Almas - BA, bolsistas PIBIC/CNPq, e-mails: agrolorena@yahoo.com.br, matheus-quintela@gmail.com

tangelo 'Orlando' (pomeleiro 'Duncan' *C. paradisi* Macfad. x tangerineira 'Dancy' *C. tangerina* hort. ex Tanaka), além de Page ('Clementina' x tangelo 'Minneola', este com a mesma origem do 'Orlando'), conforme Soost & Roose (1996). Tais parentais monoembriônicos caracterizam-se pela não-formação ou restrita formação de embriões nucleares em suas sementes.

Apesar de simples e de fácil execução, a exploração de parentais femininos monoembriônicos na geração de porta-enxertos híbridos ainda é muito limitada, sendo este o escopo deste trabalho, cuja condução se baseou na avaliação de progênes obtidas de polinizações abertas.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na sede da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, município de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano, nas coordenadas geográficas 12°40'39" de latitude sul e 39°06'23" de longitude oeste, com altitude de 226 m. Os híbridos monoembriônicos trifoliados HTR-001; HTR-002; HTR-005; HTR-037; HTR-073 e HTR-135, além de LCR (limoeiro 'Cravo' *C. limonia* Osbeck) x LRF (limoeiro 'Rugoso da Flórida' *C. jambhiri* Lush.) - 005, obtidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros (PMG Citros), da mencionada Unidade de pesquisas da Embrapa, foram utilizados como parentais femininos em cruzamentos de polinização aberta. Tais híbridos foram selecionados por apresentar características de interesse quanto ao desenvolvimento de porta-enxertos, particularmente tolerantes à seca e resistência/tolerância a doenças, notadamente à gomose de *Phytophthora* e à tristeza dos citros.

As hibridações ocorreram dentro de quadra compreendendo os citados indivíduos monoembriônicos e outros híbridos, estes poliembriônicos, também selecionados pelo PMG Citros em razão de sua tolerância à seca e resistência/tolerância a doenças, especialmente à gomose de *Phytophthora* e à tristeza dos citros. Nessa quadra, os referidos híbridos encontravam-se clonados (mínimo de três plantas por genótipo), enxertados em limoeiro 'Volkameriano' (*C. volkameriana* V. Ten. & Pasq.). Desse modo, os parentais masculinos (fornecedores de pólen), nessas polinizações abertas, envolveram, principalmente, indivíduos da citada quadra, cuja instalação em campo deu-se em agosto de 2001.

Frutos dos mencionados parentais femininos foram colhidos em agosto de 2004, tendo suas sementes extraídas, tratadas com fungicida captan®, pertencente ao grupo dicarboximida {nome químico: 3a,4,7,7a-tetrahydro-2-[(trichloromethyl)thio]-1H-isoindole-1,3(2H)-dione}, e postas para germinar em canteiros móveis de isopor, contendo como substrato o produto comercial plantmaxâ, obtido a partir de casca de pinheiro. Em fase subsequente, os *seedlings* (plantas oriundas de sementes) das progênes de meios-irmãos obtidas foram devidamente identificados e transplantados, cerca de três meses após a germinação, para sacos de polietileno preto, com dimensões de 22 cm (largura) x 35 cm (altura) x 0,2 mm (espessura), contendo como substrato o produto comercial rendmaxâ, também à base de casca de pinheiro. Essas progênes compreenderam 364; 55; 12; 58; 51; 551 e 59 *seedlings* zigóticos, relacionados,

respectivamente, aos parentais femininos HTR-001; HTR-002; HTR-005; HTR-037; HTR-073; HTR-135 e LCR x LRF-005. A condição híbrida desses *seedlings* foi garantida pelo fato de que seus parentais femininos se trataram de indivíduos monoembriônicos, condição esta que leva à formação de progênes constituídas, praticamente, apenas por plantas de origem sexuada, sem a presença de *seedlings* nucleares.

Ao atingirem aproximadamente 11 meses de idade, em outubro de 2005, os *seedlings* zigóticos obtidos foram avaliados quanto aos caracteres altura da planta e diâmetro do caule, este mensurado a cinco cm do colo da planta (zona de transição entre a raiz e o caule), presença de ramificações na haste principal da planta, formato, cor e textura do limbo foliar, presença e tamanho de espinhos. Relativamente às variáveis de vigor de planta (altura e diâmetro do caule), foram calculadas as estatísticas descritivas: média; intervalo de variação (IV), correspondente ao intervalo entre os valores mínimo e máximo observados; coeficiente de variação (CV), dado por $CV = (\text{desvio-padrão} / \text{média}) \times 100$; e coeficiente de assimetria de Pearson (AS), dado por $AS = [3 \times (\text{média} - \text{mediana})] / \text{desvio-padrão}$. Esse coeficiente de assimetria possibilita uma noção da distribuição dos dados de um determinado caráter em relação à média do mesmo: quando negativo, significa que os valores do caráter se encontram concentrados acima da média, sendo essa tendência tanto mais expressiva quanto maior for o valor negativo observado; situação contrária refere-se a valores positivos do referido coeficiente (Bussab & Morettin, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme o esperado, em razão da alta heterozigosidade dos citros, os híbridos dentro de progênes mostraram-se extremamente variáveis quanto à altura da planta e diâmetro do caule, também manifestando diferenças em relação à presença de ramificações na haste principal, formato, cor e textura do limbo foliar, presença e tamanho de espinhos.

As variações relativas aos caracteres de vigor de planta são apresentadas na Tabela 1. Considerando-se o conjunto de progênes avaliadas, tem-se que os híbridos menos vigorosos se relacionaram a alturas de planta entre 4 e 6 cm, enquanto os mais vigorosos atingiram alturas de planta entre 36 e 66 cm, indicando, portanto, grandes diferenças para esse caráter, confirmadas pelos elevados coeficientes de variação calculados, em geral superiores a 50%. Semelhantemente, variações expressivas foram constatadas para o caráter diâmetro do caule, estando os menores valores entre 1 e 2 mm e os maiores entre 6 e 8 mm. Embora os coeficientes de assimetria dos caracteres altura da planta e diâmetro do caule tenham sido positivos, significando que os valores dessas variáveis foram, em sua maioria, inferiores aos de suas respectivas médias, todas as progênes incluíram indivíduos vigorosos, segundo se verifica pelos intervalos de variação apresentados na Tabela 1. Tais indivíduos são passíveis de serem selecionados, visando a sua submissão a avaliações mais pormenorizadas, de modo a possibilitar o reconhecimento de novas variedades, já mencionadas úteis, no caso em questão, como porta-enxertos,

em decorrência das características de adaptação a ambientes sujeitos a estresses de natureza abiótica e biótica dos parentais envolvidos nos cruzamentos realizados. Dentre tais progênies, a mais vigorosa relacionou-se ao parental HTR-073, o contrário dando-se com aquela relativa ao híbrido LCR x LRF-005, segundo determinado, particularmente, pelas médias obtidas de altura da planta, de 23,3 cm e 16,0 cm, respectivamente.

Na Tabela 2, são apresentadas as avaliações referentes à presença de ramificações na haste principal da planta, formato, cor e textura do limbo foliar, presença e tamanho de espinhos. Observa-se que os parentais femininos, cujas progênies apresentaram maiores percentuais de indivíduos meios-irmãos com ramificações, foram HTR-037; HTR-001 e HTR-135, com 61,5%; 41,0% e 40,5%, respectivamente. Já os parentais femininos HTR-002 e HTR-073 geraram os menores percentuais de híbridos com ramificações (28,8% e 29,2%, respectivamente). A presença de ramificações na haste principal de um porta-enxerto não é interessante, sob o ponto de vista de seu uso comercial. O ideal é que os “cavalinhos” sejam linheiros, ou seja, eretos, sem tortuosidades. Quanto aos caracteres coloração e textura do limbo foliar, nas progênies avaliadas, predominaram híbridos com folhas de coloração verde e textura membranácea. Com relação ao formato do limbo foliar, considerando as progênies obtidas de parentais femininos trifoliados, houve predominância do tipo trifoliado na maioria dos indivíduos, com exceção daquela oriunda do parental HTR-005, na qual predominou o formato monofoliado não-aciculado (63,6%). Essa predominância de híbridos trifoliados já era esperada, em razão do fato de que a característica trifoliada, em cruzamentos envolvendo *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., é dominante sobre a monofoliada (Cameron & Frost, 1968; Soost & Cameron, 1975). Houve predominância de indivíduos com espinhos de tamanho pequeno em todas as progênies avaliadas, situação esta interessante no caso de indivíduos com potencial de uso como porta-enxerto, por facilitar a enxertia. O parental

feminino LCR x LRF-005 gerou 66,1% de híbridos meios-irmãos com ausência de espinhos.

Os dados obtidos permitem concluir que o uso de parentais femininos monoembrionários em cruzamentos dirigidos à obtenção de novos porta-enxertos de citros é passível de sucesso, conforme se pôde depreender pela geração de indivíduos vigorosos e com outras características de interesse agrônômico, particularmente a presença de hastes principais sem ramificações, linheiras e com ausência de espinhos ou presença de espinhos pequenos.

Em razão de a poliembrião ser dominante em relação à monoembrião (Parlevliet & Cameron, 1959; Cameron & Soost, 1979; Deidda & Chessa, 1982), espera-se que muito desses híbridos sejam poliembriônicos, uma vez que os parentais femininos monoembrionários utilizados, conforme mencionado, se encontravam em quadra contendo diversos híbridos selecionados pelo PMG Citros, a maioria dos quais produtores de sementes poliembriônicas. A presença de poliembrião nos híbridos que serviram de base para este trabalho, será verificada quando os mesmos entrarem em fase de frutificação, por tratar-se de característica fundamental ao desenvolvimento de porta-enxertos comerciais, uma vez que possibilita a reprodução assexuada, via semente, de indivíduos cuja propagação interessa ao viveirista de citros.

A utilização de parentais femininos monoembrionários, na geração de novos porta-enxertos de citros, cabe acrescentar, poderá estimular os programas de melhoramento genético em curso no tocante a esse objetivo, cujo alcance se mostra hoje muito limitado, conforme se constata pela carência de resultados relacionados à obtenção de híbridos, causa do restrito número de variedades-porta-enxerto híbridas presentes na citricultura mundial, onde apenas os citrangeiros [*C. sinensis* (L.) Osbeck x *P. trifoliata*] ‘Troyer’ e ‘Carrizo’, obtidos em 1909, vêm sendo utilizados de forma relativamente expressiva (Navarro, 2005).

TABELA 1- Avaliações de vigor (altura e diâmetro do caule) de *seedlings* híbridos meios-irmãos obtidos a partir de parentais femininos monoembrionários. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Cruz das Almas-BA. Outubro de 2005.

Parentais femininos	Nº de híbridos meio-irmãos	Altura (cm)				Diâmetro do caule ¹ (cm)			
		Média	IV ²	CV ³ (%)	AS ⁴	Média	IV	CV (%)	AS
HTR ⁵ - 001	364	18,4	4,0 - 66,0	51,5	0,95	0,35	0,1 - 0,7	34,9	0,10
HTR - 002	55	18,6	5,0 - 50,0	54,5	1,07	0,42	0,2 - 0,8	35,7	0,51
HTR - 005	12	20,2	5,0 - 53,0	65,8	1,03	0,38	0,2 - 0,7	34,6	0,29
HTR - 037	58	19,2	4,0 - 47,0	56,0	0,61	0,32	0,1 - 0,7	41,0	0,28
HTR - 073	51	23,3	6,0 - 42,0	40,6	0,41	0,42	0,2 - 0,7	32,3	0,09
HTR - 135	551	20,4	5,0 - 65,0	56,8	1,52	0,37	0,1 - 0,8	42,9	2,16
LCR ⁶ x LRF ⁷ - 005	59	16,0	5,0 - 36,0	48,0	0,72	0,37	0,1 - 0,6	33,5	0,45

¹Medido a cinco cm do colo (zona de transição entre a raiz e o caule) da planta; ²IV: intervalo de variação; ³CV: coeficiente de variação; ⁴AS: coeficiente de assimetria; ⁵HTR: híbrido trifoliado; ⁶LCR: limoeiro ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osbeck); ⁷LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’ (*C. jambhiri* Lush.).

TABELA 2- Avaliações, em porcentagem (%), da presença de ramificações na haste principal, cor e textura da folha, formato do limbo foliar e tamanho de espinhos de *seedlings* híbridos meios-irmãos obtidos a partir de parentais femininos monoembriônicos. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Cruz das Almas-BA. Outubro de 2005.

Parentais femininos	Presença de ramificações	Cor da folha ¹			Textura da folha ²		Formato do limbo foliar ³				Tamanho de espinhos ⁴			
		VC	V	VE	M	C	MA	M	TA	T	P	M	G	A
HTR ⁵ - 001	41,0	10,2	56,1	33,6	72,1	27,9	-	33,0	-	67,0	75,8	-	-	24,2
HTR - 002	28,8	-	69,2	30,8	28,8	71,2	-	35,6	-	65,4	59,6	-	-	40,4
HTR - 005	36,4	-	90,9	9,1	72,7	27,3	-	63,6	-	36,4	90,9	-	-	9,1
HTR - 037	61,5	15,4	42,3	42,3	53,8	46,2	-	34,6	-	65,4	71,2	-	-	28,8
HTR - 073	29,2	4,2	68,8	27,1	79,2	20,8	-	31,2	-	68,8	68,8	-	-	31,2
HTR - 135	40,5	17,4	56,4	26,2	64,7	35,3	-	45,6	0,4	54,0	61,6	0,2	-	38,3
LCR ⁶ x LRF ⁷ - 005	35,6	10,2	83,0	6,8	84,8	15,2	-	100,0	-	-	33,9	-	-	66,1

¹Cor da folha (VC = verde-clara, V = verde, VE = verde-escura); ²Textura da folha (M = membranácea, C = coriácea); ³Formato do limbo foliar (MA = monofoliado aciculado, M = monofoliado não-aciculado, TA = trifoliado aciculado, T = trifoliado não-aciculado); ⁴Espinho (P = pequenos, M = médios, G = grandes, A = ausência de espinhos); ⁵HTR: híbrido trifoliado; ⁶LCR: limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck); ⁷LRF: limoeiro 'Rugoso da Flórida' (*C. jambhiri* Lush.).

CONCLUSÕES

1-A utilização de parentais femininos monoembriônicos em cruzamentos abertos é um método simples e fácil para obtenção de híbridos.

2-O híbrido monoembriônico HTR-073, quando utilizado como parental feminino, apresenta boas possibilidades de geração de indivíduos vigorosos, com hastes principais linheiras, sem ramificações e sem a presença de espinhos desenvolvidos, características importantes na seleção de porta-enxertos com valor comercial.

SOOST, R.K.; CAMERON, J.W. Citrus. In: JANICK, J.; MOORE, J. N. (Ed.). **Advances in fruit breeding**. West Lafayette: Purdue University Press, 1975. p. 507-540.

SOOST, R.K.; ROOSE, M.L. Citrus. In: JANICK, J.; MOORE, J. N. (Ed.). **Fruit breeding: tree and tropical fruits**. New York: John Wiley, 1996. v. 1, cap. 6, p. 257-323.

REFERÊNCIAS

BUSSAB, W. de O.; MORETTIN, P.A. **Estatística básica**. 5.ed. São Paulo: Ed. Saraiva, 2002. 526p.

CAMERON, J.W.; FROST, H.B. Genetics, breeding and nucellar embryony. In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J. (Ed.). **The citrus industry**. Berkeley: University of California, 1968. v. 2, p. 325-370.

CAMERON, J.W.; SOOST, R.K. Sexual and nucellar embryony in F₁ hybrids and advanced crosses of *Citrus* with *Poncirus*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 104, n. 3, p. 408-410, 1979.

DEIDDA, P.; CHESSA, I. A three-gene hypothesis for the inheritance of nucellar embryony in citrus. **Rivista della Ortoflorofruticoltura Italiana**, Firenze, v. 66, n. 6, p. 431-436, 1982.

NAVARRO, L. Necesidades y problemática de la mejora sanitaria y genética de los cítricos en España. **Phytoma**, Valencia, n. 170, p. 2-5, 2005.

PARLEVLIET, J.E.; CAMERON, J.W. Evidence on the inheritance of nucellar embryony in citrus. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 74, p. 252-260, 1959.