

**Programa de Melhoramento
Genético de Citros da
*Embrapa Mandioca e
Fruticultura*: obtenção
de híbridos**



República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva

Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues

Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

José Amauri Dimárzio

Presidente

Clayton Campanhola

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Dietrich Gerhard Quast

Sérgio Fausto

Urbano Campos Ribeiral

Membros

Diretoria-Executiva

Clayton Campanhola

Diretor-Presidente

Gustavo Kanark Chianca

Herbert Cavalcante de Lima

Mariza Marilena T. Luz Barbosa

Diretores-Executivos

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Mario Augusto Pinto da Cunha

Chefe-Geral

José Batista da Fonseca Neto

Chefe-Adjunto de Administração

Aristoteles Pires de Matos

Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Walter dos Santos Soares Filho

Chefe-Adjunto de Comunicação, Negócios e Apoio

Documentos 106

Programa de Melhoramento Genético de Citros da *Embrapa* *Mandioca e Fruticultura*: obtenção de híbridos

Walter dos Santos Soares Filho
Alberto Duarte Vilarinhos
Alfredo Augusto Cunha Alves
Almir Pinto da Cunha Sobrinho
Antonio Alberto Rocha Oliveira
Antônio da Silva Souza
Carlos Alberto da Silva Ledo
Jailson Lopes Cruz
Laercio Duarte Souza
Manoel Teixeira de Castro Neto
Marcelo dos Santos Guerra Filho
Orlando Sampaio Passos
Paulo Ernesto Meissner Filho

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Rua Embrapa, s/nº

Caixa Postal 007

CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia

Fone: (75) 621-8000

Fax: (75) 621-1118

Homepage: <http://www.cnpmf.embrapa.br>

E-mail: sac@cnpmf.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Aristoteles Pires de Matos*

Vice-Presidente: *João Roberto Pereira Oliveira*

Secretária: *Cristina Maria Barbosa Cavalcante Bezerra Lima*

Membros: *Aldo Vilar Trindade*

Antonia Fonseca de Jesus Magalhães

Antonio Souza do Nascimento

Davi Theodoro Junghans

Jorge Luiz Loyola Dantas

Ranulfo Corrêa Caldas

Supervisor editorial: *Aristoteles Pires de Matos*

Revisor de texto: *Jorge Luiz Loyola Dantas*

Foto da Capa: *Walter dos Santos Soares Filho*

Editoração eletrônica: *Maria da Conceição Borba*

1ª edição

1ª impressão (2003): 500 exemplares

Todos os direitos reservados.

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

Programa de melhoramento genético de citros da
Embrapa Mandioca e Fruticultura: obtenção de híbridos.
/ Walter dos Santos Soares Filho...[et al.]. – Cruz das
Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003.
37p.; 21cm. – (Documentos, ISSN 1516-5728; nº 106)

1. Citros - Melhoramento. I. Título. II. Série.

CDD -

634.304

Autores

Walter dos Santos Soares Filho

Eng^o Agr^o, DSc., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8004, wsoares@cnpmf.embrapa.br

Alberto Duarte Vilarinhos

Eng^o Agr^o, MSc., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8000, vila@cnpmf.embrapa.br

Alfredo Augusto Cunha Alves

Eng^o Agr^o, PhD., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8000, aalves@cnpmf.embrapa.br

Almir Pinto da Cunha Sobrinho

Eng^o Agr^o, M.Sc., Rua Manoel Caetano Passos, 174, 44380-000, Cruz das Almas – BA

Antonio Alberto Rocha Oliveira

Eng^o Agr^o, PhD., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8000, alberto@cnpmf.embrapa.br

Antônio da Silva Souza

Eng° Agr°, DSc., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8031, assouza@cnpmf.embrapa.br

Carlos Alberto da Silva Ledo

Eng° Agr°, PhD., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8033, ledo@cnpmf.embrapa.br

Jailson Lopes Cruz

Eng° Agr°, DSc., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8047, jailson@cnpmf.embrapa.br

Laercio Duarte Souza

Eng° Agr°, DSc., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8045, laercio@cnpmf.embrapa.br

Manoel Teixeira de Castro Neto

Eng° Agr°, PhD., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8047, castro@cnpmf.embrapa.br

Marcelo dos Santos Guerra Filho

Professor da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Departamento de Botânica, 50670-901, Recife

Orlando Sampaio Passos

Eng° Agr°, MSc., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8028, orlando@cnpmf.embrapa.br

Paulo Ernesto Meissner Filho

Eng° Agr°, DSc., Pesquisador, *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, (75) 621-8056, meissner@cnpmf.embrapa.br

Apresentação

O Programa de Melhoramento Genético de Citros (PMG-Citros) desenvolvido pela *Embrapa Mandioca e Fruticultura* foi iniciado em setembro de 1988, tendo com base o Banco Ativo de Germoplasma de Citros, com o objetivo de produzir a seleção de genótipos, particularmente porta-enxertos, tolerantes à seca e ao alumínio, resistentes à gomose de *Phytophthora* spp. e ao complexo do Vírus da Tristeza dos Citros, além de adaptados a altas densidades populacionais, de forma a aumentar a longevidade dos pomares brasileiros.

Contando com o apoio de uma equipe multidisciplinar e multiinstitucional, diversas ações de pesquisa encontram-se em curso, cujos resultados são abordados e discutidos nessa publicação.

Mario Augusto Pinto da Cunha

Chefe Geral
Embrapa Mandioca e Fruticultura

Sumário

Resumo	9
Introdução	11
Hibridação e seleção de indivíduos promissores	12
Identificação de embriões/<i>seedlings</i> híbridos	16
Análise de caracteres morfológicos.....	16
Análise de isoenzimas	18
Análises de segmentos polimórficos de DNA	18
Análises de bandeamento cromossômico	18
Cultivo de embriões	19
Seleção precoce de genótipos tolerantes ao alumínio e à seca	20
Seleção de genótipos resistentes à gomose de <i>Phytophthora</i> spp	21
Reação de híbridos ao complexo do vírus da tristeza dos citros	22
Indução de florescimento	23
Hibridação somática via fusão de protoplastos	23
Obtenção e cultivo de calos embriogênicos.....	23
Germinação de sementes.....	25
Cultivo in vitro de <i>seedlings</i> nucleares para isolamento de protoplastos ...	26
Referências Bibliográficas	28
Anexo	33

Programa de Melhoramento Genético de Citros da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*: obtenção de híbridos

Walter dos Santos Soares Filho
Alberto Duarte Vilarinhos
Alfredo Augusto Cunha Alves
Almir Pinto da Cunha Sobrinho
Antonio Alberto Rocha Oliveira
Antônio da Silva Souza
Carlos Alberto da Silva Ledo
Jailson Lopes Cruz
Laercio Duarte Souza
Manoel Teixeira de Castro Neto
Marcelo dos Santos Guerra Filho
Orlando Sampaio Passos
Paulo Ernesto Meissner Filho

Resumo - Visando a obtenção de novas variedades cítricas, melhor adaptadas aos trópicos, a Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMT), também denominada *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, iniciou em setembro de 1988 um programa de hibridações, tendo como base seu Banco Ativo de Germoplasma de Citros. Dotado de grande variabilidade genética, o referido banco de germoplasma possui cerca de 700 acessos, compreendendo diversas espécies e variedades de *Citrus*, além de gêneros afins a este, dentre os quais incluem-se *Poncirus*, *Fortunella*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* e *Severinia*, entre outros de menor importância, sob o ponto de vista de seu uso em melhoramento genético. Esta iniciativa teve como estímulo a relativamente baixa longevidade dos pomares brasileiros, cuja vida útil está em torno de 15 a 18 anos nas principais regiões produtoras

do Estado de São Paulo, onde se concentram cerca de 75% da citricultura nacional, e de 12 a 15 anos no Norte e Nordeste do País. Como objetivos imediatos, o referido programa busca a seleção de genótipos, particularmente porta-enxertos, tolerantes à seca e ao alumínio, resistentes à gomose de *Phytophthora* spp. e ao complexo do Vírus da Tristeza dos Citros – CTV (Citrus Tristeza Virus), além de adaptados a altas densidades populacionais. Contando com o apoio de uma equipe multidisciplinar e multiinstitucional, diversas ações de pesquisa encontram-se em curso, destacando-se: a) hibridações envolvendo variedades de comprovado valor agrônômico e/ou de adaptação a condições de estresse causadas por fatores bióticos e abióticos; b) reconhecimento de embriões de natureza híbrida e identificação precoce de *seedlings* zigóticos, mediante análises de morfologia foliar, izoenzimas, segmentos polimórficos de DNA e bandeamento cromossômico; c) estudos dirigidos ao cultivo in vitro de embriões de citros, bem como ao complemento da embriogênese de embriões zigóticos a partir de estádios iniciais de desenvolvimento, evitando ou restringindo a presença de embriões de origem nucelar, particularmente em variedades altamente poliembriônicas, utilizadas como parentais femininos em hibridações controladas; d) identificação de parentais promissores no tocante à obtenção de variedades híbridas com valor comercial, copas e porta-enxertos; e) definição de metodologias que permitam a seleção precoce de híbridos tolerantes à seca e ao alumínio, bem como resistentes à gomose de *Phytophthora* spp. e ao CTV; f) estabelecimento de metodologias dirigidas à indução precoce de florescimento, no intuito de encurtar o período pré-reprodutivo de híbridos selecionados em trabalhos preliminares de avaliação; g) obtenção de híbridos somáticos mediante fusão de protoplastos.

Termos para indexação: hibridação, poliembrião, tolerância à seca, tolerância ao alumínio, gomose de *Phytophthora*, vírus da tristeza dos citros, cultura de tecidos, fusão de protoplastos, marcadores moleculares, bandeamento cromossômico, indução de florescimento.

Introdução

A expressiva variabilidade genética presente em *Citrus* (L.) e gêneros afins é de grande utilidade em programas de melhoramento genético baseados em hibridação, particularmente naqueles dirigidos à obtenção de novos porta-enxertos, adaptados, especialmente, a altas densidades populacionais e a ambientes adversos, relativamente a fatores bióticos e abióticos. Nesse sentido, os gêneros *Microcitrus* (Swing.) e *Eremocitrus* (Swing.), encontrados sob a forma selvagem quase que exclusivamente na Austrália, constituem importantes fontes de genes de adaptação a ambientes sujeitos a estresses. *Eremocitrus* é pronunciadamente xerofítico, capaz de se desenvolver em regiões semi-áridas, em solos com pouco ou nenhum nitrogênio, além de resistir a concentrações relativamente elevadas de sais presentes na solução do solo, enquanto que *Microcitrus* é semi-xerofítico, podendo suportar períodos de seca prolongados. Esses gêneros, assim como *Poncirus* (Raf.) e *Fortunella* (Swing.), também se destacam por sua notável resistência ao frio, apresentando adaptação a habitats onde nenhuma espécie de *Citrus* consegue sobreviver. *Severinia* (Ten.), gênero mais primitivo, suporta teores de boro no solo suficientemente elevados para eliminar espécies de *Citrus*, sendo surpreendente o fato de que sob tais condições as raízes de *Severinia* absorvem e translocam quantidades muito baixas desse elemento, a ponto de permitir o estabelecimento de enxertos sadios de variedades comerciais de *Citrus*, mesmo em se tratando de copas bastante sensíveis ao boro, como as de limões verdadeiros [*C. limon* (L.) Burm. f.]. *Citropsis gilletiana* (Swing. & M. Kell.), parente selvagem nativo da República do Congo, utilizada como porta-enxerto nesse país, é imune ao ataque de uma broca (coleóptero curculionídeo) cujas larvas escavam o colo de plantas de *Citrus*, além de ser resistente à doença fúngica gomose de *Phytophthora* (Swingle, 1967). Adicionalmente, tem-se que *Poncirus*, *Fortunella*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* e *Severinia*, a exemplo do gênero *Citropsis* [(Engl.) Swing. & M. Kell.], são altamente resistentes à gomose de *Phytophthora*. Espécies como *Severinia buxifolia* [(Poir.) Ten.], à semelhança de *Eremocitrus glauca* [(Lindl.) Swing.], têm mostrado tolerância à salinidade. *Citropsis gilletiana* apresenta resistência ao nematóide cavernícola. *Poncirus trifoliata* [(L.) Raf.] e *Severinia buxifolia* são consideradas resistentes aos complexos comuns do Vírus da Tristeza dos Citros – CTV (Citrus Tristeza Virus). *Eremocitrus glauca* pode ser utilizada em programas de melhoramento dirigidos à obtenção de porta-enxertos adaptados a solos arenosos e as espécies *Microcitrus australis* [(Planch.) Swing.] e *M. australasica* [(F. Muell.) Swing.] são adaptadas a áreas

sujeitas a chuvas pesadas e a solos com baixa fertilidade (Hearn *et al.*, 1974). *Severinia buxifolia*, bem como várias seleções de *Poncirus trifoliata*, mostram-se resistentes ao nematóide dos citros [*Tylenchulus semipenetrans* (Cobb)] (Hutchison & O'Bannon, 1972). *Poncirus trifoliata* distingue-se como fonte de tolerância relativamente alta a solos encharcados (Yelenosky *et al.*, 1974). *Citropsis*, *Eremocitrus*, *Microcitrus* e *Clymenia* (Swing.) podem ser utilizados em programas de melhoramento genético visando a obtenção de porta-enxertos que reduzem o porte das plantas, de forma a permitir a formação de pomares comerciais com maiores adensamentos de plantio (Castle, 1979).

Diante de possibilidades como as mencionadas, visando a obtenção de novas variedades cítricas, melhor adaptadas aos trópicos, a Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMT), também denominada ***Embrapa Mandioca e Fruticultura***, iniciou em setembro de 1988 um programa de hibridações, tendo como base seu Banco Ativo de Germoplasma de Citros. Dotado de grande variabilidade genética, o referido banco de germoplasma possui cerca de 700 acessos, compreendendo diversas espécies e variedades de *Citrus*, além de gêneros afins a este, dentre os quais incluem-se *Poncirus*, *Fortunella*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* e *Severinia*, entre outros de menor importância, sob o ponto de vista de seu uso em melhoramento genético. Esta iniciativa teve como estímulo a relativamente baixa longevidade dos pomares brasileiros, cuja vida útil está em torno de 15 a 18 anos nas principais regiões produtoras do Estado de São Paulo, onde se concentram cerca de 80% da citricultura nacional, e de 12 a 15 anos no Norte e Nordeste do País.

Como objetivos principais, o referido programa busca a seleção de genótipos, particularmente porta-enxertos, tolerantes à seca e ao alumínio, resistentes à gomose de *Phytophthora* spp. e ao complexo do Vírus da Tristeza dos Citros, além de adaptados a altas densidades populacionais.

Hibridações e Seleção de Indivíduos Promissores

Milhares de híbridos foram obtidos de cruzamentos envolvendo espécies e híbridos interespecíficos de *Citrus*, bem como gêneros afins e híbridos intergenéricos, destacando-se limões (diversas espécies), laranjas doces [*C. sinensis* (L.) Osb.] e azedas (*C. aurantium* L.), tangerinas (diversas espécies), *Poncirus trifoliata* e híbridos desta espécie (ANEXO, Tabela 1.). Avaliações

em nível de campo, dirigidas à seleção de novos porta-enxertos, têm compreendido tanto indivíduos sob a forma de *seedlings* como enxertados com variedades-copa de interesse comercial, com ênfase para a laranja 'Pêra' (*C. sinensis*), em razão de sua destacada importância para a citricultura brasileira. Relativamente a híbridos obtidos com a finalidade de uso como variedades-copa, estes vêm sendo avaliados, preliminarmente, em combinação com porta-enxertos que estimulem seu desenvolvimento e frutificação, a exemplo do limão 'Volkameriano' (*C. volkameriana* Ten. et Pasq.), de modo a permitir a identificação, em espaço de tempo o mais curto possível, de indivíduos de interesse comercial.

Como critério de escolha dos parentais a serem hibridados, procura-se, em princípio, aqueles possuidores de comprovado valor agrônomo e/ou de adaptação a condições ambientais adversas, como tolerância à seca e ao alumínio, resistência a doenças. Dentre os gêneros afins ao *Citrus*, são de especial interesse *Poncirus*, *Microcitrus* e *Eremocitrus*, em razão de seu potencial relativo à obtenção de novos porta-enxertos ananizantes (Castle, 1979) e resistentes à gomose de *Phytophthora* spp. (Hearn *et al.*, 1974), doença fúngica que tem causado sérios problemas aos pomares brasileiros. Além disso, os gêneros *Microcitrus* e *Eremocitrus* podem permitir a criação de porta-enxertos adaptados a ambientes sujeitos a períodos prolongados de estresse hídrico (Swingle, 1967), conforme já mencionado.

A escolha dos parentais para cruzamentos obedece a um processo dinâmico, baseado em informações geradas pelo próprio Programa de Melhoramento Genético de Citros da *Embrapa Mandioca e Fruticultura* – PMG Citros, compreendendo dados referentes à sua capacidade de combinação no tocante ao vingamento de frutos obtidos a partir de polinizações controladas, grau de poliembrião (procura-se utilizar, preferencialmente, parentais femininos monoembriônicos ou com grau de poliembrião entre baixo a moderado, de modo a evitar ou reduzir a presença de indivíduos de origem nucelar) e frequência de híbridos promissores relativamente às características principais visadas nos trabalhos de seleção.

A tangerina-tângelo 'Robinson' [tangerina 'Clementina' *C. clementina* Hort. ex Tan. x tângelo 'Orlando' (pomelo 'Duncan' *C. paradisi* Macf. x tangerina 'Dancy' *C. tangerina* Hort. ex Tan.)], tangerina 'Sunki' (*C. sunki* Hort. ex Tan.), limão 'Cravo' (*C. limonia* Osb.) e o tângor 'Dweet' (laranja 'Mediterrânea'

C. sinensis x tangerina 'Dancy'), devido à taxa de vingamento de frutos relativamente alta que apresentam em cruzamentos controlados (Soares Filho *et al.*, 1995a), a par de sua poliembrião respectivamente nula, baixa e moderada (duas últimas variedades) (Soares Filho *et al.*, 1995b), podem ser indicados como bons parentais femininos. A tangerina 'Clementina', em razão de sua condição monoembriônica, e a laranja 'Azeda Double Calice', por apresentar porcentuais relativamente altos de vingamento de frutos em hibridações controladas (Medrado, 1998; Soares Filho *et al.*, 2002), também podem ser recomendadas como parentais femininos.

Referindo-se à frequência de indivíduos zigóticos em cruzamentos controlados, hibridações realizadas pelo PMG Citros envolvendo parentais femininos monoembriônicos, a exemplo da tangerina 'Clementina', têm originado somente indivíduos de natureza híbrida, conforme o esperado. Nas situações em que os parentais femininos são poliembriônicos, tem-se que a frequência de híbridos é inversamente proporcional ao grau de poliembrião (Vásquez Araujo, 1991; Soares Filho *et al.*, 1994; Moreira, 1996; Medrado, 1998; Soares Filho *et al.*, 2000 e 2002). Nesse contexto, dentre os parentais femininos empregados pelo PMG Citros, merece destaque a tangerina 'Sunki', com frequências observadas de formação de híbridos em cruzamentos controlados da ordem de 50% (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagens de poliembrião (% P) de diversas variedades cítricas e de *seedlings* zigóticos (% SZ) obtidos de cruzamentos controlados entre essas variedades, utilizadas como parentais femininos, e *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. e híbridos dessa espécie. Programa de Melhoramento Genético de Citros da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cruz das Almas, BA.

Variedades	% P	% SZ
Tangerina Sunki (<i>Citrus sunki</i> Hort. ex Tan.) ¹	15,9	53,6
Tangerina Sunki ²	8,3	51,1
Limão Cravo (<i>C. limonia</i> Osb.) ³	56,8	18,6
Limão Cravo ¹	35,2	18,6
Limão Volkameriano (<i>C. volkameriana</i> Ten. et Pasq.) ¹	58,6	14,2
Limão Volkameriano ²	79,2	16,3
Laranja Azeda Comum (<i>C. aurantium</i> L.) ²	76,4	17,4
Laranja 'Pêra' [<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.] ³	90,7	6,0
Tangerina 'Cleópatra' (<i>C. reshni</i> Hort. ex Tan.) ³	98,8	5,2

¹Fonte: Moreira (1996), Soares Filho *et al.* (2000); ²Fonte: Medrado (1998), Soares Filho *et al.* (2002); ³Fonte: Vásquez Araujo (1991), Soares Filho *et al.* (1994).

Em complemento a essas informações, observações em ambientes de telado e de campo, efetuadas em *seedlings* híbridos dentro de progênieis obtidas de cruzamentos empregando a tangerina 'Sunki' e a laranja 'Azeda' como parentais femininos, indicam, pela semelhança e relativa uniformidade de tais híbridos, que essas variedades devem possuir níveis relativamente elevados de homozigose, qualificando-as como importantes parentais na obtenção de novos porta-enxertos, o que é reforçado pelas excelentes características hortícolas que possuem, à exceção, particularmente, da alta suscetibilidade à gomose de *Phytophthora* spp., apresentada pela tangerina 'Sunki', e ao CTV, manifestada pela laranja 'Azeda'. Ambas, porém, complementam-se no que diz respeito à superação dessas deficiências, podendo dar formação a híbridos resistentes às citadas doenças, responsáveis por consideráveis prejuízos ao cultivo dos citros.

Quanto ao vigor de *seedlings* híbridos obtidos pelo PMG Citros, considerando estádios juvenis de desenvolvimento, cruzamentos controlados tendo como parentais femininos o limão 'Cravo' (Soares Filho *et al.*, 1991) e a tangerina 'Sunki' (Soares Filho *et al.*, 1999), empregando-se como parentais masculinos *P. trifoliata* e híbridos dessa espécie, mostraram que a maioria dos indivíduos identificados como zigóticos apresentou vigor semelhante ou superior ao daqueles de origem nucelar. Esses resultados, analisados em seu todo, sugerem o excelente potencial relativo à obtenção de híbridos promissores a partir de cruzamentos envolvendo *Citrus* e *Poncirus*, passíveis de dar origem a novas variedades porta-enxerto.

Avaliações realizadas a campo, compreendendo mais de 400 *seedlings* híbridos obtidos de polinizações controladas, permitiram a identificação de cerca de 60 indivíduos que se destacaram pelo seu vigor, de regular a bom, bom comportamento fitossanitário e menor sensibilidade ao estresse hídrico. Nesse grupo, dentre aqueles em fase de frutificação, avaliações relativas ao grau de poliembrião e número médio de sementes por fruto possibilitaram o reconhecimento de 19 híbridos promissores, em razão de apresentarem taxas de poliembrião e quantidades de sementes adequadas, tendo-se em vista sua utilização como porta-enxertos, a saber: LVK (limão 'Volkameriano') x LCR (limão 'Cravo') – 010, HTR (híbrido trifoliado) – 069, HTR – 112, HTR – 116, HTR – 166 (poliembrião moderada a baixa, entre 25% e 40%), TSK (tangerina 'Sunki') x ITR (*Poncirus trifoliata*) x LCR) – 001, LVK x LCR – 038, HTR – 144 (poliembrião moderada, entre 50% e 65%), TSK x (TR x LCR) – 010, TSK x CTTR [citrange (*C. sinensis* x *P. trifoliata*) 'Troyer'] – 002, CTYM

(citrange 'Yuma') x LCR – 005, HTR – 051 (poliembriõnia elevada, entre 75% e 80%), TSK x CTTR – 017, CTYM x LCR – 003, LCR x TR – 001, HTR – 010, HTR – 053, HTR – 070 e HTR – 127 (poliembriõnia muito elevada, acima de 90%).

Dois anos após o plantio em campo, copas de laranja 'Pêra' enxertadas nos híbridos LVK x LCR – 038, CTYM x LCR – 005, HTR – 051, HTR – 112, HTR – 116 e HTR – 127, bem como nos limões 'Cravo' e 'Volkameriano', tangerina 'Cleópatra' (*C. reshni* Hort. ex Tan.), citranges 'Troyer' e 'Rusk' e no citrumelo (*C. paradisi* x *P. trifoliata*) 'Swingle', avaliadas em ensaio instalado em ambiente representativo do ecossistema de Tabuleiros Costeiros, mostraram-se mais vigorosas (altura de planta e diâmetro do caule 10 cm acima e abaixo da linha de enxertia) quando em combinação com os citados limões e citranges. Dentre os porta-enxertos híbridos obtidos pelo PMG Citros, LVK x LCR - 038, HTR - 051, HTR - 112 e HTR - 116 manifestaram comportamentos semelhantes ao da tangerina 'Cleópatra'. O citrumelo 'Swingle' e os híbridos trifoliados CTYM x LCR - 005 e HTR – 127, embora tenham determinado médias também semelhantes às da mencionada tangerina, relativamente aos caracteres de vigor de planta analisados, relacionaram-se às combinações copa/porta-enxerto menos vigorosas, considerando esta etapa, ainda inicial, de avaliações. O comportamento inferior do citrumelo 'Swingle' já era esperado, tendo-se em vista sua incompatibilidade com a laranja 'Pêra'. Cabe salientar, entretanto, o interesse pela seleção de porta-enxertos que determinem a formação de copas menos desenvolvidas, porém produtivas, de modo a possibilitar maiores adensamentos de plantio.

Identificação de Embriões / *Seedlings* Híbridos

Análise de caracteres morfológicos

Resultados obtidos pelo PMG Citros indicam que o tamanho do embrião é um caráter passível de ser utilizado como ferramenta auxiliar na identificação de embriões de origem sexuada, pois há uma tendência dos embriões zigóticos encontrarem-se entre aqueles de maior tamanho, sendo esta situação tanto mais evidente quanto menor for o grau de poliembriõnia, segundo já mencionado (Tabela 2), verificando-se uma relação inversa entre as porcentagens de poliembriõnia e de embriões zigóticos de maior tamanho.

A cor de cotilédones é outro caráter que pode ser empregado na identificação de embriões de natureza híbrida, em razão de influências do polinizador sobre a sua manifestação (efeito de metaxenia). Para tanto, é importante observar, em cruzamentos controlados, o uso de parentais com coloração de cotilédones contrastantes entre si (Vásquez Araujo, 1991; Vásquez Araujo *et al.*, 1994). Exemplificando, parentais femininos cujas sementes possuem embriões com cotilédones de coloração branca, dentre os quais pode-se incluir as laranjas doces, laranjas azedas e pomelos, cruzados com parentais masculinos cujas sementes apresentam embriões que possuem cotilédones verdes, situação comum a muitas tangerinas, como 'Cleópatra' e 'Sunki', darão formação a embriões zigóticos cuja cor de cotilédones será esverdeada, enquanto que aqueles de origem nucelar apresentarão cotilédones brancos.

Tabela 2. Porcentagem de poliembrião (% P) e distribuição de embriões zigóticos (número e porcentagem) dentro de classes de tamanho, de diversas variedades cítricas. Programa de Melhoramento Genético de Citros da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cruz das Almas, BA.

Var. ¹	% P	Classes de tamanho de embrião ²							
		G		M		P		MP	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
TSK ³	15,9	244	96,8	6	2,4	2	0,8	-	-
LCR ³	35,2	37	94,9	2	5,1	-	-	-	-
LCR ⁴	56,8	323	86,8	27	7,3	18	4,8	4	1,1
LVK ³	58,6	43	82,7	7	13,5	2	3,8	-	-
LPE ⁴	90,7	33	46,5	26	36,6	11	15,5	1	1,4
CLEO ⁴	98,8	49	50,0	9	9,2	26	26,5	14	14,3

¹Variedades: TSK – tangerina 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex Tan.), LCR – limão 'Cravo' (*C. limonia* Osb.), LVK – limão 'Volkameriano' (*C. volkameriana* Ten. et Pasq.), LPE – laranja 'Pêra' [*C. sinensis* (L.) Osb.], CLEO – tangerina 'Cleópatra' (*C. reshni* Hort. ex Tan.); ²G – grande ($\geq 5,0$ mm), M – médio (3,0 mm a 4,9 mm), P – pequeno (1,0 mm a 2,9 mm), MP – muito pequeno ($< 1,0$ mm); ³Fonte: Moreira (1996), Soares Filho *et al.* (2000); ⁴Fonte: Vásquez Araujo (1991), Soares Filho *et al.* (1994).

Relativamente à posição do embrião na semente, estudos conduzidos pelo PMG Citros mostraram que tanto os embriões zigóticos como os nucleares manifestam forte tendência de localizarem-se na região micropilar, indicando, portanto, que esse caráter não favorece o reconhecimento dos embriões de origem híbrida (Vásquez Araujo, 1991; Soares Filho *et al.*, 1994; Moreira, 1996).

Quanto à identificação de *seedlings* híbridos em estádios jovens de desenvolvimento, observações relativas à morfologia do limbo foliar têm sido utilizadas predominantemente pelo PMG Citros, cabendo destacar o emprego da característica morfológica trifoliada, dominante, presente em *P. trifoliata* e híbridos dessa espécie.

Análises de isoenzimas

Análises de isoenzimas foram empregadas na identificação de *seedlings* híbridos obtidos pelo PMG Citros. Devido aos seus custos relativamente baixos, o sistema glutamato-oxaloacetato- transaminase (GOT) foi bastante utilizado (Souza Jr. *et al.*, 1993). Em razão das limitações desse sistema, relativamente à impossibilidade de identificar *seedlings* zigóticos em muitos cruzamentos de interesse, outros sistemas isoenzimáticos estão sendo avaliados, a exemplo da leucina-amino-peptidase (LEP), fosfoglucoase-isomerase (PGI) e peroxidase (PRX).

Análises de segmentos polimórficos de DNA

Análises de segmentos polimórficos de DNA encontram-se em andamento, destacando-se a de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) por ajustar-se melhor a atividades de rotina e por ser menos exigente em equipamentos. Entre as virtudes desta técnica estão a rapidez, o número teoricamente ilimitado de marcadores existentes, a possibilidade de automação, a não interferência de fatores ambientais, entre outras, o que a torna excelente para trabalhos que envolvem um grande número de análises. As análises de segmentos polimórficos de DNA, além disso, têm a vantagem, em relação àquelas baseadas em marcadores isoenzimáticos, de permitir a identificação de *seedlings* zigóticos mesmo em hibridações intraespecíficas. A utilização de isoenzimas, porém, será considerada sempre que possível, em razão de sua maior simplicidade de aplicação, conciliando custos relativamente menores e rapidez de resultados.

Análises de bandeamento cromossômico

Análises de bandeamento cromossômico realizadas em diferentes espécies de tangerina (*C. reshni*, *C. reticulata* Blanco e *C. nobilis* Lour.), mediante o emprego dos fluorocromos CMA/DAPI (Santos *et al.*, 1993), bem como nos limões 'Siciliano' (*C. limon*), 'Volkameriano', 'Rugoso' (*C. jambhiri* Lush.), 'Cravo', 'Ponderosa' (provável híbrido natural entre *C. medica* e *C. limon*) e 'Tahiti' (*C. latifolia* Tan.), além de 'pomelo', 'cidra' (*C. medica* L.) e 'lima da Pérsia' (*C. limettioides* Tan.), baseadas na caracterização de bandas CMA e na identificação de sítios de DNA ribossômico (DNAr) (Carvalho *et al.*,

2001), mostraram a existência de heteromorfismo para um ou mais pares cromossômicos. Esses resultados evidenciam a possibilidade de se utilizar cromossomos marcadores como auxiliares na identificação de *seedlings* zigóticos, em cruzamentos controlados envolvendo parentais com padrões de bandas cromossômicas diferentes entre si.

Cultivo de Embrões

Em se tratando de parentais femininos cujas sementes apresentam elevado grau de poliembrião (superior a 70%), é recomendável que o cultivo de embriões oriundos de frutos obtidos a partir de polinizações controladas seja feito sob condições assépticas, in vitro, de modo a favorecer sua germinação, garantindo a sobrevivência da maioria dos *seedlings* de natureza híbrida. Nas situações em que os parentais femininos são monoembriônicos ou apresentam graus de poliembrião entre baixo a moderado, o cultivo in vitro de embriões, devido aos seus custos relativamente elevados e alta demanda de mão-de-obra, pode ser evitado, sem prejuízos evidentes no tocante à sobrevivência dos *seedlings* zigóticos (Soares Filho *et al.*, 1995c; Medrado, 1998; Soares Filho *et al.*, 2002). Esta situação deve-se ao fato de que os embriões zigóticos, provenientes de sementes de variedades poliembriônicas, tendem a estar entre aqueles de maior tamanho, o que facilita sua germinação, sendo esta particularidade tanto mais evidente quanto menor for o grau de poliembrião, conforme verificado na Tabela 2.

Cabe acrescentar que, no tocante a variedades cujas sementes apresentam elevado grau de poliembrião, é comum a ocorrência de embriões imaturos (< 3,0 mm), que não germinam no meio MT (Murashige & Tucker, 1969), recomendado para citros, implicando na necessidade de ajustes no mesmo. Neste sentido, estudos realizados pelo PMG Citros (Morais, 1997), com base na tangerina 'Cleópatra', que se caracteriza por seu elevado grau de poliembrião, resultaram nas seguintes modificações no meio MT, visando a germinação tanto de embriões imaturos como maduros (> 6,0 mm), bem como o desenvolvimento de plântulas normais: manutenção das concentrações originais de micronutrientes e vitaminas, redução pela metade da concentração de macronutrientes, redução da concentração de sacarose para 40 g/L, suplementação do meio com 0,08 mg/L de BAP (benzilaminopurina), 0,01 mg/L de ANA (ácido naftalenoacético) e 20 mg/L de adenina. Estas modificações no

meio MT, cabe acrescentar, são indicadas ao cultivo de embriões excisados de frutos com quatro a cinco meses de formação, em relação à fertilização do óvulo, visto que em frutos com maior grau de maturação os embriões de menor tamanho ($< 3,0$ mm) comumente encontram-se desidratados e/ou danificados. Este protocolo deve ser aplicado em outras variedades poliembriônicas, no sentido de se verificar a necessidade de ajustes específicos às mesmas.

Partindo-se da hipótese de que o embrião zigótico forme-se anteriormente aos nucelares em sementes poliembriônicas, em razão de sua tendência de se relacionar a classes de embrião de maior tamanho, conforme já discutido, os resultados desses estudos servirão de base para a definição de metodologia capaz de permitir a complementação da embriogênese *in vitro* do(s) primeiro(s) embrião(ões) a se formar(em) após a fertilização, em nível de cada semente, no intuito de evitar ou restringir a manifestação da poliembrionia, particularmente em variedades altamente poliembriônicas.

Seleção Precoce de Genótipos Tolerantes ao Alumínio e à Seca

Foram realizados estudos pelo PMG Citros dirigidos à identificação de genótipos tolerantes ao alumínio, compreendendo *seedlings* uniformes (nucelares) de diversas variedades, submetidos ao cultivo em solução nutritiva de Furlani & Hanna (1984), com modificações (Pinto, 1999), apresentando as plantas, ao serem colocadas em contato com a solução, o primeiro par de folhas verdadeiras. O estresse de alumínio foi aplicado mediante o emprego de cloreto de alumínio ($AlCl_3$), efetuando-se as avaliações dos efeitos de estresse 30 dias após o início do cultivo hidropônico. As observações foram dirigidas principalmente ao sistema radicular dos *seedlings*, buscando-se a identificação de parâmetros que melhor explicassem a tolerância ao alumínio, de modo a permitir o reconhecimento de genótipos promissores em estádios juvenis de desenvolvimento. Dentre os resultados obtidos, verificou-se que os limões 'Cravo', 'Volkameriano' e 'Rugoso da Flórida' foram menos tolerantes que a tangerina 'Cleópatra' e laranja 'Azeda', constatando-se que a partir da concentração de 10 mg/L de Al^{+3} houve uma redução do crescimento dos porta-enxertos mais sensíveis, sendo esta redução mais evidente no sistema radicular que na parte aérea das plantas (Pinto, 1999).

Estudos complementares foram conduzidos compreendendo os limões 'Cravo', 'Galego' [*C. aurantifolia* (Christm.) Swing.] e 'Volkameriano', laranja 'Azeda' e tangerina 'Cleópatra', bem como cinco híbridos obtidos pelo PMG Citros, a saber: HTR - 002, HTR - 010, HTR - 144, LCR x TR - 001 e LCR x LRF (limão 'Rugoso da Flórida') - 005. Confirmou-se que o sintoma visual que melhor caracteriza o efeito fitotóxico do alumínio em *seedlings* de variedades de citros é a redução do crescimento do sistema radicular, verificando-se, porém, que o limão 'Volkameriano' foi o mais tolerante dentre as variedades comerciais avaliadas. Quanto aos híbridos, aqueles que apresentaram maior tolerância ao alumínio foram: HTR - 002, HTR - 144 e LCR x TR - 001 (Lima *et al.*, 2001).

No que concerne aos estudos dirigidos à seleção precoce de genótipos tolerantes à seca, estes ainda encontram-se em fases preliminares. Foram planejadas ações visando, inicialmente, estabelecer uma metodologia que permita a identificação, em estádios juvenis de desenvolvimento de planta, de genótipos que apresentem essa característica. A eficiência do método dependerá de como o déficit hídrico será aplicado para que a planta o perceba em um curto espaço de tempo e promova mudanças fisiológicas fáceis de serem detectadas. Nesse sentido, o déficit hídrico será avaliado com base no conteúdo de água no solo, em relação à sua capacidade de campo, considerando o método gravimétrico. Os ensaios serão conduzidos em casa de vegetação, empregando-se genótipos contrastantes quanto à tolerância à seca.

Seleção de Genótipos Resistentes à Gomose de *Phytophthora* spp.

Relativamente às pesquisas visando a identificação de genótipos resistentes à gomose de *Phytophthora* spp., foram realizadas observações, em campo e laboratório, baseadas em lesões verificadas no tronco de *seedlings* com sete anos de idade, considerando cinco indivíduos de cada um dos seguintes cruzamentos: limão 'Cravo' x limão 'Volkameriano', limão 'Cravo' x limão 'Rugoso da Flórida', limão 'Volkameriano' x laranja 'Palmeiras' (*C. sinensis*), limão 'Rugoso da Flórida' x laranja 'Hamlin' (*C. sinensis*), limão 'Cravo' x laranja 'Palmeiras', limão 'Volkameriano' x laranja 'Valência' (*C. sinensis*), tangerina 'Sunki' x (limão 'Cravo' x *P. trifoliata*), limão 'Cravo' x *P. trifoliata*, limão 'Cravo' x citrumelo 'Swingle', limão 'Cravo' x citrange 'Yuma', tangerina 'Cleópatra' x (limão 'Cravo' x *P. trifoliata*). Constatou-se que as maiores

densidades de inóculo associaram-se a indivíduos oriundos de cruzamentos envolvendo limões e laranjas doces, suscetíveis à gomose. A partir de amostras de solo, coletadas em quatro diferentes pontos na projeção das copas dos *seedlings* (zero a 20 cm da superfície) observou-se, também, um menor índice de potencial de inóculo em relação a genótipos provenientes de hibridações compreendendo *P. trifoliata* e híbridos desta espécie. Os híbridos de citrange 'Yuma' e citrumelo 'Swingle', bem como aqueles envolvendo *P. trifoliata*, à exceção de genótipos provenientes dos cruzamentos limão 'Cravo' x *P. trifoliata* e tangerina 'Sunki' x (limão 'Cravo' x *P. trifoliata*), além da ausência de plantas mortas, não apresentaram indivíduos com lesões características da doença (Oliveira *et al.*, 2000).

Reação de Híbridos ao Complexo do Vírus da Tristeza dos Citros

A pesquisa compreendeu uma etapa de campo na qual foram coletados até 10 ramos de cada planta amostrada, envolvendo *seedlings* híbridos obtidos pelo PMG Citros, com quatro a sete anos de idade, perfazendo um total de 195 híbridos, bem como variedades utilizadas como parentais na obtenção dos mesmos. Os ramos coletados foram avaliados com respeito a sintomas do complexo do Vírus da Tristeza dos Citros - CTV mediante o emprego de uma escala de notas (Meissner Filho, 2002), variável de 1 (ausência de caneluras) a 5 (toda a superfície do ramo coberta por caneluras profundas, acompanhadas ou não pela presença de poucas caneluras superficiais).

Os cruzamentos mais favoráveis relativamente à obtenção de híbridos resistentes ao CTV foram: limão 'Cravo' x citrumelo 'Swingle', limão 'Volkameriano' x limão 'Cravo', tangerina 'Sunki' x (limão 'Cravo' x *P. trifoliata*), tangerina 'King' (*C. nobilis*) x citrumelo 'Swingle', tangerina 'Clementina de Nules' x citrange C-35 e tangerina 'Sunki' x citrumelo 'Swingle'.

Dentre os cruzamentos que resultaram em uma alta frequência de híbridos suscetíveis à tristeza dos citros encontram-se: limão 'Volkameriano' x laranja 'Palmeiras', limão 'Volkameriano' x laranja 'Valência', tangerina 'Clementina de Nules' x citrumelo 'Swingle' e tangerina 'Clementina de Nules' x 'Hybrid' (híbrido de *Poncirus trifoliata*) (Diamantino, 2001).

Indução de Florescimento

Visando encurtar o período pré-reprodutivo de híbridos selecionados, em fases juvenis de desenvolvimento, a partir de trabalhos preliminares de avaliação, a indução de florescimento constitui objetivo de grande importância. Nesse sentido, buscou-se verificar o efeito do metanol no aumento do teor de carboidratos da planta pela inibição da fotorrespiração, partindo-se do pressuposto de que um dos fatores que afetam positivamente a floração em fruteiras é o seu teor de carboidratos. Foram utilizados *seedlings* nucelares de limão 'Cravo' e de tangerina 'Cleópatra' com cerca de um ano de idade, em razão dessas variedades apresentarem inícios de florescimento distintos, respectivamente precoce e tardio. Embora não conclusivos, os resultados obtidos indicaram que o metanol pode favorecer, dentro de certos limites, o desenvolvimento vegetativo das variedades cítricas estudadas, tendo seus efeitos sido aparentemente mais expressivos em tangerina 'Cleópatra', mostrando a existência de interações entre esse produto e diferentes genótipos. O vigor dos *seedlings* submetidos a essas avaliações foi medido com base nos caracteres altura de planta e tamanho de folhas (comprimento e largura) previamente e aleatoriamente marcadas (Souza *et al.*, 2000).

Hibridação Somática Via Fusão de Protoplastos

Inicialmente, os estudos realizados pelo PMG Citros têm se concentrado nas etapas de obtenção e cultivo de calos embriogênicos, germinação de sementes e cultivo in vitro de *seedlings* nucelares. Posteriormente, os estudos abrangerão as etapas de cultivo de suspensões celulares, germinação de embriões, isolamento, purificação e cultura de protoplastos dos materiais a serem empregados como parentais nas hibridações somáticas, fusão de protoplastos, cultivo e seleção dos produtos de fusão, regeneração e identificação de híbridos somáticos.

Obtenção e cultivo de calos embriogênicos

Experimentos preliminares, empregando diversas espécies e variedades de citros, demonstraram que a formação de calos embriogênicos é mais eficiente quando se utiliza óvulos abortados, em relação ao que se verifica quando os calos são obtidos a partir de nucelos, na maioria das variedades estudadas.

A extração de óvulos não fertilizados, a depender da variedade, tem sido realizada a partir de frutos com quatro a cinco semanas de idade. Em geral, a indução de calos tem ocorrido entre a 6ª e 8ª semanas de cultivo, sendo que no tocante à laranja 'Hamlin' seleção CNPMF 20 a formação de calos foi mais precoce, dando-se entre a 3ª e 4ª semanas após o estabelecimento in vitro dos explantes. Porcentagens de formação de calos superiores a 40% foram obtidas para as tangerinas 'Sunki' (42%), 'Swatow' (*C. reticulata*) (50%) e 'Cleópatra' (66%), laranja 'Hamlin' seleções CNPMF 04 (52%) e CNPMF 20 (58%), citrange 'Troyer' (56%) e limão 'Cravo' seleção CNPMF 03 (60%). As menores porcentagens de formação de calos foram obtidas para os limões 'Rugoso Mazoe' (0%) e 'Volkameriano' (0%), *C. amblycarpa* Ochse (4%) e laranja 'Azeda Comum' (6%). Esses calos estão sendo subcultivados em meio MT acrescido de BAP (10 mg/L) e extrato de malte (500 mg/L).

Em outro experimento, avaliou-se a porcentagem e o peso fresco de calos formados a partir de óvulos abortados de laranja 'Hamlin' seleção CNPMF 04, em meio MT suplementado com diversos níveis de BAP e 2,4-D, combinados entre si. Verificou-se que o tratamento com 5 mg/L de BAP, na ausência de 2,4-D, propiciou a maior porcentagem (35%) de óvulos que formaram calos (Tabela 3) e o mais elevado índice de peso fresco dos calos (246,7 g) (Tabela 4). Segundo Spiegel-Roy & Vardi (1984), as células nucelares das espécies poliembriônicas são naturalmente embriogênicas e, possuindo um balanço hormonal adequado, não necessitam de reguladores de crescimento para a indução de calo. No entanto, para genótipos recalcitrantes, há necessidade de ajustes no balanço das substâncias promotoras de crescimento, visto que as exigências internas variam de espécie para espécie.

Tabela 3. Porcentagem de formação de calos em óvulos abortados de laranja 'Hamlin' [*Citrus sinensis* (L.) Osb.] seleção CNPMF 04, em diferentes níveis de BAP e 2,4-D. Programa de Melhoramento Genético de Citros da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cruz das Almas, BA.

BAP (mg/L)	2,4-D (mg/L)			\bar{x}
	0	5	10	
0	30,00	0,00	0,00	10,00
5	35,00	5,00	10,00	16,70
10	5,00	0,00	0,00	1,67
\bar{x}	23,33	1,66	3,33	

Tabela 4. Peso fresco (g) de calos originados de óvulos abortados de laranja 'Hamlin' [*Citrus sinensis* (L.) Osb.] seleção CNPMF 04, em diferentes níveis de BAP e 2,4-D. Programa de Melhoramento Genético de Citros da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cruz das Almas, BA.

BAP (mg/L)	2,4-D (mg/L)			\bar{x}
	0	5	10	
0	167,7	0,0	0,0	55,9
5	246,7	12,2	17,3	92,0
10	86,6	0,0	0,0	28,9
\bar{x}	167,0	4,1	5,8	

A adição de 2,4-D reduziu significativamente a formação de calos. Isto leva a crer que estes tecidos possuem um nível endógeno dessa auxina e que um incremento nesse nível ultrapassaria os limites ótimos para a formação de calo. Prova disso é que a adição de inibidores da síntese de auxinas e citocininas estimula fortemente o processo de embriogênese (Kochba & Spiegel-Roy, 1977).

Germinação de sementes

Na obtenção de *seedlings* nucelares foram utilizadas sementes de frutos maduros das variedades: limões Rugoso Mazoe e Cravo (seleções Santa Bárbara e Santa Cruz), citrange Troyer, tangerinas Sunki, Cleópatra e Swatow, laranjas azedas Comum e Narrow Leaf, *Fortunella* Jin Dan e *Poncirus trifoliata* seleção Flying Dragon. Sob condições assépticas, as sementes, com a presença dos tegumentos, foram inoculadas em frascos contendo 30 mL do meio de cultura RMAN (MT acrescido de 25 g/L de sacarose) e em seguida transferidas para sala de crescimento com $27 \pm 1^\circ \text{C}$, 16 horas de fotoperíodo e 1.500 lux de intensidade luminosa. Em todas as variedades consideradas no estudo foram observados índices de germinação de sementes superiores a 90%. Os *seedlings* obtidos apresentaram bom desenvolvimento inicial, possuindo folhas bem expandidas e coloração verde intensa. As brotações obtidas apresentaram pequena expansão foliar, sendo subcultivadas em meio de cultura RMAN.

Cultivo in vitro de *seedlings* nucleares para isolamento de protoplastos

Visando a obtenção de material foliar de qualidade adequada para extração de protoplastos, foi avaliado o crescimento de *seedlings* nucleares micropropagados tanto a partir de gemas laterais como apicais dos limões 'Cravo' e 'Rugoso Mazoe'. Estudou-se o efeito dos fitohormônios AIA e BAP nas concentrações 0,0 e 5,0 mg/L e 0,0, 0,5 e 1,0 mg/L, respectivamente, no crescimento in vitro dos *seedlings*. Foram utilizados frascos contendo 35 mL de meio de cultura RMAN, sendo os explantes cultivados sob as mesmas condições de crescimento observadas para a germinação de sementes. O limão 'Rugoso Mazoe' foi superior ao limão 'Cravo' no tocante a algumas variáveis, a saber: número de brotações, altura da parte aérea, peso fresco da parte aérea, tamanho longitudinal de folha e peso fresco de raízes (Tabela 5). Quanto aos tipos de explantes utilizados, os *seedlings* originados de ápices caulinares foram superiores àqueles oriundos de gemas laterais em relação às variáveis número de brotações, número médio de raízes, comprimento de raízes e peso fresco de raízes (Tabela 6).

Tabela 5. Comportamento in vitro de *seedlings* nucleares micropropagados de limões 'Cravo' (*Citrus limonia* Osb.) e 'Rugoso Mazoe' (*C. jambhiri* Lush.). Programa de Melhoramento Genético de Citros da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cruz das Almas, BA.

Variáveis	limão 'Cravo'	limão 'Rugoso Mazoe'
Número de brotações	2,69	2,95
Altura da parte aérea (cm)	1,90	2,15
Peso fresco da parte aérea (mg)	184,96	315,89
Tamanho longitudinal de folha (cm)	1,94	2,39
Número médio de raízes	0,68	0,37
Comprimento de raízes (cm)	1,43	1,23
Peso fresco de raízes (mg)	13,62	21,67

Tabela 6. Resposta de dois tipos de explantes empregados na micropropagação de *seedlings* nucleares de limões ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osb.) e ‘Rugoso Mazoe’ (*C. jambhiri* Lush.). Programa de Melhoramento Genético de Citros da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cruz das Almas, BA.

Variáveis	Explantes	
	Gema lateral	Ápice caulinar
Número de brotações	2,73	2,88
Altura da parte aérea (cm)	2,07	1,74
Peso fresco da parte aérea (mg)	286,81	242,19
Tamanho longitudinal de folhas (cm)	2,49	2,32
Número médio de raízes	0,44	0,60
Comprimento de raízes (cm)	1,10	1,55
Peso fresco de raízes (mg)	14,25	20,59

Na ausência de AIA e BAP os resultados obtidos foram superiores àqueles conseguidos nos tratamentos onde esses fitohormônios estavam presentes, notadamente em relação às variáveis altura da parte aérea, tamanho longitudinal de folhas, número e comprimento de raízes. Nos meios sem aqueles dois reguladores de crescimento os *seedlings* apresentaram, ainda, uma coloração verde mais intensa. Segundo Spiegel-Roy & Vardi (1984), isto ocorre porque em geral as variedades de citros habituem-se com facilidade à ausência de reguladores de crescimento, sendo esse comportamento uma exceção entre a maioria das espécies vegetais.

Avaliações complementares foram conduzidas considerando as tangerinas ‘Dancy’ e ‘Sunki’, laranja ‘Azeda Comum’, *C. amblycarpa*, *C. macrophylla* Wester, citrange ‘Carrizo’, citrumelo ‘Swingle’, limão ‘Cravo’ seleção Santa Cruz e os híbridos LCR x TR - 001 e LVK x LCR - 038, estes obtidos pelo PMG Citros. Foram utilizados tubos de ensaio de 25 mm x 150 mm e frascos contendo 10 mL e 35 mL, respectivamente, de meio de cultura RMAN. A tangerina ‘Dancy’ foi superior às demais variedades no tocante aos caracteres altura e pesos fresco e seco da parte aérea. Suas folhas, além disso, mostraram uma coloração verde mais intensa. Quanto aos pesos fresco e seco de raiz, os maiores valores relacionaram-se ao híbrido LVK x LCR - 038, que também apresentou o maior comprimento de raiz. Vale destacar que a laranja ‘Azeda Comum’ não formou raízes. Quanto ao caráter número de folhas, a tangerina ‘Sunki’ foi a variedade que mais se destacou. Com respeito aos explantes, os *seedlings* resultantes de ápices caulinares

confirmaram sua superioridade em relação àqueles oriundos de gemas laterais, considerando os caracteres altura, pesos fresco e seco da parte aérea, pesos fresco e seco de raiz, número de folhas e comprimento de raiz. No tocante aos recipientes utilizados, os *seedlings* cultivados em frascos apresentaram melhores respostas que os cultivados em tubos de ensaio, relativamente às variáveis pesos fresco e seco da parte aérea, peso fresco de raiz e número de folhas. Já os *seedlings* que apresentaram maior altura e comprimento de raiz foram aqueles cultivados em tubos de ensaio. De acordo com Grattapaglia & Machado (1998), o tipo de frasco e a quantidade do meio utilizada são variáveis que afetam diretamente a área superficial da interface meio-atmosfera, o volume de ar sobre o meio e a profundidade do meio. Esses fatores também interferem na composição da fase gasosa do frasco e, conseqüentemente, no crescimento e desenvolvimento das culturas.

Referências Bibliográficas

- CARVALHO, R.; SOARES FILHO, W. dos S.; GUERRA, M. Distribuição da heterocromatina e localização de seqüências de DNAr e 5S em cromossomos de diferentes acessos de limão (*Citrus* spp.). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 47., 2001, Águas de Lindóia, SP. *Resumos...* (CD Rom). Sociedade Brasileira de Genética, 2001.
- CASTLE, W. S. Controlling citrus tree size with rootstocks and viruses for higher density plantings. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, Orlando, v. 91, p. 46-50, 1979.
- DIAMANTINO, M.S.A.S. *Reação de porta-enxertos híbridos ao vírus da tristeza dos citros*. 2001. 87 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas. 2001.
- FURLANI, P.R.; HANNA, L.G. Avaliação da tolerância de plantas de arroz e milho ao alumínio em solução nutritiva. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 8, n. 2, p. 205-208, 1984.
- GRATTAPAGLIA, D; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed.). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa-SPI: Embrapa-CNPq. v. 1, p. 183-260, 1998.

HEARN, C.J.; HUTCHISON, D.J.; BARRET, H.C. Breeding citrus rootstocks. *HortScience*, Mount Vernon, v. 9, n. 4, p. 357-358, 1974.

HUTCHISON, D. J.; O'BANNON, J. O. Evaluating the reaction of citrus selections to *Tylenchulus semipenetrans*. *Plant Disease Reporter*, Washington, D.C., v. 56, n. 9, p. 747-751, 1972.

KOCHBA, J.; SPIEGEL-ROY, P. Cell and tissue culture for breeding and developmental studies of Citrus. *HortScience*, Alexandria, v. 112, n. 2, p. 110-114, 1977.

LIMA, D.R.; SILVA JÚNIOR, J.F.S.; ALVES, A.A.C.; SOARES FILHO, W. dos S. Avaliação e seleção de porta-enxertos híbridos de citros tolerantes ao alumínio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 8., 2001, Ilhéus. *Anais...* (CD Rom). Ilhéus: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal, 2001. 3p.

MEDRADO, A.C. de M. *Cultivo de sementes versus cultivo in vitro de embriões de citros (Citrus spp.): implicações na sobrevivência de híbridos*. 1998. 46 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas. 1998.

MEISSNER FILHO, P.E.; SOARES FILHO, W. dos S.; VELAME, K.V.C.; DIAMANTINO, E.P.; DIAMANTINO, M.S.A.S. Reação de porta-enxertos híbridos ao *Citrus tristeza virus*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, DF, v. 27, n. 3, p. 312-315, 2002.

MORAIS, L.S. *Ajustes no meio de Murashige & Tucker (MT) para o cultivo in vitro de embriões imaturos de tangerina 'Cleópatra'*. 1997. 95 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas. 1997.

MOREIRA, C. dos S. *Freqüência de híbridos em citros (Citrus spp.) em relação ao grau de poliembrião*. 1996. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas. 1996.

MURASHIGE, T., TUCKER, D.P.H. Growth factor requirement of citrus tissue culture. In: INTERNACIONAL CITRUS SYMPOSIUM, 1., 1968. Riverside. *Proceedings...* Riverside: University of California, 1969. v. 3, p. 1155-1161.

OLIVEIRA, A.A.R.; SOARES FILHO, W. dos S. Reação de híbridos de citros à infecção por gomose de *Phytophthora*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 367-371, 2000.

PINTO, I. de S. *Tolerância ao alumínio de cinco porta-enxertos de citros (Citrus spp.) cultivados em solução nutritiva*. 1999. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas. 1999.

SANTOS, K.G.B.; GUERRA, M.; SOARES FILHO, W. dos S. Padrão de bandas cromossômicas obtido com o fluorocromo CMA em três espécies de tangerinas. In: ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE, 9., 1993, Teresina. *Anais...* Teresina: UFPI/UEPI/EMBRAPA/SBG-Regionais do Nordeste, 1993. p.167.

SOARES FILHO, W. dos S.; CUNHA SOBRINHO, A.P. da; LEE, L.M. Influence of pollinators on fruit set in citrus. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n. 403, p. 39-46, 1995a.

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

SOARES FILHO, W. dos S.; MEDRADO, A.C. de M.; CUNHA, M.A.P. da; CUNHA SOBRINHO, A.P. da; 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. dos S.; MOREIRA, C. dos S.; CUNHA, M.A.P. da; CUNHA SOBRINHO, A.P. da; PASSOS, O.S.; MORAIS, L.S. Vigor híbrido em tangerina 'Sunki'. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.34, n.5, p.903-909, 1999.

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

SOARES FILHO, W. dos S.; PELACANI, C.R.; SOUZA, A. da S.; CUNHA SOBRINHO, A.P. da; ARAÚJO, E.F. Influência dos tegumentos externo e interno na germinação de sementes de citros: implicações na sobrevivência de "seedlings" híbridos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v. 17, n. 1, p. 91-101, 1995c.

SOARES FILHO, W. dos S.; VÁSQUEZ ARAUJO, J.E.; CUNHA, M.A.P. da; CUNHA SOBRINHO, A.P. da; PASSOS, O.S. Degree of polyembryony, size and survival of the zygotic embryo in citrus. In: INTERNATIONAL CITRUS CONGRESS, 7., 1992, Acireale. *Proceedings...* Catania: International Society of Citriculture, 1994. v. 1, p. 135-138.

SOARES FILHO, W. dos S.; VÁSQUEZ ARAUJO, J.E.; CUNHA, M.A.P. da; CUNHA SOBRINHO, A.P. da; PASSOS, O.S. Variabilidade genética em "limão 'Cravo'". *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v.13, n.3, p.267-272, 1991.

SOUZA, B. de A.; CASTRO NETO, M.T. de; LEMOS, A.P.O. de; SOARES FILHO, W. dos S.; SOUZA, C.U. de. Efeito da aplicação do metanol sobre o crescimento de seedlings de citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza, CE. *Resumos...* (CD Rom). Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2000.

SPIEGEL-ROY, P.; VARDI, A. Citrus. In: AMMIRATO, P.V.; EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; YAMADA, Y. (Ed.). *Handbook of plant cell culture: crop species*. New York: Macmillan Publishing, 1984. v. 3, p. 355-372.

SWINGLE, W.T. The botany of *Citrus* and its relatives. Revisão de Philip C. Reece. In: REUTHER, W.; WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Eds.). *The Citrus Industry*. Berkeley: University of California, 1967. v. 1, cap. 3, p. 190-430.

VÁSQUEZ ARAUJO, J.E. *Identificação de embriões zigóticos em sementes poliembriônicas de citros (Citrus spp.) mediante características morfológicas*. 1991. 74 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas. 1991.

VÁSQUEZ ARAUJO, J.E.; SOARES FILHO, W. dos S.; CUNHA, M.A.P. da; CUNHA SOBRINHO, A.P. da; PASSOS, O.S.; SOUZA, A. da S. Identification of zygotic embryos in polyembryonic citrus seeds: the use of cotyledon colours. In: INTERNATIONAL CITRUS CONGRESS, 7., 1992, Acireale. *Proceedings...* Catania: International Society of Citriculture, 1994. v. I, p. 142-144.

YELENOSKY, G.; BROWN, R. T.; HEARN, C. J. Tolerance of trifoliata orange selection and hybrids to freezes and flooding. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, Orlando, v. 86, p. 99-104, 1974.

ANEXO

Tabela 1. Híbridos obtidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, 1988 a 2002. Cruz das Almas, BA.

Variedades porta-enxerto	
Cruzamentos	Nº de híbridos
TCL (tangerina 'Clementina') x CTC25 (citrange C-25)	249
TCL x CTCG (citrange 'Cunninghan')	200
TCL x CTARG (citrange 'Argentina')	187
TCL x CTC35 (citrange C-35)	168
TCL x CTSF (citrange 'Sanford')	156
TCL x TRBK (<i>Poncirus trifoliata</i> Beneke)	149
TCL x CTSW (citrumelo 'Swingle')	98
TCL x HYD (trifoliata Hybrid)	70
TCL x CTTR (citrange 'Troyer')	38
TCL x [CLEO (tangerina 'Cleópatra') x TRBN (<i>P. trifoliata</i> Barnes)]	32
TCL x [LCR (limão 'Cravo') x TR (<i>P. trifoliata</i>)]	23
TCL x TRDP (<i>P. trifoliata</i> Diplóide)	22
TCL x TRPO (<i>P. trifoliata</i> Pomeroy)	16
TCL x CTRK (citrange 'Rusk')	11
TCL x LVK (limão 'Volkameriano')	10
TCL x LRM (limão 'Rugoso Mazoe')	8
TCL x CTQT (citrangequat)	6
TCL x CTCM (citrange 'Coleman')	2
TCL x TRRD (<i>P. trifoliata</i> Rubidoux)	1
TSK (tangerina 'Sunki') x CTARG	203
TSK x (LCR x TR)	77
TSK x CTSW	65
TSK x CTQT	53
TSK x CTC13 (citrange C-13)	44
TSK x CTTR	42
TSK x LHA (laranja 'Hamlin')	41
TSK x TRDP	39
TSK x LRM	24
TSK x CTC25	20
TSK x TRBK	19
TSK x CTRK	17
TSK x CTCM	11
TSK x TRFD (<i>P. trifoliata</i> Flying Dragon)	10
TSK x TRBN	7
TSK x CTC35	7
TSK x CWEB (<i>Citrus webberi</i>)	7
TSK x LVK	5

Continua

Continuação

Variedades porta-enxerto	
Cruzamentos	Nº de híbridos
TSK x LPA (laranja 'Palmeiras')	4
TSK x LPE (laranja 'Pêra')	2
TSK x LCR	1
TSK x HTR051 (híbrido trifoliado – 051)	1
LCR x LAZ (laranja 'Azeda')	104
LCR x CTARG	94
LCR x CTSW	41
LCR x LRF (limão 'Rugoso da Flórida')	34
LCR x CTC35	22
LCR x HTR116 (híbrido trifoliado – 116)	21
LCR x LVK	17
LCR x LHA	9
LCR x LPA	7
LCR x (LCR x TR)	7
LCR x CTTR	6
LCR x [TSK x TRSW (<i>P. trifoliata</i> Swingle)]	5
LCR x MCC (<i>Microcitrus</i>)	5
LCR x TSK	4
LCR x TRRB	3
LCR x (CLEO x TRSW)	2
LCR x CKRJ (<i>Citrus keraji</i>)	1
LCR x TRPO	1
LCR x CTCM	1
LCR x TRDP	1
LVK x CTSW	128
LVK x LCR	81
LVK x LPA	47
LVK x CTTR	42
LVK x [TSK x TRENG (<i>P. trifoliata</i> English)]	37
LVK x CTARG	22
LVK x CTCM	18
LVK x LVA (laranja 'Valência')	16
LVK x CTC35	10
LVK x CTCG	8
LVK x TRPO	7
LVK x TRFD	4
LVK x TRBK	4
LVK x LAZ	3
LVK x (LCR x TR)	2
LVK x HTR116	1
LAZ x CTARG	124
LAZ x CTSW	124
LAZ x LHA	108
LAZ x CTC35	90

Continua

Continuação

Variedades porta-enxerto	
Cruzamentos	Nº de híbridos
LAZ x LVA	40
LAZ x CTTR	38
LAZ x LCR	28
LAZ x CTRK	18
LAZ x CTC32 (citrange C-32)	17
LAZ x CTQT	13
LAZ x TRRD	10
LAZ x CTCM	8
LAZ x (TSK x TRENG)	4
LRF x LHA	10
LRF x LCR	6
LRF x (LCR x TR)	5
LRF x LPA	3
CLEO x LVK	5
CLEO x (LCR x TR)	5
CLEO x LPA	3
CLEO x LCR	2
CLEO x CTSW	1
OLD (tangelo 'Orlando') x CTTR	14
OLD x TRDP	2
OLD x (LCR x TR)	2
OLD x CTCG	1
LEE (tangerina-tangelo 'Lee') x CTARG	28
LEE x CTC25	22
LPA x LVK	12
LPA x LCR	1
TPL (tangor 'Temple') x CTTR	13
TPL x CTQT	4
TKG (tangerina 'King') x CTSW	21
TKG x TRDP	12
TKG x CTTR	2
MCPH (<i>Citrus macrophylla</i>) x TRBK	2
MCPH x CTC35	1
TDA (tangerina 'Dancy') x LVK	2
CTYM (citrange 'Yuma') x LCR	6
TCD (toranja 'Chandler') x [CLEO x CTCZ (citrange 'Carrizo')]	20
JDN (<i>Fortunella</i> 'Jin Dan') x LAZ	7
LCR x KKN (<i>Citrus karna</i>)	2
SSJC (Shane Shou Jin-Chen) x LAZ	1
[TCL x MCT (tangor 'Murcott')] x CTSW	5
HTR (híbridos trifoliados)	208
Total de híbridos	4010

Continua

Continuação

Variedades copa	
Cruzamentos	Nº de híbridos
TCL x LPB (laranja 'Parson Brown')	204
TCL x LHA	148
TCL x OLD	134
TCL x LVA	121
TCL x LMS (laranja 'Midsweet')	104
TCL x LST (laranja 'Sunstar')	79
TCL x LJF (laranja 'Jaffa')	65
TCL x TCR (tangerina 'Cravo')	60
TCL x LPE	54
TCL x LBD (laranja 'Biondo')	50
TCL x LPN (laranja 'Pineapple')	46
TCL x LSL (laranja 'Seleta')	24
TCL x MXC (mexerica 'Comum')	22
TCL x LKN (laranja 'Kona')	22
TCL x TPG (tangerina-tangelo 'Page')	17
TCL x LSN (laranja 'Salustiana')	7
TCL x LFM (laranja 'Folha Murcha')	6
LEE x LHA	454
LEE x OLD	94
LEE x LPB	75
LEE x LVA	62
LEE x TMN (tangelo 'Minneola')	18
LEE x LNA (laranja 'Natal')	13
TRB (tangerina-tangelo 'Robinson') x LNA	61
TRB x LPN	45
TRB x LST	28
TRB x LHA	22
TRB x LDI (laranja 'Diva')	1
MXC x LHA	5
MXC x LPA	2
MXC x LPE	2
MXC x LLT (laranja 'Laboratory')	1
MXC x LCA (laranja 'Caipira')	1
OLD x LPE	3
OLD x LVA	2
OLD x LHA	1
TPG x TCR	2
TPG x MXC	1
TPG x LHA	1
TPL x LSN	27
TPL x LBD	19
TKG x LSL	4
TKG x LRB (laranja 'Rubi')	1

Continua

Continuação

Variedades copa	
Cruzamentos	Nº de híbridos
TMN x LNA	2
TMN x LVA	1
KNW (tangerina 'Kinnow') x LPE	4
TBS (tangerina 'Big of Sicily') x LPE	2
MCT x LVA	2
TCR x LPA	1
TST (tangerina 'Satsuma') x LWT (laranja 'Westin')	1
LLB (limão 'Lisboa') x LSL	1
Total de híbridos	2122

Variedades porta-enxerto / copa	
Híbridos Naturais¹	Nº de híbridos
LCR	64
LAZ	35
LVK	21
LGL (limão 'Galego')	18
CLEO	10
CTSW	8
COBV (<i>Citrus obovoidea</i>)	7
HTR001 (híbrido trifoliado – 001)	4
CTCZ	3
LVK x LCR 010	2
CTWN (<i>Citrus taiwanica</i>)	2
TRFD	2
TRRD	2
TSC (tangerina 'Sun Cha')	2
HTR070 (híbrido trifoliado – 070)	1
HTR166 (híbrido trifoliado – 166)	1
HTR103 (híbrido trifoliado – 103)	1
TSK x TRENG	1
CLEO x TRSW	1
LRU (laranja 'de Russas')	1
Total de híbridos	186

¹Híbridos obtidos de polinização aberta.

Impressão e acabamento
Embrapa Informação Tecnológica



Mandioca e Fruticultura

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

