

Caracterização agronômica e molecular de acessos de *Citrus sunki* do Banco de Germoplasma de Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira

Evandro Henrique Schinor^{1*}, Amauri Siviero², Mariângela Cristofani-Yaly¹, Samanta Marengo¹, Jorgino Pompeu Junior¹ & Marcos Antonio Machado¹

RESUMO

Este trabalho objetivou caracterizar e avaliar acessos de tangerina Sunki (*Citrus sunki* Hort. ex Tan.) e assemelhados, pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis, SP. Foram avaliadas características agronômicas: altura (A), diâmetro (D), relação A/D, massa e número de gomos dos frutos, número de sementes viáveis e abortadas, comprimento e diâmetro das sementes, número de embriões e características de suco dos frutos: rendimento de suco, sólidos solúveis, acidez total, *ratio* e sólidos solúveis por caixa (40,8 kg de frutos). Para as análises moleculares foram utilizados DNA genômico total extraído de folhas frescas, acessando-se polimorfismo genético mediante emprego de 11 pares de iniciadores microssatélites. Os acessos de tangerina Sunki CV200 e CV200 (BMS) apresentaram 100% de similaridade genética com os iniciadores microssatélites utilizados e se mostraram semelhantes em relação às características agronômicas. Os acessos Suen Kat CV201 e CV202 apresentaram diferenças entre si, tanto em relação a polimorfismo genético molecular, quanto morfológico e também não se agruparam com os acessos de tangerina Sunki.

Termos de indexação: porta-enxerto, microtangerina, marcador molecular.

SUMMARY

Agronomic and molecular characterization of accessions of Sunki mandarin of the Centro APTA Citros Sylvio Moreira germplasm bank

This study aimed the characterization of accessions of Sunki mandarin (*Citrus sunki* hort. ex Tan.) and relatives belonging to the Active Germplasm Bank of Citrus of the Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis, SP. Agronomic characteristics of the accessions were evaluated: height (H), diameter (D) A/D ratio, weight and number of fruit buds; number of viable and aborted seeds, length and width of seeds, number of embryos by seed, and internal characteristics of fruits: juice yield, soluble solids, total acidity, ratio and kg of soluble solids per box (40.8 kg of fruits). For molecular analysis, total genomic DNA was extracted from

¹ Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Citros Sylvio Moreira-IAC, CP 4, CEP 13490-970, Cordeirópolis, SP.

* Autor para correspondência - E-mail: evandro@centrodecitricultura.br

² Centro de Pesquisas Agroflorestal do Acre Embrapa. CP 321, CEP 69900-970, Rio Branco, AC.

fresh leaves, accessing genetic polymorphism through 11 pairs of microsatellites primers. The accessions of Sunki mandarin CV200 and CV200 (BMS) showed 100% of genetic similarity with the primers microsatellites used and proved very similar agronomic characteristics. The accessions Suen Kat CV201 and CV202 differed between them in relation to morphological and molecular genetic polymorphism and also do not grouped with the accessions of Sunki mandarin.

Index terms: rootstock, small-fruited mandarin, molecular marker.

INTRODUÇÃO

O porta-enxerto denominado tangerina Sunki (*Citrus sunki* hort. ex Tan.), também conhecido como “Suen Kat” ou “Sun Kat”, é originado do sudeste da China (Hodgson, 1967). Por não apresentar problemas de incompatibilidade com copas cítricas, é indicado como porta-enxerto para laranjeiras [*C. sinensis* (L.) Osb.; notadamente laranjeira Pêra], tangerineiras (*C. reticulata* Blanco) e pomeleiros (*C. paradisi* Macf.) (Pompeu Junior, 1980). Apresenta diversas características desejáveis, como comportamento semelhante à tangerineira Cleópatra (*C. reshni* hort. ex Tan.) no tocante à formação da copa das plantas, elevado vigor, boa produtividade de frutos, resistência à tristeza, xiloporose, sorose, declínio dos citros, morte súbita dos citros, tolerância a solos salinos e à seca (Bassanezi et al., 2002; Castle, 1987; Pompeu Junior, 1980; Pompeu Junior, 2005) o que torna a tangerineira Sunki de grande interesse comercial e muito utilizada em cruzamentos genéticos visando à obtenção de novos porta-enxertos.

Os principais fatores limitantes ao emprego da tangerineira Sunki são: alta suscetibilidade à *Phytophthora*, agente etiológico da gomose ou podridão das raízes e do tronco (Aguilar-Vildoso & Pompeu Junior, 1997; Feichtenberger, 2001) e seu reduzido número de sementes viáveis por fruto, de 3 a 5 (Carvalho et al., 1997; Medina Filho et al., 1992; Soares Filho et al., 2000; Soares Filho et al., 2002; Weiler et al., 2009).

Estudos de caracterização morfológica são necessários para aumentar o número de opções de porta-enxertos com potencial para uso em programas de melhoramento de citros. A caracterização e avaliação morfoagronômica vem sendo estudada por diversos autores para a diferenciação de genótipos

de citros (Domingues et al., 1999; Domingues et al., 2004; Latado et al., 2005; Schinor et al., 2009). Outra ferramenta importante na caracterização de variedades e híbridos de citros são os marcadores moleculares do tipo microsatélites SSRs (*Simple Sequence Repeats*) (Cristofani et al., 2001, Cristofani et al., 2003a; Cristofani et al., 2003b; Koehler-Santos et al., 2003, Weiler et al., 2009) e ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) (Kumar et al., 2009).

Em um estudo realizado por Novelli et al. (2006), foram desenvolvidos e caracterizados 161 pares de primers SSRs empregados na avaliação da variabilidade intraespecífica, identificação e caracterização de clones e variedades de laranjeiras doces e comparação dos padrões de diversidade genética dos acessos.

O Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC vem realizando, desde 1997, um amplo programa de melhoramento genético de citros via cruzamentos dirigidos. Populações de híbridos obtidas de cruzamentos entre diversas variedades de citros, selecionadas por marcadores moleculares, foram recentemente estabelecidas em várias regiões do estado de São Paulo com o objetivo de estudar o comportamento de cada híbrido em diferentes regiões edafoclimáticas. Neste sentido, o uso do porta-enxerto Sunki tem potencial como parental no desenvolvimento de híbridos com limoeiro Cravo (*C. limonia* Osb.) e *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., objetivando a obtenção de híbridos candidatos a porta-enxerto que apresentem maior número de sementes poliembriônicas, rusticidade, precocidade e resistência à gomose de *Phytophthora*.

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar e avaliar agronomicamente e por meio de marcadores moleculares acessos de tangerineira Sunki e assemelhados pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma do Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

O trabalho foi conduzido no Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, município de Cordeirópolis, SP, coordenadas geográficas: 22°32' S e 47°27' O, altitude de 639 m e clima do tipo Cwa, segundo a classificação de Köppen (Ortolani et al., 1991). O solo é do tipo Latossolo Vermelho distrófico típico (Embrapa, 1999). A média de precipitação anual é de 1.375 mm e a média anual da umidade relativa do ar, de 74,2%. A temperatura média anual é de 20,2 °C, sendo a média das máximas igual a 27,5 °C, e a das mínimas 14,5 °C.

Os materiais estudados foram coletados no Banco Ativo de Germoplasma de Citros (BAG-Citros) do Centro APTA Citros Sylvio Moreira em maio de 2010. Os oito acessos de microtangerineiras avaliadas foram: Cleópatra (*C. reshni*) CV199; Suen Kat (*C. reticulata*) CV201, Suen Kat CV202; Sunki (*C. sunki*) CV200, Sunki CV200 (BMS) (Banco de Matrizes e Sementes), Sunki Tietê, Sunki 1505 - fruto pequeno e Sunki 1506 - fruto grande (Figura 1). A variedade Cleópatra foi utilizada como padrão de tangerineiras. O acesso Sunki CV200 (BMS) foi incluído no estudo para certificar que este é um clone do acesso Sunki CV200. A designação CV corresponde a clone velho e os números, correspondem ao registro de cada acesso no BAG-Citros.

Caracterização agronômica de acessos de *C. sunki*

As características agronômicas foram avaliadas em amostras de dez frutos de cada acesso, obtidos a partir de polinização livre ou aberta, sob as mesmas condições ambientais. Os frutos foram coletados e transportados para o Laboratório de Qualidade do Centro APTA Citros Sylvio Moreira, onde foram quantificados os seguintes caracteres: altura (A), diâmetro (D), relação A/D, massa e número de gomos; número de sementes viáveis e abortadas; altura e largura das sementes e número de embriões. Também foram analisadas as características do suco: rendimento, sólidos solúveis, acidez total, *ratio* e índice tecnológico (kg sólidos solúveis por caixa com 40,8 kg de frutos).

As determinações de A e D dos frutos foram feitas por leitura direta dos dez frutos de cada amostra, com auxílio de canaleta graduada em centímetros,

e a partir desses valores, foi calculada a relação A/D dos frutos. A massa total dos frutos de cada acesso foi obtida através de balança.

Para a avaliação do número de sementes viáveis e abortadas e do número de gomos, cada fruto foi seccionado transversalmente com corte superficial da casca e torção em torno de seu eixo, para garantir a integridade das sementes. Foi realizada a contagem do número de gomos por fruto e em seguida procedeu-se a extração das sementes, com auxílio de espátula, registrando o número de sementes viáveis e abortadas. As sementes viáveis foram lavadas para a retirada da mucilagem e secas em temperatura ambiente por 24 horas. As determinações da altura e diâmetro de vinte sementes de cada acesso foram feitas por leitura direta, com auxílio de uma régua graduada em centímetros. Em seguida foram retirados seus tegumentos e procedeu-se a contagem do número de embriões com cotilédones visíveis.

As características do suco dos frutos foram obtidas conforme descrito a seguir: o rendimento de suco foi determinado após esmagamento de dez frutos de cada amostra em extratora OIC modelo OTTO 1800 e calculado por meio da relação massa do suco/massa do fruto e expresso em porcentagem; o teor de sólidos solúveis dos frutos foi obtido por leitura direta no refratômetro de mesa B & S, modelo RFM 330, correlacionando medidas de índices de refração da luz entre dois meios e os teores de açúcar da solução, expresso em °Brix, sendo que os dados foram corrigidos pela temperatura (°C) e pela acidez do suco; a acidez do suco foi determinada por titulação de uma alíquota de 25 mL de suco, até pH 8,2, utilizando-se uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) de normalidade de 0,3125 N, e fenolftaleína como indicadora, calculando-se com base em volume; o *ratio* foi calculado por meio da relação sólidos solúveis:acidez, considerando o valor da acidez igual a 1; e o índice tecnológico foi obtido de acordo com Di Giorgi et al. (1990) e expresso em quilos de sólidos solúveis totais por caixa com 40,8 kg de frutos. Como os acessos estudados no presente trabalho são utilizados apenas como porta-enxertos, a análise de qualidade de suco torna-se menos importante. As variáveis de qualidade do fruto foram analisadas na tentativa de verificar a maturação de cada acesso. Entretanto, não foram submetidas à análise estatística, pois se utilizou apenas uma amostra de cada acesso estudado.

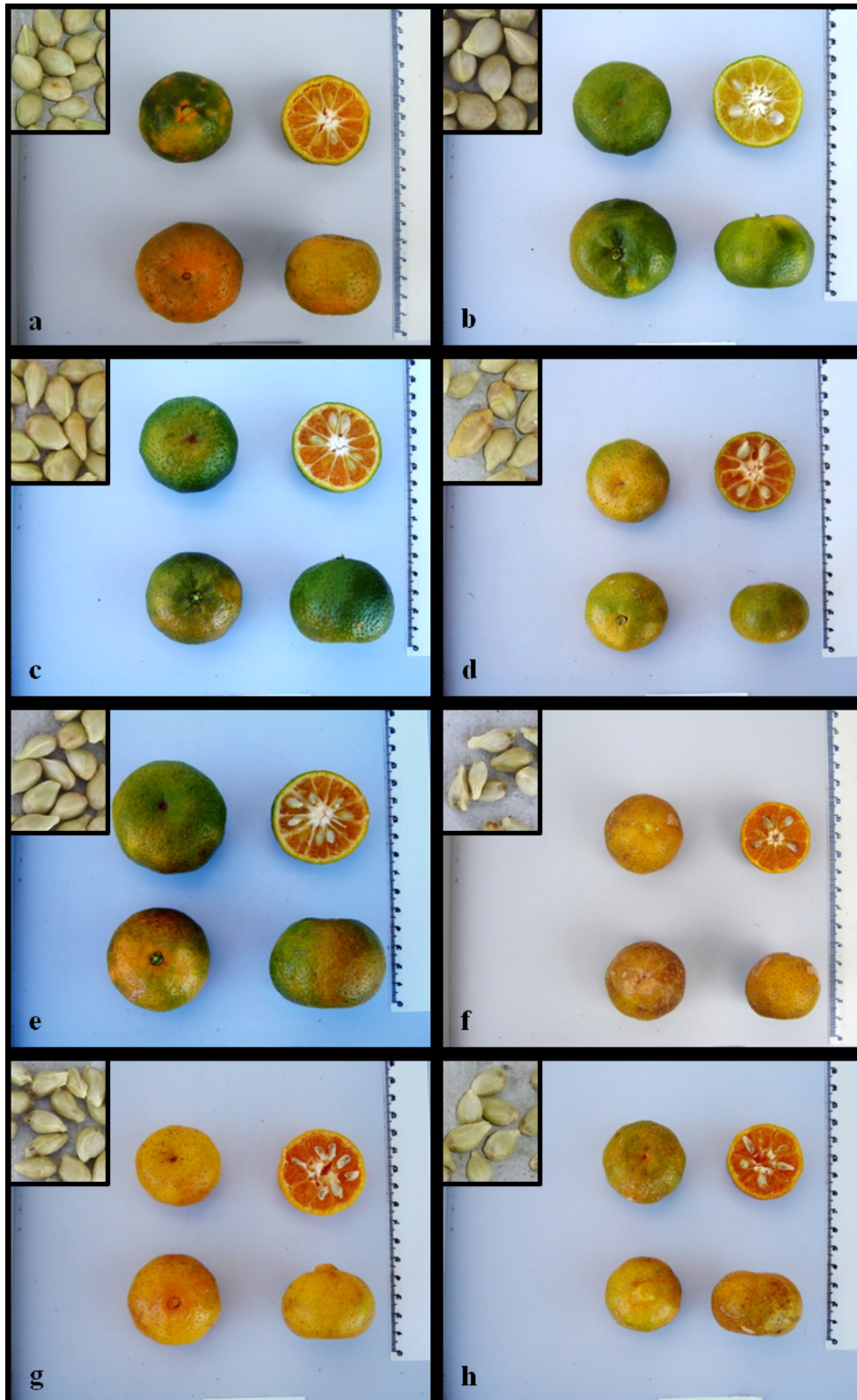


Figura 1. Frutos dos acessos de microtangerina do Banco Ativo de Germoplasma de Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira (Cordeirópolis, SP, maio/2010). Em detalhe, sementes viáveis dos diversos acessos: a. Cleópatra CV199; b. Suen Kat CV201; c. Suen Kat CV202; d. Sunki 1505 - fruto pequeno; e. Sunki 1506 - fruto grande; f. Sunki Tietê; g. Sunki CV200 (BMS); h. Sunki CV200.

O experimento foi disposto em blocos inteiramente casualizados, com oito tratamentos (acessos e variedades), três repetições, dez frutos/repetição e uma planta por parcela. As médias das variáveis A e D dos frutos, relação A/D, massa dos frutos, número de sementes viáveis e abortadas, número de gomos, comprimento e largura das sementes e número de embriões foram submetidas à análise de variância via Teste F, e a comparação das mesmas, feita por teste de Tukey à 5% de significância usando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2008).

Caracterização molecular usando microssatélites

O DNA genômico foi extraído de folhas frescas de cada um dos acessos estudados. Utilizou-se a metodologia descrita por Murray & Thompson (1980), com adaptações introduzidas por Machado et al. (1996). As reações de amplificação foram preparadas em um volume total de 25 µL, empregando-se 11 pares de iniciadores obtidos a partir de DNA genômico de laranja Pêra (Tabela 1). O programa utilizado foi de 30 ciclos de 94 °C por 30 s, 65-56 °C por 30 s e 72 °C por 5 s. A temperatura de anelamento começou a 65 °C e foi decaindo 0,3 °C a cada ciclo seguindo-se três ciclos com anelamento a 56 °C. Os produtos da reação foram visualizados em gel de agarose 3,5%. Como marcador de peso molecular, utilizou-se o padrão (*ladder*) de 1Kb (GIBCO-BRL).

A corrida eletroforética foi realizada em tampão TAE 1X por aproximadamente três horas e os géis fotografados sobre luz ultravioleta.

Os fragmentos amplificados foram avaliados como ausência (0) e presença (1). A similaridade genética entre todos os oito genótipos foi calculada a partir do coeficiente de Jaccard conforme descrito em Amorim et al. (2008). As similaridades genéticas foram utilizadas para fazer o agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA (*unweighted pair-group method averages*), por meio do software NTSYS-pc (Rohlf, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização agronômica

Quanto à caracterização química dos frutos dos acessos de microtangerineiras, a Cleópatra CV199 (30,3%) e os dois acessos de Suen Kat (CV201 - 27% e

Tabela 1. Locos microssatélites (SSR), sequências dos iniciadores (F/R – *forward/reverse*), SSR utilizados no estudo de caracterização das variedades Sunki

Nome do iniciadores	Sequência dos iniciadores 5' - 3'
CCSM4	F - ttctcctcatcttcgactcc R - ccgatcttacgacgtatcaa
CCSM6	F - atctgtgtgaggactgaa R - cctctattaatgtgctg
CCSM19	F - ggacactgtgactaa R - agctaccaagacaccacc
CCSM40	F - acaagagtcgcaacaatc R - agacaacagtggcaatacc
CCSM46	F - ataccttatcaagtaacacg R - tcagaatgagtactagctcc
CCSM70	F - gcaaggagtagtaatgtgg R - ctcgtgtgcaagttgcat
CCSM77	F - tatccaaccatgtgtccata R - cactaggtcaccattaattg
CCSM85	F - aacaagactcagagagacacac R - cgatctctagacggact
CCSM95	F - aagaagetctcacctctc R - taactgtgaacgaactg
CCSM143	F - gagctgtacttgtctctaa R - gaaatatattatcaactcc
CCSM150	F - tcagacaatgtgttagagag R - tcggttgctacttgtatc

CV202 - 24,4%) apresentaram as maiores porcentagens de rendimento de suco em relação aos acessos de tangerineira Sunki (Sunki Tietê - 15,9% e Sunki CV200 - 18,2%) (Tabela 2). Todos os acessos estudados apresentaram alta acidez, que variou de 1,71 (Sunki 1505 - fruto pequeno) a 3,62 (Cleópatra CV199); baixo Brix, de 7,2 (Sunki Tietê) a 10,4 (Suen Kat CV201); baixo *ratio*, de 2,6 (Cleópatra CV199) a 5,3 (Sunki 1505 - fruto pequeno) e baixos teores de sólidos solúveis totais para índice tecnológico, que variou de 0,47 (Sunki Tietê) a 1,18 (Cleópatra CV199) (Tabela 2).

O número de sementes por fruto é uma importante característica para que uma variedade seja utilizada como porta-enxerto na citricultura. Os maiores resultados médios do número de sementes viáveis por fruto foram observados nos acessos/variedade Suen Kat CV202, Cleópatra CV199, Sunki 1506 Fruto Grande

Tabela 2. Caracterização química de frutos de oito microtangerineiras do Banco Ativo de Germoplasma de Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis, SP, (2010)

Acesso/variedade	Rend. suco %	Acidez g/100 mL	SST °Brix	Ratio	SST kg/cx ¹
Cleópatra CV199	30,3	3,6206	9,5	2,6	1,18
Suen Kat CV201	27,0	2,9804	10,4	3,5	1,14
Suen Kat CV202	24,4	3,3473	10,0	3,0	1,00
Sunki 1505 Fr. Peq.	17,6	1,7154	9,1	5,3	0,66
Sunki 1506 Fr. Gr.	16,7	2,3580	8,9	3,8	0,60
Sunki CV200	18,2	3,3278	10,3	3,1	0,77
Sunki CV200 (BMS)	16,7	2,3979	9,2	3,8	0,62
Sunki Tietê	15,9	1,9629	7,2	3,7	0,47

¹Caixa com 40,8 kg de frutos, SST = sólidos solúveis totais.

e Sunki Tietê, com 21,7; 20,9; 16,3 e 14,7 sementes viáveis, respectivamente, diferindo estatisticamente dos demais. O resultado médio do número de sementes abortadas também apresentou diferenças entre os acessos, sendo o maior valor observado no acesso Sunki CV200 (6,8), seguidos pelos acessos Sunki 1506 - Fruto Grande (4,2) e CV200 (BMS) (3,9) (Tabela 3).

Diversos trabalhos encontrados na literatura relatam o reduzido número de sementes viáveis por fruto na tangerineira Sunki (Carvalho et al., 1997; Medina Filho et al., 1992; Soares Filho et al., 2000; Soares Filho et al., 2002; Weiler et al., 2009), o que também foi observado neste trabalho para os acessos CV200 e CV200 (BMS) do BAG-Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira.

Carvalho et al. (1997) descreveram que a tangerineira Cleópatra apresentou cerca de 19 sementes normais por fruto e que seu potencial é de 23, corroborando os resultados apresentados no presente trabalho. Araujo & Salibe (2002) caracterizando frutos de microtangerineiras de BAGs de citros de dois locais (Botucatu, SP e Cordeirópolis, SP) também encontraram maior número de sementes viáveis por fruto nas tangerineiras Cleópatra e Suen Kat, enquanto que nos acessos de Sunki, observaram os menores números de sementes, também observado no presente estudo.

Araujo & Salibe (2002) atribuíram esse baixo número de sementes viáveis ao elevado número de sementes abortadas nos frutos de tangerineira Sunki. Por sua vez, Carvalho et al. (1997) estudando os aspectos biológicos do reduzido número de sementes da Sunki, demonstraram que essa variedade possui potencial para produzir até 17 sementes por fruto,

concluindo que a principal causa do reduzido número de sementes se deve a um acentuado grau de autoincompatibilidade. Estes autores descreveram, também, que a polinização com variedades compatíveis aumentou significativamente o número de sementes por fruto (de 2,5 para 8,4), fato também relatado por Medina Filho et al. (1992), que observaram aumento expressivo do número de sementes viáveis, passando de 3,2 sementes em frutos originados de ramos de livre polinização, para 8,1 sementes em frutos originados de ramos onde as flores sofreram polinização controlada com diversas variedades cítricas.

Houve diferenças no tamanho das sementes (comprimento x diâmetro). O acesso Sunki Tietê (0,83 x 0,45 cm) apresentou sementes com as menores dimensões, seguido pelas Sunki CV200 (BMS) (0,88 x 0,51 cm) e CV200 (0,89 x 0,54 cm). As maiores sementes foram observadas na Suen Kat CV201 (0,98 x 0,72 cm) seguida pelas Sunki 1505 - fruto pequeno (1,00 x 0,58 cm) e 1506 - fruto grande (0,98 x 0,56 cm) (Tabela 3).

Quanto ao número de embriões por semente observaram-se diferenças entre os acessos (Tabela 3). Soares Filho et al. (2000) detectaram o número médio de 1,3 embriões por semente em tangerineira Sunki, média muito semelhante à de 1,24 obtida por Weiler et al. (2009). No presente trabalho, os acessos Sunki CV200 e CV200 (BMS), com resultados médios de 1,1 e 1,4 embriões por semente, respectivamente, diferenciaram-se estatisticamente dos demais. Um resultado médio intermediário de 3,1 embriões foi observado no acesso Sunki Tietê, diferenciando da Sunki 1505 - fruto pequeno, que apresentou o maior número de embriões, com 4,5 por semente.

Tabela 3. Caracterização agrônômica de oito microtangerineiras do Banco Ativo de Germoplasma de Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis, SP, (2010)

Acessos	Número Sementes Viáveis	Número Sementes Abortadas	Compr. Semente (cm)	Diam. Semente (cm)	Número embriões	Número Gomos	Altura Fruto (cm)	Diâmetro Fruto (cm)	Relação A/D	Massa Fruto
Cleópatra CV199	20,9 d*	0,8 a	0,92 abc	0,55 bcd	3,8 bc	11,6 d	3,58 a	4,40 b	0,81 ab	39,33 bcd
Suen Kat CV201	9,9 abc	0,5 a	0,98 bc	0,72 e	3,8 bc	10,3 bc	3,22 a	4,30 ab	0,75 a	31,67 abc
Suen Kat CV202	21,7 d	0,8 a	0,93 abc	0,61 d	4,0 bc	11,4 cd	3,67 a	4,70 b	0,78 a	43,33 cd
Sunki 1505 Fr. Peq.	8,0 ab	0,5 a	1,00 c	0,58 cd	4,5 c	10,1 b	3,17 a	4,23 ab	0,75 a	26,67 ab
Sunki 1506 Fr. Gr.	16,3 cd	4,2 b	0,98 bc	0,56 bcd	3,6 bc	11,5 d	3,73 a	4,77 b	0,79 a	45,67 d
Sunki CV200	4,3 a	6,8 c	0,89 a	0,54 bc	1,1 a	8,2 a	3,08 a	3,90 ab	0,79 a	22,00 a
Sunki CV200 (BMS)	6,2 a	3,9 b	0,88 a	0,51 ab	1,4 a	8,4 a	3,08 a	3,97 ab	0,77 a	21,67 a
Sunki Tietê	14,7 bcd	0,6 a	0,83 a	0,45 a	3,1 b	7,4 a	3,13 a	3,45 a	0,91 b	21,33 a
CV (%)	20,85	40,40	3,94	3,74	12,11	4,31	9,56	7,49	4,59	15,63

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5%.

Os frutos dos diferentes acessos apresentaram diferenças em relação ao número de gomos, largura, relação A/D e massa. Os acessos de Sunki Tietê (7,4), CV200 (8,2) e CV200 (BMS) (8,4) foram os que apresentaram frutos com os menores números de gomos, diferindo estatisticamente dos demais. Já os que apresentaram frutos com maiores números de gomos foram os acessos Cleópatra CV199, Sunki 1506 - fruto grande e Suen Kat CV202, com 11,6, 11,5 e 11,4, respectivamente. Carvalho et al. (1997) constataram média de 11,7 gomos por fruto para tangerineira Cleópatra, 8,8 para Sunki CV200 e 8,6 para Sunki Tietê. Araujo & Salibe (2002), avaliando acessos do BAG-Citros, em Botucatu, SP, relataram 11,2; 11,0 e 8,8 gomos por fruto para os acessos Suen Kat, Cleópatra e Sunki, respectivamente.

Em relação à altura dos frutos, não foram detectadas diferenças entre os acessos. Entretanto, houve diferenças entre o acesso Sunki Tietê (3,45 cm) e a variedade Cleópatra CV199 (4,40 cm), Suen Kat CV202 (4,70 cm) e Sunki 1506 - fruto grande (4,77 cm) quanto ao diâmetro dos frutos. A relação A/D dos frutos foi semelhante entre os acessos, porém a Sunki Tietê, com relação de 0,91, apresentou formato mais arredondado que os demais, não diferindo estatisticamente apenas da Cleópatra CV199 (0,81). Frutos de maior massa foram observados no acesso Sunki 1506 - fruto grande (45,67 g), que diferiu da Suen Kat CV201 (31,67 g) e dos acessos de Sunki 1505 - fruto pequeno (26,67 g), Tietê (21,33 g), CV200 (BMS) (21,67 g) e CV200 (22,00 g) (Tabela 3).

Caracterização molecular

Em relação às análises moleculares por microssatélites, dos onze pares de iniciadores utilizados no trabalho, oito foram polimórficos (CCSM 6, CCSM 40, CCSM 46, CCSM 70, CCSM 77, CCSM 85, CCSM 95 e CCSM 150) entre os acessos estudados e três (CCSM 4, CCSM 19 e CCSM 143) foram monomórficos com dois alelos cada um. Os iniciadores CCSM 6, 46, 70 e 95 apresentaram dois alelos cada, os iniciadores CCSM 77, 85 e 150 apresentaram 1 alelo cada um e o iniciador CCSM 40 apresentou três alelos (Figura 2). Os acessos de tangerineira Sunki CV200 e CV200

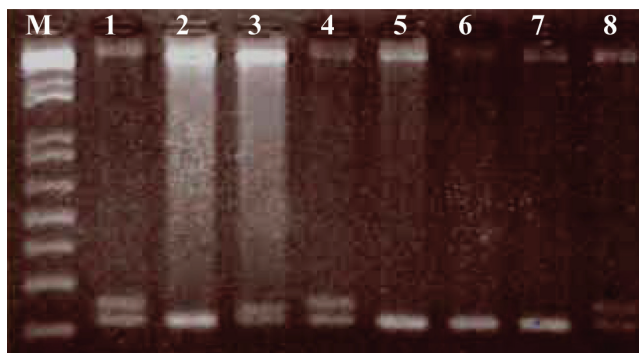


Figura 2. Padrões de amplificação com *primer* CCSM40. M - marcador de peso molecular *Ladder* 1Kb; 1 - tangerina Cleópatra CV199; 2 - tangerina Sunki CV200; 3 - tangerina Suen Kat CV201; 4 - tangerina Suen Kat CV202; 5 - tangerina Sunki CV200 (BMS); 6 - tangerina Sunki Tietê; 7 - tangerina Sunki 1505 - fruto pequeno e 8 - tangerina Sunki 1506 - fruto grande.

(BMS) revelaram o mesmo padrão de bandas com todos os iniciadores utilizados. Os acessos de Sunki 1505 - fruto pequeno e Sunki 1506 - fruto grande apresentaram diferença entre si e entre os acessos de tangerineira Sunki. Os acessos de Suen Kat (CV201 e CV202) apresentaram diferença entre si (Figura 2) e não se agruparam com os outros acessos de tangerineira Sunki (Figura 3).

O resultado esperado era que estes acessos se agrupassem, pois segundo Hodgson (1967) as denominações Suen Kat ou Sun Kat podem ser usadas como sinonímia para a tangerineira Sunki. Entretanto, pelos resultados das características agrônômicas (número e tamanho das sementes, número de embriões, número de gomos, tamanho e massa dos frutos) (Tabela 2) e pelas análises moleculares, o acesso Suen Kat CV202 parece estar mais relacionado botanicamente com a tangerineira Cleópatra CV199 do que com a tangerineira Sunki, conclusão essa também anteriormente relatada por Araujo & Salibe (2002). O acesso Suen Kat CV201 aparece em outro grupo isolado.

Pelos resultados obtidos a partir das características agrônômicas e análises moleculares por microssatélites realizadas no presente trabalho, sugere-se que os acessos denominados Suen Kat

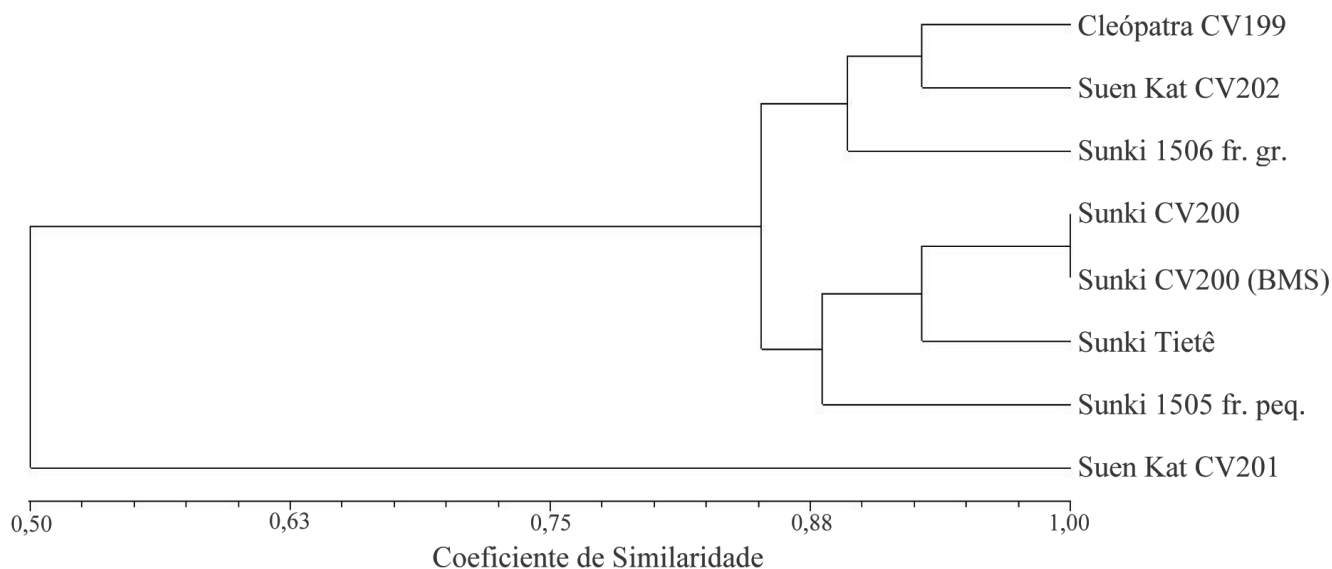


Figura 3. Similaridade genética entre oito acessos de microtangerina do Banco Ativo de Germoplasma do Centro APTA Citros Sylvio Moreira (Cordeirópolis, SP) com base em oito marcadores microssatélites.

(CV201 e CV202) do BAG-Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira sejam consideradas distintas da tangerineira Sunki, uma vez que não se agruparam com os acessos de Sunki pelas análises moleculares e por apresentarem número de sementes viáveis e abortadas, tamanho da semente, número de embriões, número de gomos e massa dos frutos significativamente diferentes dos acessos de tangerineira Sunki descritos. Assim como, os acessos de tangerineira Sunki CV200 e CV200 (BMS) apresentam 100% de similaridade por meio das análises moleculares e morfológicas, entretanto, diferem da tangerineira Sunki Tietê.

CONCLUSÕES

Os acessos de tangerineira Sunki CV200 e CV200 (BMS) apresentam 100% de similaridade genética tendo por base a ausência de polimorfismo molecular acessado por iniciadores microssatélites utilizados e não diferiram em relação às características agrônômicas.

Os acessos de Suen Kat (CV201 e CV202) apresentam diferenças entre si em relação às características morfológicas e por microssatélites e também não se agrupam com os acessos de tangerineira Sunki.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Vildoso CI & Pompeu Junior J (1997) Inoculação de *Phytophthora parasitica* em caules de variedades cítricas, pelo método do palito. Fitopatologia Brasileira 22: 240 (Suplemento).
- Amorim EP, Reis RV, Santos-Serejo JA, Amorim VBO & Silva SO (2008) Variabilidade genética estimada entre diplóides de banana por meio de marcadores microssatélites. Pesq. Agropec. Bras. 43(8): 1045-1052.
- Araujo JRG & Salibe AA (2002) Caracterização físico-morfológica de frutos de microtangerinas (*Citrus* spp.) de potencial utilização como porta-enxertos. Revista Brasileira de Fruticultura 24(3): 618-621.
- Bassanezi RB, Gimenes-Fernandes N & Massari CA (2002) Resultados do levantamento detalhado da morte súbita dos citros na região afetada: junho a setembro de 2002. Araraquara: Fundecitrus 9p. (Relatório).
- Carvalho MT, Bordignon R, Ballvé RML, Pinto-Maglio CAF & Medina Filho HP (1997) Aspectos biológicos do reduzido número de sementes da tangerina 'Sunki'. Bragantia 56(1): 69-77.
- Castle WS (1987) Citrus rootstocks. In: Rom RC & Carlson RF (Eds). Rootstocks for fruits crops. New York: John Wiley, p.361-399.

- Cristofani M, Figueiredo JO, Targon MLPN & Machado MA (2003a) Differentiation of lemon varieties by microsatellites. *Laranja* 24(1): 165-175.
- Cristofani M, Machado MA, Novelli VM, Souza AA & Targon MLPN (2003b) Construction of linkage maps of *Poncirus trifoliata* and *Citrus sunki* based on microsatellite markers. Proceedings of the 9th International Society of Citriculture Congress, Orlando, USA, 1:175-178.
- Cristofani M, Novelli VM, Oliveira AC, Otaviano AR, Souza AA & Machado MA (2001) Identificação de híbridos de cruzamentos interespecíficos em citros utilizando marcadores RAPD e SSR. *Laranja* 22(1): 231-241.
- Di Giorgi F, Ide BY, Dib K, Marchin RJ, Triboni HR & Louro RW (1990) Contribuição ao estudo do comportamento de algumas variedades de citros e suas implicações agro-industriais. *Laranja* 11(2): 567-612.
- Domingues ET, Souza VC, Sakuragui CM, Pompeu Junior J, Pio RM, Teófilo Sobrinho J & Souza JP (1999) Caracterização morfológica de tangerinas do banco ativo de germoplasma de citros do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC. *Scientia Agricola* 56(1): 197-206.
- Domingues ET, Teófilo Sobrinho J, Pompeu Junior J, Figueiredo JO & Tulmann Neto A (2004) Caracterização de onze clones de laranja 'Pêra' e seis variedades assemelhadas. *Laranja* 25(1): 111-138.
- Embrapa Centro Nacional de Pesquisas de Solos (Rio de Janeiro, RJ) (1999) Sistema Brasileiro de classificação de solos. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, xxvi, 412 p.
- Feichtenberger E (2001) Doenças incitadas por *Phytophthora* em citros. In: Luz EDMN, Matsuoka K & Santos AF (Eds). Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Campinas: Livraria Rural, p.283-342.
- Ferreira DF (2008) SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Symposium* 6: 36-41.
- Hodgson RW (1967) Horticultural varieties of citrus. In: Reuther W, Webber HJ & Batchelor LD (Eds). *The Citrus Industry*. Riverside: University of California, p.431-591.
- Koehler-Santos P, Dornelles ALC & Freitas LB (2003) Characterization of mandarin citrus germplasm from Southern Brazil by morphological and molecular analyses. *Pesq. Agropec. Bras.* 38(7): 797-806.
- Kumar LS, Jena SN, Nair KN (2009) ISSR polymorphism in Indian wild orange (*Citrus indica* Tanaka, Rutaceae) and related wild species in North-east India. *Scientia Horticulturae* 350-359.
- Latado RR, Tulmann Neto A, Pompeu Junior J, Figueiredo JO, Pio RM, Machado MA, Namekata T, Ceravolo L, Marangoni SMN & Rossi AC (2005) Caracterização agrônômica de mutantes de laranjeira 'Pêra' sem sementes ou com alteração no período de maturação de frutos. *Laranja* 26(1): 109-120.
- Machado MA, Colleta Filho HD, Targon MLPN. & Pompeu Junior J (1996) Genetic relationship of Mediterranean mandarins (*Citrus deliciosa* Tenore) using RAPD markers. *Euphytica* 92: 321-326.
- Medina Filho HP, Bordignon R, Ballvé RML, Siqueira WJ & Carvalho MRT (1992) Porta-enxertos híbridos de citros produzidos no Instituto Agrônômico de Campinas. *Laranja* 13(2): 777-792.
- Murray MG & Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8: 4321-4325.
- Novelli VM, Cristofani M, Souza AA & Machado MA (2006) Development and characterization of polymorphic microsatellite markers for the sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Genetics and Molecular Biology* 29(1): 90-96.
- Ortolani AA, Júnior MJP & Alfonsi RR (1991) Agroclimatologia e cultivos dos citros. In: Rodriguez O, Viegas F, Pompeu Junior J & Amaro AA (Eds.). *Citricultura Brasileira*. Campinas: Fundação Cargill 1: 153-194.
- Pompeu Junior J (1980) Porta-enxertos para citros. In: Rodriguez O & Viégas FCP (Eds). *Citricultura Brasileira*. Campinas: Fundação Cargill 1: 279-296.
- Pompeu Junior J (2005) Porta-enxertos. In: Mattos Junior D, Negri JD, Pio RM & Pompeu Junior J (Eds.). *Citros*. Cordeirópolis: Centro APTA Citros Sylvio Moreira, p.63-104.

Rohlf FJ (2000) NTSYS-PC: numerical taxonomy and multivariate analysis system. New York: Exeter Software, 38p.(Version 2.1).

Schinor EH, Aguilar-Vildoso CI & Mourão Filho FAA (2009) Caracterização agronômica de seleções de laranjeira Pêra e sua relação com a mancha preta dos citos. Laranja 30(1-2): 75-96.

Soares Filho WS, Diamantino MSAS, Moitinho EDB, Cunha Sobrinho AP & Passos OS (2002) 'Tropical': uma nova seleção de tangerina 'Sunki'. Revista Brasileira de Fruticultura 24(1): 127-132.

Soares Filho WS, Moreira CS, Cunha MAP, Cunha Sobrinho AP & Passos OS (2000) Poliembrionia e frequência de híbridos em *Citrus* spp. Pesq. Agropec. Bras. 35(4): 857-864.

Weiler RL, Brugnara EC, Bastianel M, Machado MA, Schifino-Wittmann MT, Souza PVD & Schwarz SF (2009) Teste de paternidade e avaliações agronômicas de possíveis híbridos de tangerineira 'Sunki'. Scientia Agraria 10(6): 429-435.

