**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, AGRONÔMICA,
ISOENZIMÁTICA E POR RAPD DE VARIEDADES DE
LARANJA DOCE - *Citrus sinensis* (L.) Osbeck**

EDSON TOBIAS DOMINGUES

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **AUGUSTO TULMANN NETO**

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade
de São Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia. Área de Concentração:
Genética e Melhoramento de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Dezembro - 1998

ERRATA

Tese de Doutorado: “Caracterização morfológica, agronômica, isoenzimática e por RAPD de variedades de laranja doce - *Citrus sinensis* (L.) Osbeck”.

Página	Linha	Onde se lê	Alterar para
xviii	22	“ratio” = % de acidez / °Brix	“ratio” = °Brix / % de acidez
5	17	com os gametas	com a fertilidade dos gametas
79	3	cor de polpa: 1. ...	cor de polpa segundo Biesalski (1957)
84	2 e 26	DNA genômico	DNA total
99	8	Limeira	Limeira, de junho a dezembro,
112	22	Limeira.	Limeira, de junho a dezembro.
115	3	44 variedades	44 variedades (exceto Diva)
124	1	para as	para algumas

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Domingues, Edson Tobias

Caracterização morfológica, agrônômica, isoenzimática e por Rapd de variedades de laranja doce - *Citrus sinensis* (L.) Osbeck / Edson Tobias Domingues. - - Piracicaba, 1998.

251 p.

Tese (doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Característica agrônômica 2. Isoenzima vegetal 3. Laranja 4. Marcador molecular 5. Melhoramento genético vegetal 6. Mutação somática 7. Variabilidade genética 8. Variedade I. Título

CDD 634.31

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, AGRONÔMICA,
ISOENZIMÁTICA E POR RAPD DE VARIEDADES DE
LARANJA DOCE - *Citrus sinensis* (L.) Osbeck**

EDSON TOBIAS DOMINGUES

Aprovada em: 02/02/1999

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Augusto Tulmann Neto
Orientador

Os céus proclamam a glória de Deus e o firmamento anuncia as obras das suas mãos. Um dia discursa a outro dia, e uma noite revela conhecimento à outra noite. Não há linguagem, nem há palavras, e deles não se ouve nenhum som; no entanto, por toda a terra se faz ouvir a sua voz, e as suas palavras até aos confins do mundo.

salmos: 19.1-4

***Aos meus pais Lucio e Nair,
irmãos e sobrinhos ...
Ofereço.***

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Augusto Tulmann Neto, pela orientação, amizade e interesse por minha carreira científica.

Ao Dr. Joaquim Teófilo Sobrinho, Diretor do Centro de Citricultura Sylvio Moreira do Instituto Agrônomo, e aos demais Pesquisadores e funcionários pela amizade e colaboração.

Às estudantes Bruna Gardenal Fina, Viviane Yoshie Sugahara, Luciane Aparecida de Oliveira e à técnica Valéria Xavier Paula Garcia pelo auxílio na coleta de dados em campo e laboratório. E ao FUNDECITRUS pela gratificação oferecida às auxiliares, de 1995 a 1996, pelo projeto de caracterização de clones de laranja 'Pêra'.

À Elizabeth Ann Veasey e ao seu orientador, o saudoso Prof. Dr. Paulo Soderó Martins, pela orientação no uso da análise de isoenzimas no Laboratório de Genética Ecológica do Departamento de Genética da ESALQ/USP.

Aos Drs. Marcos Antonio Machado e Mariângela Cristofani, pelo material de consumo e orientação no uso da técnica RAPD, e demais funcionários do Laboratório de Biotecnologia do CCSM/IAC pela amizade e colaboração.

Aos Drs. Marcos A. Machado e Gerd Walter Müller pela revisão de resumos em inglês.

À Eliana M.G. Sabino da Divisão de Biblioteca e Documentação da ESALQ/USP.

Ao CNPq, pela concessão de bolsa durante o doutorado.

Ao Instituto Agrônomo de Campinas, aos seus Diretores, Pesquisadores e demais funcionários, à Comissão de Treinamento em nível de Pós-Graduação (CTPG) e à Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

Ao Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC; ao Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ/USP; à Radiogenética do Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP, locais onde foram realizadas as diferentes etapas deste trabalho.

A todos que de forma direta ou indireta colaboraram para a realização deste trabalho, agradeço.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xviii
RESUMO	xix
SUMMARY	xxi
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	07
2.1 Aspectos da sistemática em <i>Citrus</i>	07
2.2 Bancos de germoplasma de citros e sua importância para o melhoramento	17
2.3 Importância das mutações somáticas no melhoramento das variedades de citros	31
3 MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1 Seleção de clones de laranja 'Pêra' e variedades assemelhadas, quanto à qualidade do fruto e período de maturação	62
3.2 Seleção de variedades de laranja doce quanto à qualidade do fruto e período de maturação	64
3.3 Poliembrionia em clones de laranja 'Pêra' e variedades assemelhadas	66
3.4 Estudo da poliembrionia em 44 variedades de laranja doce	67
3.4.1 Pêra de Abril, uma variedade de laranja doce monoembriônica	68
3.5 Estudo da viabilidade de pólen em clones de laranja 'Pêra' e outras variedades assemelhadas	70
3.6 Viabilidade do pólen em variedades de laranja doce	71
3.7 Influência da polinização e da morfologia floral na frutificação de variedades de laranja doce	72

3.8 Caracterização morfológica de 11 clones de laranja 'Pêra' e 6 variedades assemelhadas	75
3.9 Caracterização morfológica de 44 variedades de laranja doce	80
3.10 Avaliação do polimorfismo de isoenzimas entre variedades de laranja doce	82
3.11 Avaliação do polimorfismo de RAPD entre variedades de laranja doce ..	84
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
4.1 Seleção de clones de laranja 'Pêra' e variedades assemelhadas, quanto à qualidade do fruto e período de maturação	87
4.2 Seleção de variedades de laranja doce quanto à qualidade do fruto e período de maturação	100
4.3 Poliembrionia em clones de laranja 'Pêra' e variedades assemelhadas	116
4.4 Estudo da poliembrionia em 44 variedades de laranja doce	121
4.4.1 Pêra de Abril, uma variedade de laranja doce monoembriônica	126
4.5 Estudo da viabilidade de pólen em clones de laranja 'Pêra' e outras variedades assemelhadas	134
4.6 Viabilidade do pólen em variedades de laranja doce	138
4.7 Influência da polinização e da morfologia floral na frutificação de variedades de laranja doce	144
4.8 Caracterização morfológica de 11 clones de laranja 'Pêra' e 6 variedades assemelhadas	152
4.9 Caracterização morfológica de 44 variedades de laranja doce	174
4.10 Avaliação do polimorfismo de isoenzimas entre variedades de laranja doce	203
4.11 Avaliação do polimorfismo de RAPD entre variedades de laranja doce ..	213
5 CONCLUSÕES	220
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	229
ANEXOS	248

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA, para 10 caracteres de qualidade de fruto de 11 clones de laranja 'Pêra' e seis variedades assemelhadas à 'Pêra', de 1995 a 1997	94
2 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA, para percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) ao final de outubro e início de novembro (1995 a 1997), em 11 clones de laranja 'Pêra' e seis variedades assemelhadas à 'Pêra'	96
3 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA, para 10 caracteres de qualidade de fruto de 44 variedades de laranja doce, de 1995 a 1997	107
4 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) ao final de julho e início de agosto, de 1995 a 1997, em 44 variedades de laranja doce	110
5 Fotos de frutos de variedades e clones estudados na presente pesquisa, realizadas em 1995 e 1996	115
6 Ilustração esquemática dos zimogramas dos sistemas PRX, ACP, GOT, EST (parcial) e MDH para a variedade Pêra de Abril e híbridos da mesma, obtidos por polinização aberta no banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC. Lab. de Genética Ecológica, ESALQ/USP, dez.1996	130
7 Dendrograma obtido para a laranjeira 'Pêra de Abril' e 27 "seedlings" de progênie obtida desta variedade por polinização aberta no banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC. A análise de agrupamento usou dados padronizados da relação comprimento de folha/ largura de folha, relação comprimento do pecíolo/ largura do pecíolo, comprimento de folha/ comprimento do pecíolo, largura de folha/ largura de pecíolo e presença do caracter trifoliado, pela distância Euclidiana (UPGMA)	131

- 8 Dendrograma de similaridade entre a variedade Pêra de Abril e híbridos da mesma, obtidos por polinização aberta, avaliados pelo estudo de isoenzimas em folhas de “seedlings”. A matriz de similaridade foi realizada pelo coeficiente de Jaccard e método de agrupamento foi o UPGMA 132

- 9 Avaliação da poliembrião (1995 e 1996): semente (a), germinação em substrato (CCSM/IAC) (b), em areia (c) e *in vitro* na Radiogenética (CENA/USP) (d). “Seedlings” zigóticos da variedade Pêra de Abril (monoembriônica) germinados em substrato (e), em out. 1996 (CCSM/IAC), e polimorfismo de folhas destes híbridos (f) e pelos sistemas PRX (g) e MDH (h) de isoenzimas (Lab. Gen. Ecol., ESALQ/USP, dez. 1996). Avaliação da viabilidade do pólen na Radiogenética (CENA/USP), abr. 1996, grãos de pólen viáveis da variedade Natal (i) e viáveis e dois inviáveis na variedade Lanceta Barão (j), aumento (40x). Polinização (CCSM/IAC): Tangelo Minneola (k), Citrange Troyer (l), polinização protegida (m), polinização livre (n) (nov.1995), germinação *in vitro* das sementes obtidas (1996 - 1997) Radiogenética (CENA/USP) 133

- 10 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA, para altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas estimado/ m² e produção média de 1984 a 1991, avaliados em onze clones de laranja ‘Pêra’ e seis outras variedades 153’

- 11 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha, número de glândulas de óleo no ápice, na porção mediana e na base da folha em área de 9,6 mm², comprimento do pecíolo e relação do comprimento do pecíolo/ largura da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pecíolo, avaliados em onze clones de laranja ‘Pêra’ e seis variedades semelhantes 156’

- 12 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram comprimento do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da antera até o estigma e do percentual de pólen viável, avaliados em onze clones de laranja ‘Pêra’ e seis variedades semelhantes 160

- 13 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA, para diâmetro do pedúnculo e do “umbigo” ou da cicatriz estilar, da altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm² de epicarpo, espessura do flavedo ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes

- por fruto, comprimento e largura de semente, avaliados em onze clones de laranja 'Pêra' e seis variedades semelhantes 164'
- 14 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Foram considerados 47 caracteres avaliados quantitativamente, envolvendo planta, folha, flor e fruto, em onze clones de laranja 'Pêra' e seis variedades semelhantes 171
- 15 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas e de frutos estimados/ m², em 44 variedades de laranja doce 176'
- 16 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha, número de glândulas de óleo no ápice, na porção mediana e na base da folha em área de 9,6 mm², comprimento do pecíolo e relação do comprimento do pecíolo/ largura da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pecíolo, avaliados em 44 variedades de laranja doce 181
- 17 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram comprimento do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da antera até o estigma e do percentual de pólen viável, avaliados em 44 variedades de laranja doce 185
- 18 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram diâmetro do pedúnculo e do "umbigo" ou da cicatriz estilar, da altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm² de epicarpo, espessura do flavedo ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes por fruto, comprimento e largura de semente, avaliados em 44 variedades de laranja doce 191
- 19 Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Foram considerados 47 caracteres avaliados quantitativamente, envolvendo planta, folha, flor e fruto, em 44 variedades de laranja doce 197

- 20 Fotos ilustrativas do polimorfismo morfológico em laranja doce (1995 a 1997): árvores das variedades Lanceta Barão (a), Pêra (b), Cipó (c); folhas das variedades Lima (d), Baiana Retiro (e), Cametá (f), Diva (g), Lanceta Barão (h) e Imperial (i); flores da variedade Lima (j); e frutos das variedades Cametá (k), Seleta Branca (l), Imperial (m), Sangüínea de mombuca (n), Blood Oval (o) e Pêra Comprida (p) 202
- 21 Ilustração esquemática dos zimogramas dos sistemas PRX, ACP, GOT, EST (parcial) e MDH, para cotilédones de 14 variedades de laranja doce. Lab. de Genética Ecológica, ESALQ/USP, dez.1996 205
- 22 Ilustração esquemática dos zimogramas dos sistemas PRX, ACP e MDH, para folhas adultas jovens de 44 variedades de laranja doce. Lab. de Gen. Ecol., ESALQ/USP, fev.1997 206
- 23 Dendrograma de similaridade para 14 variedades de laranja doce avaliadas através do estudo de isoenzimas em cotilédones. A matriz de similaridade foi realizada pelo coeficiente de Jaccard e método de agrupamento foi o UPGMA 208
- 24 Dendrograma de similaridade para 44 variedades de laranja doce avaliadas pelo estudo de isoenzimas em folhas adultas jovens, utilizando-se o coeficiente de Jaccard e método de agrupamento UPGMA 211
- 25 Dendrograma de similaridade para 12 variedades representativas da espécie de laranja doce, avaliadas pelo uso de 13 “primers” em estudo de RAPD, utilizando-se o coeficiente de Jaccard e método de agrupamento UPGMA 218
- 26 Dendrograma de distância Euclidiana entre 12 variedades representativas da espécie de laranja doce, avaliadas pelo polimorfismo morfológico de planta, folha, flor e fruto pelo método UPGMA 218
- 27 Fotos ilustrativas de zimogramas obtidos para cotilédones e folhas adultas jovens de variedades de laranja doce pelos sistemas PRX (a, b), MDH (c, d) e ACP (e, f), respectivamente, no Lab. de Gen. Ecol., ESALQ/USP, 1996-1997. Maceração de folha e extração de DNA (g, h), centrifuga utilizada (i), termocicladores (j a m) e cuba (n) utilizados no estudo de RAPD no Lab. de Biotec. do CCSM/IAC, 1995-1997. Baixo polimorfismo observado entre 12 variedades de laranja doce no estudo de RAPD representado pelos “primers” OPC-11 (o) e OPC16 (p), as setas indicam variedades que se mostraram distintas 218’

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Países que abrigam coleções de citros, número de Institutos e forma de manutenção . .	21
2 Principais grupos de introduções (Seção, espécie, variedade) constituintes do banco de germoplasma de citros do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, localizado em Cordeirópolis, SP., e número de acessos dentro de cada grupo	25
3 Variedades de <i>Citrus</i> e seus prováveis mutantes espontâneos	36
4 Características que podem ser alteradas nas variedades de <i>Citrus</i> através de mutações somáticas espontâneas ou induzidas e alguns exemplos	36
5 Valores médios obtidos para peso, altura, largura e número de frutos por caixa, rendimento de suco, quantidade de sólidos solúveis por caixa e em °Brix, acidez e “ratio”. Caracteres de valor agrônômico avaliados para frutos em estágio de maturação de 11 clones de laranja ‘Pêra’ e 6 outras variedades enxertados em limoeiro ‘Cravo’ de 1995 a 1997 (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP)	88
6 Correlação produto-momento de Pearson média, para percentual de acidez, sólidos solúveis (°Brix), “ratio”, peso, altura e largura de fruto, relação altura/ largura de fruto, rendimento de suco, quantidade de sólidos solúveis/ caixa e número de frutos/ caixa de 40,8 kg, avaliados em 11 clones de laranja ‘Pêra’ e seis variedades assemelhadas à ‘Pêra’, de 1995 a 1997	91
7 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição de cada caracter de qualidade de fruto na explicação da variância de cada componente obtido para 11 clones de laranja ‘Pêra’ e seis variedades assemelhadas à ‘Pêra’, de 1995 a 1997	92
8 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) no suco de frutos de 11 clones de laranja ‘Pêra’ e seis variedades assemelhadas à ‘Pêra’, de 1995 a 1997, para a explicação da variância de cada componente	95
9 Valores médios, mínimos e máximos de peso, altura e largura de fruto, altura/ largura de fruto, número de frutos por caixa de 40,8 kg, rendimento de suco no fruto, quantidade de sólidos solúveis por caixa e em °Brix, percentual de acidez e “ratio”	

adotados para a laranja ‘Pêra’ “ideal”, considerada como de índice 10, e os índices obtidos para 11 clones de laranja ‘Pera’ e seis outras variedades assemelhadas, quando comparados aos valores adotados como ideais	99
10 Valores médios obtidos para peso, altura, largura, relação altura/largura e número de frutos por caixa, rendimento de suco, quantidade de sólidos solúveis por caixa e em °Brix, acidez e “ratio”. Caracteres de valor agrônômico avaliados para frutos em estágio de maturação de 44 genótipos de laranja doce enxertados sobre tangerineira Clóopatra de 1995 a 1997 (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP)	102
11 Correlação produto-momento de Pearson, para percentual de acidez, sólidos solúveis (°Brix), “ratio”, peso, altura e largura de fruto, relação altura/ largura de fruto, rendimento de suco, quantidade de sólidos solúveis/ caixa e número de frutos/ caixa de 40,8 kg, avaliados para 44 variedades de laranja doce, de 1995 a 1997	104
12 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição de cada caracter de qualidade de fruto avaliado para 44 variedades de laranja doce, de 1995 a 1997, para a explicação da variância de cada componente	105
13 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) no suco de frutos de 44 variedades de laranja doce, de 1995 a 1997, para a explicação da variância de cada componente	109
14 Valores médios, mínimos e máximos de peso, altura e largura de fruto, altura/ largura de fruto, número de frutos por caixa de 40,8 kg, rendimento de suco, quantidade de sólidos solúveis/ caixa e em °Brix, percentual de acidez e “ratio” adotados para frutos “ideais” de laranja doce, considerada como de índice 10; e os índices obtidos para laranjas de 44 variedades, quando comparadas à ideal	114
15 Peso de 30 sementes e valores médios referentes ao número de sementes por fruto, número de embriões observados por semente e taxa de poliembriõnia correspondente, percentual de germinação das sementes em telado (CCSM/IAC), número médio de embriões por semente germinada e taxa de poliembriõnia correspondente, para 11 clones da variedade Pêra e 6 variedades assemelhadas	116
16 Correlação produto-momento de Pearson, para número e peso de semente, número de embriões e percentual de poliembriõnia na semente, percentual de germinação, número de embriões e percentual de poliembriõnia em semente germinada, em telado, para 11 clones da variedade Pêra e 6 variedades assemelhadas	117
17 Número médio de sementes, pêsos de 30 sementes, número médio de embriões observados por semente, percentual de poliembriõnia na semente, percentual de germinação de sementes em telado e <i>in vitro</i> , número de embriões germinados por semente em telado e <i>in vitro</i> e respectivos percentuais de poliembriõnia para 44 variedades de laranjas doces	122

- 18 Correlação produto-momento de Pearson, para número e peso de semente, número de embriões e percentual de poliembrião na semente, percentual de germinação, número de embriões e percentual de poliembrião em semente germinada, em telado, para 44 variedades de laranja doce 123
- 19 Altura da planta, comprimento e largura de folha, relação comprimento de folha/largura de folha, comprimento e largura de pecíolo, relação comprimento do pecíolo/largura do pecíolo, comprimento de folha/ comprimento do pecíolo, largura de folha/largura de pecíolo, presença do caracter trifoliado e de espinhos, e número de brotos, observados para a laranjeira 'Pêra de Abril' e plantas da progênie obtida desta variedade por polinização aberta no banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC .. 128
- 20 Matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard, para a variedade Pêra de Abril e indivíduos morfologicamente semelhantes de sua progênie (A a F) pela utilização de 5 sistemas isoenzimáticos. Avaliação da terceira folha da base para o ápice dos híbridos 131
- 21 Número de grãos de pólen viáveis e não viáveis contados e respectivos percentuais, e produção média de 1984 a 1988, para onze clones de laranja 'Pêra' e cinco outras variedades com características morfológicas semelhantes à laranja 'Pêra' 135
- 22 Correlação produto-momento de Pearson, para número de grãos de pólen viáveis e percentual, não viáveis e percentual, produção média de 1984 a 1988, número e peso de sementes, número de embriões e percentual de poliembrião na semente para onze clones de laranja 'Pêra' e variedades semelhantes à 'Pêra' 137
- 23 Número de grãos de pólen viáveis e não viáveis contados e respectivos percentuais, avaliados para 44 variedades de laranja doce no Laboratório de Radiogenética, CENA/USP 140
- 24 Correlação produto-momento de Pearson, para número de grãos de pólen viáveis e percentual, não viáveis e percentual, número de frutos estimados/ m², número e peso de sementes, número de embriões e percentual de poliembrião na semente para 44 variedades de laranja doce 142
- 25 Percentual de prendimento de frutos em 34 variedades de laranja-doce. Os números 1 a 5 representam os tratamentos utilizados, sendo: 1-polinização aberta, 2-flores emasculadas e protegidas, 3-auto-polinizadas e protegidas, 4-cruzamento com o tangelo Minneola e 5-cruzamento com o citrange Troyer. E número de sementes/plântulas germinadas *in vitro*, originados dos tratamentos 4 e 5. Posição relativa das anteras em relação ao estigma², distância das anteras ao estigma, comprimento do pistilo e percentual de pólen viável (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP) 145
- 26 Correlação produto-momento de Pearson, para percentual de prendimento de frutos em 34 variedades de laranja doce sob polinização aberta, flores emasculadas e protegidas, auto-polinizadas e protegidas, cruzamento com o tangelo Minneola, cruzamento com o

- citrange Troyer, com número de sementes originadas do cruzamento com o tangelo Minneola, número de sementes originadas do cruzamento com o citrange Troyer, posição relativa das anteras em relação ao estigma, distância das anteras ao estigma, percentual de pólen viável, número de sementes por fruto, número de embriões/semente, percentual de poliembrião na semente e comprimento do pistilo 151
- 27 Valores médios obtidos para a altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas estimado/ m² para onze clones de laranja 'Pêra' e seis outras variedades com características morfológicas semelhantes à mesma, avaliados de junho a julho de 1995. E dados de produção média de 1984 a 1991 e de percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) médios (CCSM, IAC) 153
- 28 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição de altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas estimado/ m² e produção média de 1984 a 1991 para a explicação da variância de cada componente para onze clones de laranja 'Pêra' e seis outras variedades com características morfológicas semelhantes à mesma 154
- 29 Valores avaliados qualitativamente obtidos para ciclo vegetativo, tipo, cor, formato (form) e margem da folha (mar), formato do ápice (fa) e da base da folha (fb), tipo de pecíolo (tp) e tipo e formato da asa do pecíolo (explicados no texto), e valores médios obtidos para o comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha (incluindo o pecíolo), número de glândulas de óleo no ápice, na porção mediana e na base da folha em área de 9,6 mm², comprimento do pecíolo e relação do comprimento do pecíolo/comprimento da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pecíolo, para onze clones de laranja 'Pêra' e seis outras variedades com características morfológicas semelhantes à laranja 'Pêra', avaliados de março a abril de 1995. E dados médios de acidez e sólidos solúveis (°Brix) do suco, medidos de junho a dezembro de 1995, no CCSM/ IAC, Cordeirópolis, SP 155'
- 30 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha, número de glândulas de óleo no ápice, na porção mediana e na base da folha em área de 9,6 mm², comprimento do pecíolo e relação do comprimento do pecíolo/ largura da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pecíolo, para a explicação da variância de cada componente, para onze clones de laranja 'Pêra' e seis variedades semelhantes à mesma 156
- 31 Valores avaliados qualitativamente para o arranjo, posição e tipo de inflorescência, cor dos botões e das flores abertas, posição das anteras em relação ao estigma, estágio de floração, número de sépalas e de pétalas (explicados no texto), e valores médios obtidos para o comprimento do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da

antera até o estigma e o percentual de pólen viável para onze clones de laranja 'Pêra' e cinco outras variedades semelhantes à 'Pêra'. Florada de setembro de 1995 (CCSM/IAC)	158
32 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do comprimento do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da antera até o estigma e do percentual de pólen viável para a explicação da variância de cada componente em onze clones de laranja 'Pêra' e cinco outras variedades semelhantes à 'Pêra'	159
33 Valores avaliados qualitativamente para: formato do fruto (ff), formato do ápice (fa) e da base do fruto (fb), cor da casca ou epicarpo, cor da polpa, formato da columela ou axis (fc), formato e cor das sementes (f) e (c), cor do tegmen (t) e do cotilédone (cc) (explicados no texto), e valores médios obtidos para os caracteres avaliados quantitativamente: espessura do pedúnculo, diâmetro do umbigo ou da cicatriz estilar, altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm ² de epicarpo, espessura do flavedo ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes por fruto, comprimento e largura de semente para onze clones de laranja e seis outras variedades. Avaliação de frutos em julho de 1995 (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP)	162
34 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do diâmetro do pedúnculo e do umbigo ou da cicatriz estilar, da altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm ² de epicarpo, espessura do flavedo ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes por fruto, comprimento e largura de semente, para a explicação da variância de cada componente em onze clones de laranja e seis variedades assemelhadas à 'Pêra'	164
35 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente, valores acumulados, e a contribuição de cada um dos 47 caracteres avaliados para a explicação da variância de cada componente em 11 clones de laranja 'Pêra' e 6 variedades assemelhadas	169
36 Correlação produto-momento de Pearson para 47 caracteres de planta, folha, flor e fruto de onze clones de laranja 'Pêra' e seis variedades com características morfológicas semelhantes à mesma	172 173
37 Valores médios obtidos para os caracteres medidos quantitativamente: altura de planta; altura, largura e volume de copa; circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia; acidez e °Brix do suco, avaliados de 30/05 a 25/08, e número de folhas est./ m ² ; número de frutos adultos, jovens e total estimados/ m ² para 44 variedades de laranjas doces, avaliadas de jun. a jul.de 1995 (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP)	176

- 38 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição de altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas e de frutos estimados/ m² para a explicação da variância de cada componente em 44 acessos de laranja doce 177
- 39 Valores qualitativos obtidos para ciclo vegetativo, tipo, cor, formato, margem, formato do ápice e da base da folha; tipo de pecíolo; tipo e formato da asa do pecíolo (explicados no texto), e valores médios obtidos para o comprimento e largura da lâmina foliar; comprimento da folha; número de glândulas de óleo no ápice, meio e base da lâmina foliar/ 9,6 mm²; comprimento do pecíolo e relação pecíolo/ lâmina foliar e comprimento e largura da asa do pecíolo para 44 variedades de laranjas doces no mês de abril de 1995 (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP) 179
- 40 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha, número de glândulas de óleo no ápice, na porção mediana e na base da folha em área de 9,6 mm², comprimento do pecíolo e relação do comprimento do pecíolo/ largura da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pecíolo, para a explicação da variância de cada componente, para 44 variedades de laranja doce 180
- 41 Valores qualitativos obtidos para o arranjo, posição e tipo de inflorescência; cor dos botões e das flores abertas; posição das anteras em relação ao estigma; estágio de floração; número de sépalas e de pétalas (explicados no texto), e valores médios obtidos para o comprimento do pedicelo; comprimento e largura do botão floral e da pétala; número e comprimento de estames; comprimento do gineceu; posição das anteras em relação ao estigma; distância da antera até o estigma e o percentual de pólen viável para 44 variedades de laranjas doces em setembro de 1995 (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP) 183
- 42 Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do comprimento do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da antera até o estigma e do percentual de pólen viável para a explicação da variância de cada componente para 44 variedades de laranja doce 186
- 43 Valores obtidos para caracteres medidos qualitativamente: formato de fruto (ff), de ápice (fa) e da base do fruto (fb); cor do epicarpo e da polpa; formato da columela ou axis (fc); formato e cor das sementes (f) e (c); cor do tegmen (t) e do cotilédone (cc) (explicados no texto), e valores médios obtidos para os caracteres medidos quantitativamente: diâmetro do pedúnculo e de 'umbigo'; altura, largura e peso de fruto; número de glândulas de óleo/ 10 mm e por 9,6 mm² de casca; espessuras flavedo, albedo, endocarpo e columela; número de gomos e de sementes/ fruto; comprimento e largura de semente para 44 variedades de laranjas doces avaliadas em junho-julho de 1995 e 1997 e acidez e sólidos solúveis (°Brix) de junho a dezembro 187

44	Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do diâmetro do pedúnculo e do umbigo ou da cicatriz estilar, da altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm ² de epicarpo, espessura do flavedo ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes por fruto, comprimento e largura de semente, para a explicação da variância de cada componente em 44 variedades de laranja doce	190
45	Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente, valores acumulados, e a contribuição dos 47 caracteres avaliados para a explicação da variância de cada componente em 44 acessos de laranja doce do banco de germoplasma do CCSM/IAC	195
46	Correlação produto-momento de Pearson para 47 caracteres de planta, folha, flor e fruto de 44 variedades de laranja doce do banco de germoplasma de citros do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis, SP.	199 200
47	Matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard, para o polimorfismo encontrado entre 14 variedades de laranja doce usando sistemas isoenzimáticos em cotilédones	208
48	Matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard, para o polimorfismo encontrado entre 44 variedades de laranja doce usando sistemas isoenzimáticos em folhas adultas jovens	210
49	Bandas polimórficas encontradas e respectivos pesos moleculares para os “primers” de RAPD testados em 12 variedades de laranja doce no Laboratório de Biotecnologia do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC	214
50	Nomes e sequências dos “primers” de RAPD que apresentaram polimorfismo para 12 variedades de laranjas doces e o total de bandas de maior visibilidade e destas as que se apresentaram monomórficas e polimórficas	215
51	Matriz de similaridade obtida para o polimorfismo encontrado entre doze variedades de laranja doce através da utilização de 13 “primers” de RAPD	215
52	Matriz de distâncias Euclidianas obtida para o polimorfismo morfológico entre doze variedades de laranjas doces através de 47 caracteres avaliados quantitativamente	215

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP	fosfatase ácida
ADH	álcool desidrogenase
BAG	banco ativo de germoplasma
CN	clone novo, híbrido ou clone nucelar ainda não propagado por enxertia por mais de 3 ciclos vegetativos.
CV	clone velho, híbrido ou clone nucelar propagado por enxertia por mais de 3 ciclos vegetativos
CVC	clorose variegada dos citros
CCSM	Centro de Citricultura Sylvio Moreira
Citros	refere-se a todos os genótipos dos gêneros <i>Citrus</i> , <i>Poncirus</i> , <i>Fortunella</i> , e outros gêneros próximos de <i>Citrus</i>
<i>Citrus</i>	gênero que engloba a maioria das espécies produtoras de frutos comestíveis de citros
CTAB	cationic hexadecyl trimethyl ammonium bromide
EDTA	ethyleno diamino tetra-acetato
EST	esterase
GOT	glutamato-oxaloacetato transaminase
IAC	Instituto Agrônômico
IBPGR	International Board for Plant Genetic Resources
IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute
MDH	malato desidrogenase
NTSYS	Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System
PCR	polymerase chain reaction
PRX	peroxidase
RAPD	random amplified polymorphic DNA
“Ratio”	percentual de acidez / sólidos solúveis (°Brix)
R _f	mobilidade relativa
RFLP	restriction fragment length polymorphism
SS	sólidos solúveis
UPGMA	unweighted pair group method of arithmetic average

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, AGRONÔMICA,
ISOENZIMÁTICA E POR RAPD DE VARIEDADES DE
LARANJA DOCE - *Citrus sinensis* (L.) Osbeck**

Autor: EDSON TOBIAS DOMINGUES

Orientador: Prof. Dr. AUGUSTO TULMANN NETO

RESUMO

A espécie de laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, é a que apresenta maior importância comercial em *Citrus*, no Brasil e no mundo; no entanto, poucas são as cultivares desta espécie empregadas nos pomares nacionais, o que aumenta o risco de possíveis colapsos na citricultura. Pouco têm se utilizado dos bancos de germoplasma no sentido de se ampliar a base genética em laranja doce; e a caracterização dos acessos existentes é fundamental neste sentido. O presente trabalho objetivou caracterizar 61 acessos de laranja doce existentes no banco de germoplasma de *Citrus* do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, sendo 11 clones da variedade ‘Pêra’ e 6 outras variedades assemelhadas à ‘Pêra’, e 44 variedades representativas dos principais grupos (laranjas de baixa e elevada acidez, de “umbigo” e sangüíneas). Foram avaliados qualidade do fruto e período de maturação, pelo estudo da morfologia do fruto e pelas curvas de maturação de junho a dezembro, de 1995 a 1997. A intensidade de poliembrião nas sementes e pela germinação em casa de vegetação e *in vitro*, e a viabilidade de pólen foram avaliadas. O sistema reprodutivo predominante foi avaliado pela análise da fixação de fruto após cruzamentos controlados, auto-polinização, polinização livre e ausência de polinização. O polimorfismo morfológico e agrônômico, observado

através de 29 dados qualitativos e 47 quantitativos foi comparado ao polimorfismo isoenzimático e de RAPD. O percentual de poliembrião observado nas sementes foi maior que nas sementes germinadas *in vitro*, que por sua vez, foi superior a das germinadas em casa de vegetação. A variedade ‘Pêra’ de Abril mostrou ser monoembriônica, as demais apresentaram de média a elevada poliembrião. O percentual de pólen viável variou de 12% a 88%, dependendo da variedade. As principais cultivares da citricultura paulista e nacional, ‘Pêra’, ‘Valência’ e ‘Natal’, apresentaram baixos percentuais de pólen viável e as variedades de laranja de “umbigo” não apresentaram pólen. As variedades fixaram mais frutos quando apresentavam flores com estigmas mais expostos, sob polinização aberta ou cruzada, indicando a predominância de alogamia na espécie. As análises uni e multivariadas demonstraram a grande variabilidade fenotípica para os caracteres avaliados. Pela análise dos componentes principais foram conhecidos os caracteres responsáveis pela maioria da variância constatada e a análise de agrupamentos ordenou coerentemente os genótipos, agrupando, muitas vezes lado a lado, mutantes somáticos de origem reconhecidamente comum. A análise de isoenzimas e RAPD detectaram baixa variabilidade intra-específica, originando geralmente bandas monomórficas. O elevado polimorfismo morfológico e agrônômico confrontado com o baixo polimorfismo isoenzimático e molecular, constituem evidência da predominância das mutações somáticas como principal fonte de variabilidade intra-específica em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.

**MORPHOLOGICAL, AGRONOMICAL,
ISOENZYMATIC AND BY RAPD CHARACTERIZATION OF
SWEET ORANGE VARIETIES - *Citrus sinensis* (L.) Osbeck**

Author: EDSON TOBIAS DOMINGUES

Adviser: Prof. Dr. AUGUSTO TULMANN NETO

SUMMARY

The sweet orange species, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, is the one that has the highest commercial importance in *Citrus*, in Brazil and in the world; nevertheless, few cultivars are employed in brazilian orchards and, little of the germplasm collections has been utilized to amplify genetical basis in this crop, which could avoid possible collapses in national production. Characterization of these accessions is important in this way. The present work aimed to characterize 61 sweet orange accessions of germplasm collection at “Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC”, 11 of them are ‘Pêra’ clones and 6 other are similar varieties, and 44 genotypes representing the main groups of sweet orange (with high acidity, low acidity, navel and blood fruits). Evaluations of fruit quality and harvesting period, by fruit morphology and ripening curves were carried out fortnightly, from June through December from 1995 to 1997. Intensity of polyembryony in seeds and by germination in the greenhouse and *in vitro*, and pollen fertility was verified. The reproductive system predominant in sweet orange was evaluated by fruit set analysis after self crossing, free and absent pollination. Morphological and agronomical polymorphism, observed by 29 qualitative and 47 quantitative data, were compared with polymorphism of isozymes and RAPD. The tax of polyembryony in seeds was

greater than that observed after seed germination *in vitro*, and this, greater than those germinated in the greenhouse. The 'Pêra' de Abril variety showed to be monoembryonic, the others presented from medium to high polyembryony. Viable pollen varied from 12% to 88%, depending on the variety. Brazilian main sweet orange cultivars, 'Pêra', 'Valência' and 'Natal', presented low viable pollen percentage. Navel oranges did not present pollen. Fruit settings were greater in those varieties that presented more evident stigmas and, after cross and free pollination, indicating the predominance of alogamy in this species. Univariate and multivariate analysis evidenced big phenotypical variability by evaluated characters. By principal component analysis characters responsible for the most part of variance were recognized and, by cluster analysis genotypes were consistently ordained, grouping, side by side, somatic mutants of recognized common origin. Molecular evaluations by isozymes and RAPD detected low intra-specific variability, originating generally, monomorphic bands. The elevated morphological and agronomical polymorphism compared with the low isoenzymatic and molecular polymorphism detected constitute evidence of predominance of somatic mutation as the main source of intra-specific variability in *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, com 14,9 milhões de toneladas/ano no período de 1990 a 1996 (cerca de 25% do total mundial). O Estado de São Paulo foi responsável naquele período por 83% do total produzido no país, com 12,4 milhões de toneladas; explorando comercialmente as cultivares ‘Pêra’ (47%), ‘Natal’ (26%), ‘Valência’ (14%) e ‘Hamlin’ (5%), entre outras (7%) (FAO, 1996; Amaro & Maia, 1997). Do total produzido no país, 10,3 milhões de toneladas são destinadas ao processamento (em torno de 50% do total mundial) e 1,2 milhões de toneladas exportado como suco concentrado congelado (aproximadamente 55% do total mundial) (FAO, 1994). A exportação de laranja *in natura* ainda é inexpressiva, mas a importância nacional na produção e exportação de suco de laranja é incontestável. No Estado de São Paulo, além das variedades citadas para o processamento, destacam-se as variedades Pêra, Lima e Bahia para o mercado interno de frutas frescas. A variedade Pêra é a de maior destaque, responsável por 85% do total comercializado em dezembro e em torno de 64% em junho-julho, meses em que as variedades Lima e Bahia atingem 23,18% e 14,34% do total consumido, respectivamente (Gonçalves & Souza, 1994).

Destes dados depreende-se que o número de cultivares de laranja doce é bastante restrito, apesar da importância da citricultura nacional e paulista. A estreita base genética dos pomares de laranja, podem resultar em sérios prejuízos no caso de ocorrência de fatores limitantes, bióticos ou abióticos, à sobrevivência das combinações de variedades, copa/porta-enxerto, atualmente empregadas nos pomares (Passos et al. 1997).

Os principais problemas encontrados para a produção atual e futura de citros no país são doenças, como o declínio, tristeza, leprose, cancro cítrico e clorose

variegada dos citros, que é a mais recente a trazer preocupação (Domingues, 1997); e pragas, como os ácaros da ferrugem e leprose, cochoninhas, coleópteros, bicho furão, além da mais recente praga no país, a lagarta de mariposa, minadora dos citros. A elevação da produtividade, melhoria da qualidade dos frutos e redução do número de sementes por fruto e do período de entressafra são outros aspectos visados para o melhoramento de variedades copa. Para os porta-enxertos buscam-se variedades que sejam resistentes à tristeza, declínio, gomose e a pragas como as cochonilhas, nematóides e as brocas, além de melhor compatibilidade com as principais variedades copa e, se possível, que permitam a redução do porte dessas copas, o que facilitaria o manejo, a colheita e o plantio mais adensado. Desta maneira, existem diversos trabalhos buscando a obtenção de novos cultivares para ampliar a base genética e se evitar possíveis colapsos da citricultura, dos quais, os trabalhos de Passos et al. (1997), Teófilo Sobrinho et al. (1992), Zubrzycki et al. (1977), constituem exemplos.

A maioria dos problemas citados certamente encontraria solução eficaz por meio do cultivo adequado dos atuais cultivares somados a novos, a serem obtidos por meio de cruzamentos orientados. Muito pouco, no entanto, tem sido estudado dos aspectos morfológicos e genéticos, básicos para o melhoramento, nos diferentes acessos nos bancos de germoplasma de citros; os quais, normalmente possuem 9 pares de cromossomos, e por um número de razões, pouco se sabe do efeito individual dos genes desses cromossomos. Cada árvore ocupa considerável espaço e usualmente requer diversos anos da semente à frutificação. Os híbridos zigóticos de qualquer cruzamento são amplamente variáveis, e aqueles originados de autofecundações são geralmente fracos ou estéreis, dificultando a análise genética (Cameron & Frost, 1968). A embrionia nucelar é uma das principais limitações para os programas de melhoramento via hibridação sexual desta espécie perene, juntamente com os longos períodos juvenis e ciclos reprodutivos, uma vez que dificultam o reconhecimento de possíveis híbridos. Os embriões nucleares de laranja doce são normalmente mais vigorosos e competem com os zigóticos, não sendo

citados casos de monoembrionia nessa espécie, o que seria de grande interesse para programas de hibridação sexual (Frost & Soost, 1968; Chapot, 1975; Prates, 1977).

A espécie de laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, foi citada como sendo autógama por Allard (1971), no entanto, diferentes indícios levam a crer que a alogamia é predominante nesta cultura. A maioria dos híbridos de valor comercial originados de laranja doce são interespecíficos. Somente de 0,2 a 5% dos botões florais se desenvolvem em frutos maduros nos plantios clonais, dependendo da variedade (Erickson, 1968). A morfologia floral em *Citrus* favorece a polinização cruzada natural, principalmente por abelhas, existem, ainda, fatores que previnem a auto-fecundação, como a diferença de comprimento do pistilo e estames e casos de protandria (Frost & Soost, 1968). Evidências claras da auto-fecundação são difíceis de serem obtidas devido as variedades serem poliembriônicas e, as vezes, auto-incompatíveis. Diferentes relatos têm indicado depressão por endogamia em diferentes cruzamentos intra-específicos envolvendo laranja doce, já em híbridos interespecíficos (tangor Temple) foi observado que a auto-fecundação originou plântulas vigorosas (Cameron & Frost, 1968).

O significado da polinização para a produção difere grandemente entre as variedades. Os principais fatores dizem respeito à quantidade de pólen funcional, facilidades para a polinização, importância do pólen para a geração de embrião zigótico e/ou para o desenvolvimento dos embriões nucelares, e a habilidade de algumas variedades em produzir frutos sem sementes (partenocárpicos) com ou sem polinização (Frost & Soost, 1968). A fertilidade do pólen, todavia, é condição preliminar indispensável ao melhoramento genético e é um importante passo no estudo da citada auto-incompatibilidade presente na espécie de laranja doce (Soost & Cameron, 1975), bem como dos fatores que levam à esterilidade do pólen.

Para a execução de programas de melhoramento há necessidade de se conhecer a variabilidade genética disponível, sendo indispensáveis os estudos morfológicos, agrônômicos, genéticos e moleculares das variedades existentes, os quais podem auxiliar no direcionamento dos programas de melhoramento. O Brasil

situa-se, hoje, entre os países com maior variabilidade genética disponível para a pesquisa agrícola e correlata em *Citrus*, mas o uso dessa variabilidade é incipiente. O banco ativo de germoplasma de citros do Centro de Citricultura Sylvio Moreira do Instituto Agrônômico apresenta em torno de 1750 acessos de *Citrus* e espécies correlatas; em torno de 640 acessos apenas de laranja doce e híbridos e, destes, em torno de 70 acessos de laranja Pêra e variedades assemelhadas (Domingues et al., 1995b e 1998b).

Segundo Valls (1988), a falta de informação adequada sobre a variabilidade disponível é uma das principais causas do uso limitado de acessos mantidos em bancos de germoplasma. Para frutíferas arbóreas que, como as laranjeiras, são propagadas vegetativamente, um pequeno número de indivíduos é suficiente para representar o genótipo de um acesso, sendo utilizados entre 3 a 10 plantas por acesso (Ferreira, 1988). Apesar da importância da caracterização morfológica dos cultivares de laranja para o melhoramento da espécie, poucos trabalhos trataram deste assunto no Brasil, podendo ser destacado o de Donadio et al. (1995).

A caracterização pelo uso de isoenzimas e RAPD poderia auxiliar no reconhecimento dos cultivares e variedades existentes dentro desta espécie, mesmo em estádios onde não se dispõe de frutos, como no caso de plântulas, auxiliando na seleção precoce de híbridos ou clones e no direcionamento dos trabalhos de melhoramento genético envolvendo estes possíveis parentais. Poucos autores, entretanto, têm detectado algum polimorfismo entre variedades de laranja doce usando estas técnicas, destes, Torres et al. (1982) e Vilarinhos et al. (1996), são exemplos.

A presente pesquisa (projetos: SAA/IAC 11-007/96 e 11-027/97), foi realizada no Centro de Citricultura Sylvio Moreira (CCSM) do Instituto Agrônômico (IAC), Laboratório de Biotecnologia do CCSM/IAC, Laboratório de Radiogenética do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) e Laboratório de Genética Ecológica do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de

Queiroz” (ESALQ/USP). Foram avaliados 61 acessos do banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC, distribuídos em dois experimentos distintos. O primeiro é composto de 11 clones de laranja ‘Pêra’ e seis variedades assemelhadas a esta, os quais apresentam menor polimorfismo morfológico entre si e, o segundo, mais polimórfico, composto de 44 genótipos representativos dos principais grupos de laranja doce (laranja de elevada acidez, baixa acidez; com “umbigo” e sangüínea).

Os principais objetivos dos diferentes trabalhos que compõem esta pesquisa foram: revisar e discutir os principais aspectos da sistemática, a importância dos bancos de germoplasma e das mutações somáticas no melhoramento de citros; avaliar a qualidade de fruto utilizando análise dos componentes principais e de agrupamentos em caracteres morfológicos e do suco, e verificar o período de maturação pelas curvas de percentual de acidez, sólidos solúveis (°Brix) e “ratio”, de junho a dezembro, de 1995 a 1997; estudar a intensidade da poliembrião e verificar a possível existência de variedades monoembriônicas; indicar aqueles com melhor viabilidade de pólen que possam ser utilizados como parentais masculinos em programas futuros de melhoramento genético e discutir a possível correlação entre a fertilidade dos gametas masculinos com os gametas femininos; realizar polinização controlada utilizando como doadores de pólen, o tangelo Minneola e o citrange Troyer, avaliando a fixação de frutos nas variedades de laranja doce e correlacionar os resultados com a morfologia floral e o sistema reprodutivo predominante na espécie; caracterizar planta, folha, flor e frutos usando 79 caracteres morfológicos, avaliar os caracteres de interesse agrônomo e as possíveis correlações entre os mesmos, efetuar a análise dos componentes principais na avaliação da contribuição desses caracteres para a explicação da variância e, agrupar os acessos de acordo com o polimorfismo morfológico encontrado; avaliar o polimorfismo isoenzimático e de RAPD entre os acessos estudados; comparar os polimorfismos detectados pelos caracteres morfológicos e agrônômicos com os polimorfismos isoenzimáticos e moleculares, e relacionar estes resultados com a importância das mutações somáticas na geração da variabilidade intra-específica em laranja doce, *Citrus sinensis* (L.)

Osbeck; levantar dados para programas de melhoramento futuros envolvendo estes genótipos, que visem a redução da excessiva uniformidade genética nos pomares e a redução da vulnerabilidade às doenças e pragas e, finalmente, somar esforços na caracterização de acessos de laranja doce do banco de germoplasma de citros do Centro de Citricultura Sylvio Moreira do Instituto Agronômico, um dos mais importantes do mundo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos da sistemática em *Citrus*¹

A necessidade que o homem possui em classificar os elementos da natureza existe provavelmente desde a sua existência como tal. Esta busca parte da necessidade de se fragmentar o que é dinâmico e contínuo na natureza para facilitar a compreensão do raciocínio humano e por meio disto facilitar seu aprendizado, sua comunicação e expressão. A ciência tem buscado classificar as espécies vegetais de diversas maneiras, agrupando-as de acordo com as suas diferenças morfológicas, ecológicas, de valores agronômicos, de acordo com seus componentes bioquímicos e produtos originados do DNA como as enzimas e proteínas, ou pelo polimorfismo observado na própria sequência de DNA.

A sistemática botânica tem classificado as espécies de acordo com a descontinuidade dos caracteres morfológicos, no entanto, tem surgido para diferentes espécies, devido a diferentes fatores, como: cruzamentos intra e interespecíficos, elevada poliembrionia, frequentes mutações somáticas, entre outros, controvérsias sobre a eficácia dessas classificações. Na taxonomia dos *Citrus* existem diversas controvérsias nas hipóteses propostas. Swingle & Reece (1967), citaram que Tanaka² acreditava existir ao menos 159 espécies, enquanto outros taxonomistas como Swingle (1943) não sugeriu mais que 16 espécies.

Barret & Rhodes (1976) realizaram estudo de similaridade, utilizando 146 caracteres fenotípicos e taxonomia numérica, envolvendo variedades e híbridos

¹ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A. Aspectos da sistemática em *Citrus*. *Laranja*, v.20, 1999. /No prelo/. (Apresentado parcialmente em Seminário no CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP, em 10/11/1995).

² TANAKA, T. Misunderstanding with regard to citrus classification and nomenclature. *Bull. Univ. Osaka*, Pret, Ser. B, v.21, p.139-145, 1969.

das principais espécies de *Citrus*. Após verificarem que morfologicamente os genótipos representantes de *C. medica* L., *C. grandis* Osbeck e *C. reticulata* Blanco se apresentavam mais distantes e que os genótipos representantes das demais espécies do gênero localizavam-se em posições intermediárias, concluíram que apenas aquelas três seriam espécies verdadeiras, sendo provavelmente a origem das “espécies” cultivadas de *Citrus*. As quais teriam se originado como híbridos e se perpetuado apomiticamente. Estas hipóteses e conclusões foram apresentadas também em estudos mais recentes baseados em isoenzimas (Torres et al., 1978); RFLPs (Roose, 1988) e RAPD (Luro et al. 1992). A presente pesquisa traz alguns aspectos da controversa sistemática do gênero *Citrus* e de trabalhos de genética atuais que, utilizando diferentes tipos de marcadores, têm auxiliado na elucidação dos prováveis equívocos ocorridos nessa classificação.

2.1.1 A evolução de conceitos da sistemática e da nomenclatura dos *Citrus*

A diferenciação das espécies do gênero *Citrus* iniciou-se há mais de 20 milhões de anos, quando provavelmente se deu a deriva dos continentes asiáticos com a separação da Austrália da Nova Guiné e Ásia. O gênero *Microcitrus*, parente próximo dos *Citrus*, ocorre tanto no sul da Nova Guiné (1 espécie) como no nordeste da Austrália. Outro gênero, com certo grau de parentesco, *Eremocitrus*, surgiu na Austrália e adquiriu características xerófitas, adaptadas às regiões semi-áridas. Isto, então, leva a supor que a diferenciação das espécies pertencentes ao gênero *Citrus* se deu nas ilhas do sudeste da Ásia, onde foram encontradas espécies selvagens. Em muitas partes do sudeste da Ásia e Arquipélago Indiano é difícil encontrar espécies selvagens de *Citrus*, devido ao grande número de híbridos complexos, combinando não duas, mas três ou quatro espécies em proporções variadas (Swingle & Reece, 1967).

Ainda citados por Swingle & Reece (1967), importantes pesquisadores de citros há quase dois séculos atrás, escreveram diversos trabalhos sobre a cultura,

como: Galesio³, Risso⁴, Loiseleur-Deslongchamps & Michel⁵ e Risso & Poiteau⁶. Em todos estes trabalhos os autores deram nomes em forma de frases constituídas de 3 a 10 palavras em latim na classificação das espécies, as quais não foram incorporadas pelos ‘linneanos’ na taxonomia de *Citrus*.

A botânica sistemática ou taxonomia botânica procura agrupar as espécies com base na sua morfologia externa, constituição anatômica, área de dispersão, antepassados. E é a partir destas diferenças, basicamente, que o reino vegetal pode ser subdividido em filos, classes, ordens, famílias, gêneros, espécies, subespécies, raças, variedades e clones. As regras para este tipo de classificação foram propostas por Carl Von Linné a partir de 1735, culminando em 1778 com a publicação de “Explicação da filosofia e fundamentos botânicos de Linneu” (Font Quer et al., 1979). Segundo Váczy (1971), a sistemática pré-linneana e principalmente a linneana deram a cada espécie dois nomes, o genérico (comum aos congêneres) e o específico (referente à espécie propriamente dita) de acordo com a descontinuidade das características morfológicas, levando em consideração características como dimensão e forma de anteras, de ovários, de folhas, entre outras. A utilização deste sistema de classificação onde os indivíduos mais assemelhados morfológicamente são classificados como mais próximos, tem levado em muitos casos a conclusões errôneas de que estes indivíduos fossem mais próximos em termos de parentesco, portanto geneticamente mais próximos, porém hoje se sabe que isto nem sempre é verdadeiro. A principal importância desta sistemática foi a de criar uma linguagem universal, útil para o agrupamento e classificação das plantas, mas que nem sempre pode ser levada em consideração quando se trata de explicar a variabilidade e aspectos evolutivos de uma cultura.

³ GALLESIO, G. *Traité du Citrus*. Louis Fantin, Paris, 1811. 381p.

⁴ RISSO, J.A. *Essai sur l'histoire naturelle des orangers, bigaradiers, limettiers, cédratiers, limoniers ou citronniers cultivés dans le Département des Alpes Maritimes*. Dufour, Paris, 1813. 74p.

⁵ LOISELEUR-DESLONGCHAMPS, J.L.A.; E.MICHEL. *Nouveau Duhamel, ou traité des arbres et arbustes que l'on cultive en France*. E. Michel, Paris. vol. 7 (Citrus), 1818-19.

⁶ RISSO, J.A.; A. POITEAU. *Histoire naturelle des orangers*. Audot, Paris, 1818-22. 280p.

Swingle & Reece (1967), citaram vários botânicos que deixaram o gênero *Citrus* de lado devido às dificuldades encontradas neste “gênero muito variável e amplamente cultivado” como frisou Oliver⁷, o qual com base nos trabalhos pré-existentes chegou ao número de 5 espécies para *Citrus*. Hooker⁸ reconheceu apenas 4 espécies para o gênero *Citrus* na Índia, Ceilão e Burma. Engler⁹, especialista em *Rutaceae*, reconheceu 6 espécies de *Citrus*, entre as quais incluiu *Poncirus* e *Microcitrus*; sendo que em 1931 ele reviu sua posição em “Die natürlichen Pflanzenfamilien”, incluiu 11 espécies no gênero *Citrus* e 6 a 7 pertencentes aos gêneros *Poncirus* e *Microcitrus*. Kozhin¹⁰, conhecido estudioso de citros, pesquisando a história da taxonomia de citros, rejeitou a prática de considerar variedades cultivadas como espécies, as quais segundo ele seriam incapazes de sobreviver sem a ajuda do homem por meio da propagação clonal. Segundo ele “...uma espécie linneana é um sistema de formas elementares as quais, continuamente cruzam-se entre si, mantendo os limites de características específicas definidas”.

Os principais sistemas da taxonomia e nomenclatura de *Citrus*, citados por Swingle & Reece (1967), foram desenvolvidos por Tanaka^{11, 12, 13, 14} e por Swingle (1943). Tanaka reconheceu em 1935 somente 15 espécies “primárias” em *Citrus*, *Poncirus* e *Fortunella*. Em 1954 ele classificou o gênero *Citrus* em 2 subgêneros, 13 subseções, 8 grupos, 2 subgrupos, 2 microgrupos e 145 espécies (“primárias” e “secundárias ou misturadas”). Em 1961 incluiu mais 5 novas subseções e 159 espécies. Somente para as tangerinas, Tanaka reconheceu 35 espécies. O próprio

⁷ OLIVER, D. The natural order Aurantiaceae, with a synopsis of the Indian species. *Jour. Linn. Soc. Bot.*, London, v.5, n.2, p.44, 1861.

⁸ HOOKER, J.D. The flora of British India. In: REEVE & CO. (Ed.) *Rutaceae*. London. vol.1, 1875. p.484-517.

⁹ ENGLER, A. Rutaceae, von A. Engler. In: ENGLER, A; PRANTL, K (Ed.) *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. Engelmann, Leipzig. Teil 3, Abt.4, 1896. p.95-201.

¹⁰ KOZHIN, A.E. Citrus plants and their cultivation in the U.S.S.R. *Bol. Appl. Bot. Genet. and Plant Breed.* v.26, n.1, p.241-540. 1931.

¹¹ TANAKA, T. Taxonomy of the citrus fruits of the pacific Region. *Mem. Tan. Citrus Exper. Sta.*, v.1, n.1, p.15-36. 1927.

¹² TANAKA, T. History of dispute in the Citrus classification. *Stud. Citrol.*, v.7, p.1-39. 1935.

¹³ TANAKA, T. Species problem in *Citrus*. *Jap. Soc. Prom. Sci.*, Ueno, Tokyo, 1954. 152 p.

¹⁴ TANAKA, T. *Citrologia. Semi-centennial commemoration papers on citrus studies*. Citrologia Supporting Foundation, Osaka, Japan, 1961. 114 p.

Tanaka indicou que muitas das espécies por ele classificadas eram “seedlings” (híbridos ou mutantes) casuais, como *C. natsudaoidai* Hayata, originada em Hagi, em Yamaguchi, Japão. Outras espécies como *C. unshiu* Marc, foram originadas da mesma maneira a partir de conhecida laranjeira na China. O mesmo se deu com *C. wilsonii* Tanaka, originada de *C. junos* Sieb. ex. Tanaka. Alguns argumentos utilizados pelo sistemata para classificação mostram que o mesmo apresentava as vezes dificuldade em separar espécies de variedades: “A qualidade da polpa é o real interesse humano para consumir a fruta...”; “O público consumidor sabe mais que alguns poucos técnicos”; “Para os japoneses que consomem 500.000t de satsuma ao ano, jamais admitiriam que esta seja uma variedade de Ponkan (*C. reticulata*) ou Kunembo (*C. nobilis* Lour.)...” (Swingle & Reece, 1967).

Swingle (1943) por sua vez reconheceu 2 subgêneros, o *Papeda* contendo 6 espécies e o subgênero *Citrus* (antigamente *Eucitrus*) com 10 espécies; reconheceu também como espécie, materiais de origem híbrida como os pomelos, originados em Barbados, provavelmente como híbrido de *C. grandis* com *C. sinensis*, por volta de 1750 (Swingle & Reece, 1967).

Wolfe¹⁵, citado por Swingle & Reece (1967), criticou os dois, um pelo excesso, outro pelo conservadorismo. Este autor admitiu 11 espécies não consideradas por Swingle. Já Hodgson¹⁶, citado pelos mesmos autores, estudou citros e trabalhou com Tanaka. Reconheceu 23 das espécies de *Citrus* do sistema de Tanaka e alegou que Swingle simplesmente desconsiderou espécies preexistentes, as quais considerou como híbridos ou variedades. Estes últimos comparam a situação de *Citrus* com a que ocorre com *Canis domesticus*, ilustrado por Dobzhansky¹⁷: “É uma das primeiras espécies domesticadas, tendo originado um elevado número de raças, algumas destas raças diferem tanto na aparência, como no temperamento e comportamento que é difícil acreditar pertencerem a uma mesma espécie” (Swingle &

¹⁵ WOLFE, H.S. Some problems in *Citrus* nomenclature. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. Carrib. Region*, v.7, p.18-21. 1959.

¹⁶ HODGSON, R.W. Taxonomy and nomenclature in citrus. *Intern. Org. Citrus Virol. Proc.*, v.2, p.1-7. 1961.

¹⁷ DOBZHANSKY, T. *Evolution, genetics, and man*. John Wiley and Sons, Inc., New York, 1955. 398 p.

Reece, 1967). O sistema sugerido por Swingle & Reece (1967) compreende 16 espécies, é o mais amplamente aceito e classifica as principais espécies cultivadas do gênero como: tangerinas (*Citrus reticulata* Blanco), toranjas (*C. grandis* Osbeck), laranja azeda (*C. aurantium* L.), laranja doce (*C. sinensis* Osbeck), limas (*C. aurantifolia* [Christm.] Swingle), cidras (*C. medica* L.), limões (*C. limon* Burm. f.) e pomelos (*C. paradisi* Osbeck).

2.1.2 Aspectos genéticos que dificultaram a classificação em *Citrus*

Segundo indicação de Swingle & Reece (1967) e Moreira¹⁸, já no início do século XX, pesquisadores do Departamento de Agricultura dos EUA e da Seção de Citricultura do Instituto Agrônomo, entre outras Instituições, notaram a facilidade de hibridação entre espécies e a grande variabilidade nos híbridos F₁. Notaram, ainda, que muitas variedades apresentavam esterilidade dos óvulos e que os embriões gerados eram nucelares. Como fator agravante para a delimitação taxonômica em espécies e subespécies em *Citrus* e seus gêneros próximos, notou-se a presença de 3 peculiaridades na reprodução das árvores destes grupos: 1. Poliembria, que é a característica controlada por 1 ou 2 genes e que confere a formação de mais de um embrião por sementes, sendo na maioria das vezes um de origem zigótica e os demais assexuais originados no nucelo. 2. Juvenilidade, que é o fato das plantas nucelares originadas de sementes normalmente apresentarem vigor maior, maior sanidade, maior quantidade de sementes em relação as plantas mãe, propagadas assexuadamente por diversos ciclos vegetativos. 3. Poliploidia (autotetraploidia) que é menos importante que os dois primeiros, porém significou o surgimento de poliplóides pela duplicação de seu genoma.

As frequentes mutações somáticas também dificultaram os trabalhos de classificação acrescenta-se, ainda, a grande plasticidade fenotípica dos citros que em

¹⁸ MOREIRA, S. Exame e contagem de pólen. In: RELATÓRIO da Seção de Citricultura. Campinas, I.A.E., 1940. p.53-62.

idades ou condições ambientais diferentes podem expressar fenótipos distintos (Cameron & Frost, 1968; Soost & Cameron, 1975; Domingues et al., 1995e).

2.1.3 O conceito biológico de espécie influenciando a sistemática tradicional

O conceito biológico de espécie, o qual afirma que a espécie é formada por um grupo de indivíduos que trocam genes entre si mas que não o fazem normalmente com indivíduos de outras espécies, havendo algum tipo de barreira reprodutiva, impedindo a formação de híbridos férteis foi proposto por Theodosius Dobzhansky na década de 1950. É importante ressaltar que entre Linneu e Dobzhansky, iniciou-se o amadurecimento da teoria da evolução das espécies proposta por Charles Darwin em 1859, com a publicação “On the origin of species by means of natural selection”, a qual indicou a mutabilidade das espécies com o passar do tempo, alterações estas, induzidas por mecanismos de seleção natural e sobrevivência das espécies mais adaptadas às condições ambientais. Além do fato de que os princípios da genética propostos por Gregor Mendel, por volta de 1865, começaram a ser conhecidos no início do século XX (COMPTON’S, 1994).

Stebbins¹⁹, citado por Swingle & Reece (1967) por outro lado discutiu o conceito de espécie em complexos agâmicos, alegando que nestes complexos, a troca de genes é praticamente impedida. Esta visão de Stebbins, porém esbarra no agravante que o número de apomíticos é tão grande na maioria dos complexos desenvolvidos, que reconhecê-las como espécies separadas acabaria dificultando a classificação em *Citrus*. Por exemplo, para 3 gêneros diferentes de plantas apomíticas, conhecidos (*Crataegus*, *Rubus* e *Hieracium*) existem respectivamente 1.100, 4.000 e 10.000 espécies classificadas.

Segundo Harlan & De Wet (1971), a definição de raça é a de “um grupo de indivíduos aparentados com suficientes características em comum para permitir seu reconhecimento como um grupo”. Esta definição é vaga e poderia ser dita para

¹⁹ STEBBINS, G.L. Jr. **Variation and evolution in plants**. Columbia University Press, New York, 1950. 643p.

qualquer taxon, então, propuseram como sendo raça não somente os materiais reconhecíveis pela identidade morfológica mas também pela unidade biológica e integridade genética. Isto é, uma raça é originada num determinado local em uma determinada época na história da cultura. Os autores sugeriram ainda que classificações a nível racial devem ser flexíveis, sujeitas a possíveis alterações, devendo-se evitar regras rígidas de classificação.

A definição biológica de espécie facilita o entendimento mas não apresenta modelos práticos para a classificação das espécies sob este conceito. Harlan & De Wet (1971) sugeriram a separação das espécies e seus aparentados pelo intercruzamento entre elementos representativos destes grupos e a sua classificação de acordo com o grau de dificuldade para a troca de genes. Sugeriram a criação de 3 complexos gênicos (“genepools” ou GP), complexos gênicos primários (GP1) entre os quais o fluxo gênico é livre, secundários (GP2) onde o fluxo gênico seria menor que 100% quando cruzados com GP1 e terciários (GP3) onde ocorreria o impedimento para a troca de genes via cruzamento com GP1.

Este tipo de classificação é muito útil para a elucidação do que ocorre com o gênero *Citrus* e, apesar do ciclo longo e da poliembrionia predominante nas espécies que são importantes agentes complicadores deste tipo de análise, o grupo de estudos do IBPGR (1982) concluiu que das espécies cultivadas de citros, as pertencentes ao “genepool” primário são: *Citrus aurantifolia* Swing., *C. grandis* Osbeck, *C. limon* Burm f., *C. medica* L., *C. grandis* var. *racemosa*, *C. madurensis* Lour. e todos os cultivares de laranja doce (*C. sinensis* Osbeck), laranja azeda (*C. aurantium* L.) e tangerinas (*C. reticulata* Blanco). No “genepool” secundário *C. macroptera* Mont., *C. hystrix* D.C., *C. ichangensis* Swing. e também todas as espécies de *Fortunella* e *Poncirus trifoliata* seriam encontrados. O terceiro “genepool” consistiria inteiramente de espécies de outros gêneros próximos ao *Citrus*, como *Microcitrus*, *Clymenia* e *Eremocitrus*. Seguindo a definição biológica de espécie e constatando-se a fertilidade “interespecífica” dentro do gênero *Citrus* pode-se chegar a conclusão de que o gênero *Citrus* seria na realidade uma espécie. Por outro lado

existem casos de incompatibilidade mesmo dentro de espécies deste gênero, segundo Cameron & Frost (1968).

2.1.4 A taxonomia numérica e a análise multivariada como auxiliares

Em trabalho mais recente, baseado em 146 caracteres morfológicos de árvores, folhas, flores e frutos, Barret & Rhodes (1976) sugeriram apenas três espécies dentro do gênero *Citrus*: tangerinas (*Citrus reticulata* Blanco), toranjas (*C. grandis* Osbeck) e cidras (*C. medica* L.). Eles também especularam sobre o grau de parentesco das outras “espécies” cultivadas de *Citrus* sugerindo que as limas e limões seriam híbridos envolvendo cidras, toranjas e microcitrus, com os limões carregando uma maior proporção de genes de cidra; laranja azeda e laranja doce seriam híbridos de tangerinas e toranjas. Para a realização deste tipo de trabalho a taxonomia numérica e as análises multivariadas passaram a ocupar lugar de destaque, auxiliando nos estudos de relação de parentesco entre gêneros, espécies e variedades cultivadas, como ilustrado em diferentes trabalhos (Crisci & Armengol, 1983; Gogorcena & Ortiz, 1993; Manly, 1994). Apesar disto ainda existe muita falta de concordância entre taxonomistas que trabalham com os mesmos materiais e esta discordância se estende tanto em nível específico como intra-específico, sendo que a principal dificuldade ocorre na classificação dos grupos de indivíduos mais aparentados.

Apesar da caracterização morfológica ser imprescindível para o reconhecimento da variabilidade fenotípica e do potencial genético das culturas em campo, estas dependem normalmente das plantas adultas e de certo controle ambiental para garantir a qualidade dos resultados. Grattapaglia et al. (1992) argumentam que a análise genética da maioria das espécies arbóreas é dificultada pelo ciclo longo e pela necessidade de grandes áreas para seleção devido ao porte das plantas, as quais muitas vezes possuem níveis de diversidade genética elevados e pouco se sabe do seu modo de herança. Além do fato dos citros serem plantas perenes

e de ciclo longo são normalmente poliembriônicas o que também traz atrasos ao melhoramento da cultura.

2.1.5 Isoenzimas e marcadores moleculares como auxiliares

Com os avanços das técnicas dos marcadores bioquímicos e mais recentemente dos moleculares, a classificação sistemática poderá se tornar mais objetiva não permanecendo somente fundamentada na morfologia externa dos indivíduos, mas também na constituição gênica dos mesmos. Algumas das técnicas mais utilizadas na detecção de polimorfismo são as técnicas de análise de isoenzimas, RAPD (DNA polimórfico amplificado aleatoriamente) e RFLP (Restrição de fragmentos de comprimentos polimórficos). A hipótese de três espécies ancestrais componentes do gênero *Citrus*, defendida por Barret & Rhodes (1976) foi confirmada também por estudos baseados em isoenzimas (Torres et al., 1978), RFLPs (Roose, 1988) e RAPD (Luro et al. 1992). A técnica de isoenzimas é, segundo Alfenas et al. (1991), uma técnica bastante simples, rápida e de alto valor informativo, sendo que sua utilização na evidenciação de proteínas tem sido crescentemente ampliada para estudos de taxonomia, fisiologia, evolução e genética de plantas, animais e microorganismos. A análise eletroforética de isoenzimas pode ser utilizada na identificação de clones, cultivares e linhagens bem como possui grande potencial para a caracterização de variedades e linhagens de plantas resistentes a doenças e estudos das relações patógeno-hospedeiro. Existem diferentes trabalhos visando estudar a variabilidade em citros utilizando esta técnica como Torres et al. (1978 e 1982), Ballve et al. (1991 e 1995). Outros têm utilizado a associação deste método com o uso de RFLP, inclusive para a construção de mapas genéticos envolvendo citros (Roose, 1988; Durhan et al., 1992; Jarrel et al., 1992).

A técnica de RAPD foi desenvolvida por Williams et al. (1990) e Welsh & MacClelland (1990), os quais descreveram um novo tipo de marcador que é baseado na amplificação de segmentos de DNA de sequência arbitrária. Estes

marcadores, chamados RAPD (DNA polimórfico amplificado aleatoriamente), são gerados pela amplificação em PCR (reação em cadeia da polimerase) de segmentos de DNA aleatórios com iniciadores (“primers”) de sequências nucleotídicas arbitrárias e visualizados em géis. Esta técnica tem apresentado grande potencialidade na caracterização e nos estudos genéticos e de evolução de plantas. Os marcadores RAPD podem ser usados tanto para aplicações em mapeamentos genéticos, quanto para diagnósticos genéticos. Os ensaios não são radioativos e requerem somente nanogramas de DNA e são aplicáveis para um grande número de espécies. Esta técnica também tem sido bastante utilizada para a quantificação da variabilidade em citros (Luro et al., 1992).

Estes diferentes métodos têm trazido grande auxílio ao entendimento da genética e da diversidade existente em *Citrus*, porém muitas espécies deste gênero, apesar de heterozigotas, apresentam variedades bastante diversas fenotipicamente mas muito assemelhadas geneticamente, caso de *C. sinensis* (laranja doce) e *C. limon* (limões verdadeiros), o que vem a reforçar a hipótese de que a principal fonte formadora de variabilidade e de diferenciação das mesmas se deu por meio de mutações somáticas (Cameron & Frost, 1968; Soost & Cameron, 1975; Domingues et al., 1995e). Deste modo, novas técnicas como a de microssatélites, a qual consiste na amplificação de segmento contendo sequência repetitiva específica de DNA, parecem despontar como mais promissoras para a seleção prática de variedades e mesmo clones destas espécies e podem auxiliar ainda no entendimento da sistemática deste gênero. Esta técnica permite, em muitos casos, o reconhecimento de polimorfismo não detectado pelo estudo de isoenzimas, RFLP ou RAPD (Luro et al., 1992 e 1995).

2.2 Bancos de germoplasma de citros e sua importância para o melhoramento²⁰

Embora o Brasil ainda não possua expressão quanto à exportação de frutos de *Citrus in natura*, a sua participação mundial na produção e exportação de

²⁰ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A. Bancos de germoplasma de citros e sua importância para o melhoramento. *Laranja*, v.19, n.2, p.343-364. 1998.

suco de laranja é incontestável, sendo o maior produtor e exportador de suco de laranja (FAO, 1994). O Estado de São Paulo é responsável por 80% da produção nacional de laranja, sendo as principais variedades destinadas ao processamento ‘Pêra’, ‘Natal’ e ‘Valência’; e para o mercado interno de frutas frescas de laranja, destacam-se as variedades Pêra, Lima e Bahía (Gonçalves & Souza, 1994). Com relação as tangerinas, de um modo geral, são plantadas comercialmente a ‘Ponkan’, a ‘Cravo’ e o ‘Tangor Murcott’, e para as limas ácidas e limões o ‘Tahiti’ e o ‘Siciliano’, respectivamente. Observa-se a partir desses dados que, apesar da importância que possui, nossa citricultura explora um número bastante limitado de espécies e de variedades de *Citrus*.

É fundamental a conservação de germoplasma no sentido de se manter fontes de variabilidade para permitir a ampliação da base genética desta cultura já bastante estreita devido a propagação clonal. Tenta-se garantir, deste modo, que pelo melhoramento genético possam ser solucionados os principais problemas que afligem a cultura, os quais normalmente estão relacionados às moléstias e pragas. Apenas no Brasil neste século surgiram muitas moléstias entre as quais pode-se citar a tristeza dos citros, o cancro cítrico, o declínio, e mais recentemente a clorose variegada dos citros as quais têm colocado em risco a produção de citros no país. Muitas destas moléstias surgiram devido à introdução clandestina de germoplasma sem os cuidados devidos. Quanto às pragas, as cochonilhas, ácaros, pulgões, broca, mosca das frutas, bicho furão e mais recentemente a lagarta minadora dos citros ocupam destaque devido ao dano econômico.

No Brasil, foi iniciada em 1930, uma coleção de germoplasma de citros, que hoje é um dos bancos ativos de germoplasma de maior importância mundial. Este se encontra localizado no Centro de Citricultura Sylvio Moreira do Instituto Agrônomo, em Cordeirópolis, S.P. e o último levantamento realizado em 1995 aponta para um total em torno de 1750 acessos, não levando em consideração as duplicatas reconhecidas (Domingues, 1995a; Domingues et al., 1995a, 1995b, 1998b). Este BAG servirá como base para apresentação deste trabalho, que visa

abranger os principais aspectos de uma coleção de germoplasma de citros, uma vez que os aspectos básicos das coleções mundiais, em sua maioria, mantidas em campo são bastante semelhantes. Serão mencionadas ainda as demais coleções desta cultura existentes no país e no mundo de acordo com dados do IBPGR (1992).

2.2.1 Origem dos citros

Os gêneros *Fortunella* (kumquats), *Poncirus* (trifoliatas) e *Citrus* (toranjas, tangerinas, laranjas azeda, laranja doce, limas, cidras, limões e outros tipos de frutos, incluindo os híbridos naturais) são nativos de uma extensa área asiática que se estende do nordeste da Índia ao norte da China Central e leste das Filipinas, Tailândia e Indonésia (Chapot, 1975). Os centros de origem das principais espécies comerciais são extremamente difíceis de se apontar. Estas espécies, conhecidas no presente, são cultivadas há milhares de anos e têm sofrido mistura com híbridos naturais ou produzidos pelo homem, e mutações genéticas, em tal extensão, que elas não podem ser identificadas facilmente.

Indubitavelmente o germoplasma de espécies selvagens tem se tornado parte de muitas das espécies cultivadas de citros. Algumas estão provavelmente pouco alteradas, como certas formas de lima (*C. aurantifolia*), toranja (*C. grandis*), cidra (*C. medica*). Outros cultivares de citros são ou híbridos ou mutantes ou em muitos casos derivados da perpetuação clonal de híbridos mutados (Shamel, 1943; Hodgson, 1967; Domingues et al. 1995e). Traçar a genealogia das variedades de citros é difícil, somente em poucos casos é possível localizar corretamente parentais selvagens (IBPGR, 1982).

2.2.2 Considerações a respeito da conservação *ex-situ* e *in situ*

Em 1981 o IBPGR reuniu um grupo de pesquisadores em Tsukuba, no Japão, para definir prioridades para a conservação de germoplasma de citros. Este grupo opinou que o germoplasma de citros deveria estar em primeira instância

conservado na forma de plantas sob condições de campo, permitindo a avaliação do material. Em adição recomendaram que, quando possível, materiais livres de doenças devem ser mantidos sob telados ou casas de vegetação protegidas para evitar a recontaminação com doenças e pragas e perda devido às alterações climáticas. Reconhecendo os altos custos da conservação usando métodos convencionais, foram recomendadas, para certos casos, pesquisas visando a conservação de sementes, possível para algumas espécies de *Citrus*, e métodos de cultura de tecidos (IBPGR, 1982).

Existem alguns trabalhos ligados a conservação *in situ* no Estado de Meghalaya, no nordeste da Índia e outros a serem estabelecidos no sul, sudeste e leste da Ásia. Um aspecto lembrado pelo grupo do trabalho do IBPGR em 1981 é de que a conservação *in situ* deve ser acompanhada por estudos detalhados a respeito da variação genética envolvida, devido a polinização e colonização livres. Estes estudos servem ainda como fonte de sementes e borbulhas para estudos científicos (IBPGR, 1982).

2.2.3 Maiores coleções mundiais

O grupo de trabalho do IBPGR, reunido em 1980 em Tóquio (IBPGRI, 1982), sugeriu que os seguintes países, devido a sua posição geográfica estratégica e por já possuírem coleções de importância mundial (Tabela 1), deveriam ser convidados a abrigar coleções regionais: China e Japão (cobrindo o leste da Ásia); Índia (para cobrir o sul da Ásia); Espanha (para cobrir o Mediterrâneo). Juntamente, a França (Córsega) deveria ser convidada devido a sua cobertura não somente ao Mediterrâneo mas a muitos países tropicais incluindo a África do Sul e o Saara; Estados Unidos para cobrir a América do Norte; o Brasil para cobrir a América do Sul e as regiões tropicais; a Malásia para coordenar as coleções nacionais do sul da Ásia e uma área no pacífico, incluindo a Austrália e a Nova Zelândia.

Tabela 1. Países que abrigam coleções de citros, número de Institutos e forma de manutenção¹.

Países	Num. Instituições	Forma de manutenção
Albania	1	mantido em campo
África do Sul	1	mantido em campo
Algéria	1	mantido em campo
Argentina	1	?
Austrália	3	sementes e em campo
Bangladesh	1	mantido em campo
Bolívia	1	mantido em campo
Brasil ²	7	em campo e <i>in vitro</i>
Camarões	1	mantido em campo
Chile	1	mantido em campo
China	2	mantido em campo
Colômbia	1	mantido em campo
Costa Rica	2	mantido em campo
Costa do Marfim	1	mantido em campo
Cuba	1	mantido em campo
Equador	4	mantido em campo
Espanha	2	?
EUA	8	mantido em campo
Federação Russa	1	mantido em campo
Fiji	1	mantido em campo
Filipinas	1	mantido em campo
França	4	sementes e em campo
Gabão	1	mantido em campo
Ghana	1	mantido em campo
Grécia	1	mantido em campo
Índia	4	mantido em campo
Indonésia	3	mantido em campo
Iran	1	?
Itália	1	mantido em campo
Jamaica	1	mantido em campo
Japão	3	mantido em campo
Madagascar	1	mantido em campo
Malawi	1	mantido em campo
Marrocos	1	mantido em campo
México	1	mantido em campo
Moçambique	1	mantido em campo
Nepal	1	mantido em campo
Nicarágua	1	mantido em campo
Nigéria	1	mantido em campo
Nova Zelândia	1	mantido em campo
Papua Nova Guiné	1	mantido em campo
Peru	1	mantido em campo
Quênia	2	mantido em campo
República Dominicana	1	?
Sudão	1	mantido em campo
Tailândia	2	mantido em campo e <i>in vitro</i>
Taiwan	1	?
Tanzânia	2	mantido em campo
Tunísia	1	mantido em campo
Turquia	2	mantido em campo
Venezuela	1	mantido em campo
Vietnam	2	?

¹ Fonte: IBPGR 1992; ² citados com mais detalhe no presente trabalho.

Estas deliberações, no entanto, ainda não foram implantadas de fato. As coleções já existentes ainda não possuem o “status” de centros regionais de germoplasma, mesmo porque muitas das coleções não estão suficientemente caracterizadas ou não possuem trabalho de indexação que permitam o intercâmbio seguro de germoplasma entre diferentes países.

2.2.4 Problemas de quarentena afetando o intercâmbio de germoplasma

Devido aos diferentes acessos disponíveis nas coleções de trabalho dos diversos países que possuem cultivo de citros e, conseqüentemente pesquisa e melhoramento dessa cultura, existe a necessidade contínua de intercâmbio de germoplasma. Ênfase tem sido dada aos procedimentos fitossanitários no intercâmbio de germoplasma de citros para fins comerciais bem como de pesquisa. Cuidados insuficientes neste sentido resultaram, no passado, na transferência internacional de sérias doenças de citros e mesmo no presente esse risco ainda existe, uma vez que exportadores e importadores nem sempre tomam os cuidados necessários para evitar a transferência de patógenos ou pragas de uma região para outra, até então, livre daquele patógeno ou praga. Atenção especial deve ser tomada para doenças causadas por vírus e viróides, quase sempre de difícil detecção. Nesse sentido devem ser estabelecidos métodos de indexação e de imunoensaios para detectar a presença de vírus, utilizando-se em certos casos a microenxertia e termoterapia como técnicas auxiliares para eliminação dos mesmos. A FAO/IBPGR (1991) possui um guia indicando os cuidados básicos a serem tomados para o intercâmbio de germoplasma de citros, com exemplo para diversas enfermidades que podem afetar a cultura.

2.2.5 Bancos de germoplasma de citros no Brasil

Segundo os dados do IBPGR (1992), atual IPGRI, no Brasil existem algumas coleções de citros de importância mundial:

- Centro de Citricultura Sylvio Moreira/ IAC, Cordeirópolis, SP. (mantido em campo e pequena coleção de trabalho, mantida *in vitro*).
- Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura - EMBRAPA, Cruz das Almas, BA. (mantido em campo e *in vitro*).
- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Piracicaba, SP. (campo).
- Estação Experimental de Itajaí, EMPASC, SC. (mantido em campo).
- Estação Experimental Fitotécnica de Taquari, RS. (mantido em campo).
- Instituto Agronômico do Paraná, Londrina, PR. (mantido em campo).

Destas coleções a maior encontra-se no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, do Instituto Agronômico, em Cordeirópolis, SP, e servirá como exemplo no presente trabalho indicando as atividades ligadas à manutenção, ampliação e caracterização de um Banco de Germoplasma desta natureza, uma vez que a maioria das coleções mundiais são mantidas em campo e necessitam de cuidados semelhantes. Outras coleções²¹ do país que merecem destaque são as de Taquari no Rio Grande do Sul, com aproximadamente 260 acessos e do CNPMF, em Cruz das Almas na Bahia, com aproximadamente 600 acessos.

2.2.6 Banco de germoplasma de citros do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC

O banco ativo de germoplasma de citros do Instituto Agronômico de Campinas está localizado no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, em Cordeirópolis; foi iniciado em 1930 e continuamente ampliado, é uma das maiores coleções de variedades de citros do mundo. Como a maioria dos acessos estava enxertada sobre

²¹ S.B.F. (XIV-Congresso Brasileiro de Fruticultura). Comunicação pessoal obtida junto aos responsáveis pelas coleções desses Institutos, 1996.

limão ‘Cravo’, susceptível ao declínio, a coleção foi renovada entre 1986 e 1989, utilizando como porta-enxerto a tangerineira ‘Cleópatra’.

Diversas introduções vêm sendo avaliadas quanto à viabilidade de serem utilizadas comercialmente, por meio de análises visuais, de qualidade de suco, morfológicas e agronômicas. Algumas têm sido utilizadas em trabalhos de melhoramento genético, visando a produção de novas variedades copas e de porta-enxertos. O último levantamento realizado em 1995, aponta para um número em torno de 1750 acessos (Domingues, 1995a; Domingues et al., 1998b) excluindo-se as duplicatas reconhecidas, assim distribuídos: 649 acessos de laranja doce (sendo 332 de laranjeiras diversas, 24 de laranjeira ‘Caipira’, 15 de ‘Hamlin’, 29 de ‘Lima’, 18 de ‘Natal’, 67 de ‘Pêra’, 36 de ‘Valência’, 47 variedades de laranjas Sangüíneas e 81 de laranjas de “umbigo”); 45 acessos de laranja azeda; 373 de tangerinas e híbridos; 56 acessos de limas; 128 de limões e híbridos; 23 de cidras; 49 de “limão” ‘Cravo’ e assemelhados; 13 de “limão” ‘Rugoso’; 59 de pomelos; 44 de toranjas e híbridos; 205 de *P. trifoliata* e híbridos; e em torno de 100 acessos de outras espécies e gêneros (Tabela 2). Deste levantamento foi confeccionado catálogo de acessos (Domingues et al., 1995b), um dos primeiros do Instituto Agronômico, segundo Veiga²².

Como principais aspectos deste BAG-citros podem ser destacados o de ser constituído principalmente por laranja doce (37%) e tangerinas e híbridos (21%), uma vez que estes são os produtos de maior interesse na citricultura mundial. Outro aspecto importante, segundo Pompeu Júnior²³, é que a maioria dos cultivares utilizados na citricultura paulista e brasileira são originadas deste BAG-citros, como é o caso dos clones nucelares das laranjas ‘Hamlin’, ‘Westin’, ‘Natal’ e ‘Valência’, da ‘Pêra’ pré-imunizada com estirpe fraca do vírus da tristeza dos citros, tangerina ‘Ponkan’, do tangor ‘Murcott’ e do “limão” ‘Tahiti’. Além dos porta-enxertos de tangerinas ‘Sunki’ e ‘Cleópatra’, do “limão” ‘Volkameriano’, dos trifoliatas e híbridos, como o citrumelo ‘Swingle’ e citranges ‘Troyer’ e ‘Carrizo’. Os

²² VEIGA, R.F. de A. (Coordenador SIQP/ SBE/IAC, pesquisador científico, Instituto Agronômico). Comunicação pessoal, 1995.

²³ POMPEU JÚNIOR, J. (Centro de Citricultura Sylvio Moreira, CCSM/IAC). Comunicação pessoal, 1996.

Tabela 2. Principais grupos de introduções (Seção, espécie, variedade) constituintes do banco de germoplasma de citros do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, localizado em Cordeirópolis, SP., e número de acessos dentro de cada grupo¹.

Grupo de acessos	Número de acessos	Grupo de acessos	Número de acessos
Laranja doce - <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	332	Pomelo ('Grapefruit') - <i>C. paradisi</i> Osb.	59
Laranja Caipira - <i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	24	Tangelo - <i>C. reticulata</i> x <i>C. paradisi</i>	35
Laranja Hamlin - <i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	15	Laranja Azeda - <i>C. aurantium</i> L.	45
Laranja Lima - <i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	20	<i>C. myrtifolia</i> Raf.	4
Laranja Piralima - <i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	9	Toranja - <i>C. grandis</i> Osbeck	44
Laranja Natal - <i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	18	Cidra - <i>C. medica</i> L.	23
Laranja Pêra - <i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	67	<i>C. volkameriana</i> Ten. & Pasq.	4
Laranja Valência - <i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	36	<i>C. bergamia</i> Risso & Point	1
Laranja Sangüínea - <i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	45	Calamondin - <i>Citrus madurensis</i> Lour.	3
Lar. falsa Sangüínea - <i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	2	Seção - <i>Aurantium</i>	7
Laranja de "umbigo" - <i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	81	Seção - Papedas	5
Tangerina - <i>C. reticulata</i> Blanco	177	Seção - <i>Osmocitrus</i>	6
Tanger.- <i>C. clementina</i> Hort. ex Tanaka	25	Seção - <i>Limonellus</i>	5
Tangerina - <i>C. reshni</i> Hort. ex Tan.	10	Seção - <i>Acrumen</i>	4
Tanger. - <i>C. tangerina</i> Hort. ex Tan.	4	Seção - <i>Citrophorum</i>	2
Tanger.- <i>C. licopersicaeformis</i> Hort. ex Tan	2	<i>Citrus</i> spp.	13
Tangerina - <i>C. nobilis</i> Lour.	7	<i>Citrus</i> sp.	11
Tangerina Satsuma - <i>C. unshiu</i> Marc.	16	<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.	48
Tangerina - <i>C. sunki</i> Hort. ex Tanaka	3	<i>P. trifoliata</i> x <i>Citrus sinensis</i>	99
Mexerica - <i>C. deliciosa</i> Ten..	38	<i>P. trifoliata</i> x <i>Citrus reticulata</i>	24
Tangor - <i>C. reticulata</i> x <i>C. sinensis</i>	45	<i>P. trifoliata</i> x <i>Citrus aurantifolia</i>	1
<i>C. temple</i> Hort. ex. Tanaka	6	<i>P. trifoliata</i> x <i>Citrus limon</i>	5
<i>C. unshiu</i> Marc. x <i>C. sinensis</i> Osb.	5	<i>P. trifoliata</i> x <i>Citrus paradisi</i>	16
Lima - <i>C. aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	52	<i>P. trifoliata</i> x <i>Citrus limonia</i>	6
Limão doce - <i>C. limetta</i> Risso	4	<i>P. trifoliata</i> x <i>Citrus aurantium</i>	2
Limão - <i>C. limon</i> Burm. f.	128	<i>P. trifoliata</i> x <i>C. sinensis</i> x <i>Fortunella</i> sp	4
Limão Cravo - <i>C. limonia</i> Osbeck	49	Kunquat - <i>Fortunella</i> spp. Swingle	5
Limão Rugoso - <i>C. jambhiri</i> Lush	13	<i>Citrus</i> próximos	14

¹ Fonte: Domingues et al. (1995b).

pesquisadores do Centro de Citricultura vêm trabalhando com diversas variedades deste acervo buscando a seleção de novas variedades copa e de porta-enxertos para a exploração comercial, além de sua utilização em estudos quanto à tolerância às doenças (como a tristeza, o cancro cítrico, o declínio, a clorose variegada dos citros, a gomose) e aos nematóides.

O valor desta coleção é incalculável devido à sua grande variabilidade genética e em caso de perda, seria praticamente impossível recuperá-la pelas restrições fitossanitárias atualmente impostas ao intercâmbio de germoplasma.

2.2.6.1 Manutenção do banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC

Os acessos vêm sendo agrupados de acordo com a sua espécie e características de produção e existem pelo menos três plantas para cada acesso para facilitar a avaliação destes materiais e também para se evitar possíveis perdas, sendo que as plantas encontram-se, de um modo geral, espaçadas em 7,5 m entre linhas por 5,5 m entre plantas. Este banco de germoplasma está constituído de varias coleções dentre elas destacam-se clones velhos e novos (coleção mais antiga), coleção de clones velhos (re-implantada em 1986), coleção de clones novos e introduções (re-implantada em 1989) e coleção de porta-enxertos. A área ocupada pelo BAG atinge aproximadamente 20% da área total, ou seja 36,14 ha dos 198 ha do Centro de Citricultura Sylvio Moreira.

A manutenção das coleções é feita da mesma maneira realizada para um pomar comercial, com o manejo adequado de pragas, doenças e de plantas daninhas, além das correções de pH do solo e adubação mineral. A principal diferença baseia-se no fato de não serem admitidas perdas de acessos; caso haja necessidade de podas severas ou risco de perda de acessos pela tristeza dos citros, gomose, rubelose ou por incompatibilidade com o porta-enxerto, busca-se retirar borbulhas para formação de mudas de reposição.

São realizados em campo, de modo geral, podas de limpeza, adubação com macro e micro nutrientes, calagem com calcário dolomítico, pulverização contra o ácaro da ferrugem e da leprose, controle da mosca das frutas e aplicação de fungicidas, herbicidas e uso de roçadeiras. Além de combate da CVC e desbaste de tangerinas. Para os mais diferentes trabalhos ligados à manutenção deste banco de germoplasma são utilizados diferentes materiais, como: enxadões, enxadas, tesouras de poda, serrotes de poda, sacolas de colheita, rolos de fitilho, etiquetas plásticas, etiquetas de madeira, sacos plásticos, canivetes de enxertia, ráfia para enxertia. A distribuição dos tratamentos durante o ano obedece de uma maneira geral a seguinte ordem:

- Aplicação de herbicidas na linha, programada para janeiro.
- As aplicações de acaricidas dependerão do nível de infestação dos pomares e são distribuídas pelo ano.
- A aplicação de micronutrientes se dá nos dois primeiros meses do ano, enquanto que a adubação com nitrocálcio é parcelada em 3 aplicações uma para janeiro, outra para março e a última para novembro, normalmente.
- A calagem, quando necessária, é realizada no início do segundo semestre (agosto - setembro).

Em estimativa feita em 1996 somente com os materiais citados o custo anual de manutenção desta coleção ficou em torno de R\$15.000,00, ou dólares, no entanto não foram computados aí, custos com máquinas, pessoal e informática; os quais se considerados, deverão, no mínimo, dobrar este valor.

Outro aspecto relacionado à manutenção do BAG-citros, está ligado ao levantamento e reposição de perdas de acessos ou de repetições. Estas perdas normalmente ocorrem devido a períodos de seca intensa, ou devido a problemas ligados a doenças ou incompatibilidade severa de copa e porta-enxerto, o que é menos comum, uma vez que o porta-enxerto é a tangerineira Cleópatra. No último

levantamento, realizado em 1994, observou-se que 114 acessos perderam plantas, ou repetições, as quais deverão ser repostas.

2.2.6.2 Ampliação do banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC

Desde 1930, o BAG-citros vem sendo constantemente ampliado. O principal critério para a introdução de novos acessos é que estes tragam novas características de interesse para a exploração agrícola direta ou para fins de melhoramento genético. Estas introduções normalmente ocorrem por meio de contato com produtores, técnicos ou pesquisadores de outras instituições, os quais por vezes se dispõem a oferecer este material para que seja incorporado ao banco de germoplasma. Estes materiais ou são variedades locais, que podem ter sido originadas por meio de mutações somáticas ou são hibridações espontâneas ou intencionais entre variedades.

Muitos dos acessos desta coleção foram obtidos pelo intercâmbio entre pesquisadores do Centro de Citricultura com melhoristas de outros países interessados em testar seus híbridos para doenças já existentes no Brasil, ou ainda, para evitar que muitos destes se perdessem devido ao frio intenso de inverno no hemisfério Norte. Outros vieram por doações espontâneas, originadas desse intercâmbio²⁴.

Muitos híbridos de porta-enxertos (aproximadamente 400), produzidos por pesquisadores do Instituto Agrônomo estão sendo testados para suas qualidades agrônomicas, estes ainda não estão catalogados como acessos do BAG-citros, mas o serão à medida em que demonstrem possuir qualidades de interesse. Assim como estes, outros híbridos sexuais e somáticos têm sido produzidos por pesquisadores do CCSM e deverão ter o mesmo tratamento.

A maior parte deste BAG-citros foi composta entre as décadas de 30 e 70. Nos últimos anos têm sido criadas diversas barreiras que dificultam o intercâmbio de germoplasma entre países; elas são necessárias na medida em que protegem a

²⁴ POMPEU JÚNIOR, J. (Centro de Citricultura Sylvio Moreira, CCSM/IAC). Comunicação pessoal, 1995.

citricultura mundial da difusão de patógenos e pragas, porém dificultam a ampliação dos bancos de recursos genéticos para estas culturas. No entanto, devido a importância de intercâmbio de acessos desta coleção com as demais e com outros institutos de pesquisa, os pesquisadores desse Centro devem, em breve, com base em regras internacionais, determinar normas de fornecimento de borbulhas e sementes dos acessos dessa coleção para intercâmbio; se borbulhas, deverão ter passado pela microenxertia e indexações necessárias e, se sementes, requisitadas em época e quantidade adequados à capacidade de fornecimento desse Centro.

2.2.6.3 Caracterização de acessos do banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC

Muitos dos acessos deste banco têm sido caracterizados agronomicamente para avaliação da produtividade, do ciclo produtivo e da qualidade das frutas produzidas. São feitos estudos, testando-se variedades copas e de porta-enxertos para tolerância às principais doenças presentes no país, estudos de espaçamentos mais adequados, bem como de necessidades de adubações diferenciadas para as variedades. No entanto, estes estudos não são conduzidos para todos os acessos componentes deste banco simultaneamente. Para chegar neste estágio as variedades passam antes por avaliações prévias ainda no banco de germoplasma e uma vez constatadas características de ciclo, produção, de resistência a doenças ou pragas, entre outros caracteres que se sobressaíam aos cultivares existentes, então estes materiais passam a ser testados em áreas maiores, com um maior número de repetições para confirmação das pré-avaliações, passando então para experimentos específicos, antes da recomendação de plantio ou da utilização em programas de melhoramento.

Uma das avaliações preliminares dos acessos deste BAG consiste na descrição dos caracteres morfológicos baseados em descritores para os citros (IBPGR, 1988) os quais apresentam aproximadamente 104 caracteres morfológicos (para a

planta, flores, folhas e frutos) a serem avaliados para as espécies de citros, além de outros tantos caracteres relacionados a resistência a doenças e pragas, estresse ambiental, bem como avaliações citológicas, bioquímicas e moleculares, entre outros dados. É claro que a proposta destes descritores é completa e se aproxima da ideal, uma vez que traz praticamente todas as áreas de interesse botânico, agrônomo e genético dos acessos componentes de um banco de germoplasma de citros. Por outro lado estes descritores foram confeccionados buscando estabelecer uma forma de avaliação para todas as espécies e variedades de citros, e sabe-se que nem todas as características de uma espécie se aplicam a outras, nem sempre estando presentes. Uma outra limitação para a utilização destes descritores é que são bastante amplos, e seria necessário que toda uma equipe de pesquisadores se dedicasse a sua aplicação para satisfazê-los.

Deste modo estes descritores estão sendo adaptados para as características específicas da espécie a ser avaliada. Como exemplo destes trabalhos pode ser citado o que visou a descrição morfológica de frutos de 10 acessos de tangerinas do BAG-citros do CCSM, para 39 caracteres externos e internos dos frutos (Domingues²⁵ et al., 1995c) e este que faz parte da presente pesquisa.

Além da caracterização morfológica existem diversos projetos de caracterização molecular utilizando-se RAPD de diferentes espécies de citros pertencentes a este BAG-citros. Dentre esses destacam-se as espécies de *Citrus sinensis* (Targon et al., 1994), *Citrus reticulata* (Colleta Filho et al., 1998), *Poncirus trifoliata* (Targon et al., 1994; Cristofani, 1997). *Citrus limonia* (Cristofani et al., 1994), e outros trabalhos, em andamento, envolvendo *C. sinensis* e híbridos de *C. grandis* e *C. limon*.

Quanto à caracterização agrônoma, de grande importância por ser a avaliação prévia das variedades com potencial de recomendação agrícola, vem sendo realizada há muitas décadas pelos pesquisadores do CCSM e, embora não se possa

²⁵ DOMINGUES, E.T.; SOUZA, V. C.; SAKURAGUI, C. M.; POMPEU JUNIOR, J.; PIO, R. M.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; SOUZA, J.P. Caracterização morfológica de tangerinas do BAG-Citros do CCSM/IAC. *Scientia Agricola*, 1997. /No prelo/.

realizar aqui uma citação completa, alguns trabalhos podem exemplificar pesquisas mais recentes de seleção de variedades copa, como Figueiredo (1991) e Figueiredo et al., (1996; 1997a; 1997b) e Teófilo Sobrinho et al., (1994; 1995; 1996) e diversos outros com porta-enxertos, resumidos por Pompeu Júnior (1991), além de diferentes trabalhos visando indexação de variedades e identificação das contaminadas com a tristeza, exocorte, xiloporose, sorose e CVC.

2.3 Importância das mutações somáticas no melhoramento das variedades de citros²⁶

O Brasil é o maior produtor e exportador de suco concentrado de laranja (FAO, 1994), sendo esta cultura, portanto, uma importante fonte de divisas para o país. O Estado de São Paulo é o principal produtor de laranja do país e o responsável por aproximadamente 85% da safra nacional. Os cultivares de laranja Pêra, Natal e Valência são os mais importantes e também os preferidos pela indústria do suco (Figueiredo, 1991). O principal porta-enxerto utilizado é o limoeiro Cravo (Pompeu Júnior, 1991). A ampliação do número de variedades copa com melhor qualidade para frutos de mesa, ou frutos destinados à indústria, bem como a obtenção de novos porta-enxertos são fundamentais para se evitar transtornos à citricultura, caso surjam fatores que impeçam a utilização dessas variedades. Novas variedades de porta-enxertos podem ser obtidas via hibridação sexual ou somática, buscando-se combinar características favoráveis de cada uma. Porém, para o melhoramento convencional das variedades copa existem alguns inconvenientes, que incluem a juvenilidade, a heterozigosidade, a poliembrionia nucelar, além dos longos ciclos de seleção. Uma vez que mutações somáticas espontâneas têm contribuído para o surgimento de um grande número de cultivares (Shamel, 1943; Hodgson, 1967; Soost

²⁶ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Importância das mutações somáticas no melhoramento das variedades de citros. *Laranja*, v.16, n.2, p.235-249, 1995. (Apresentado resumidamente na 17ª Semana da Citricultura do CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP, em 07/06/1995).

& Cameron, 1975), sua exploração bem como a de mutações induzidas, pode permitir a obtenção de novas variedades de importância comercial.

As variedades copa normalmente exploradas pela citricultura são, em sua maioria, mutantes espontâneos originados de outras já estabelecidas. Durante o processo de domesticação dessas espécies, foram preservadas e propagadas pelo homem as plantas com melhores qualidades de frutos e mais produtivas. Atualmente o processo é semelhante. Produtores, técnicos ou pesquisadores reconhecem no campo plantas que apresentam-se superiores quanto à produtividade, qualidade de frutos e outras características fenotípicas, que então são perpetuados por meio da enxertia ou por sementes apomíticas. Foi assim que provavelmente surgiram vários cultivares de laranja doce, como a Bahia, a Baianinha, a Lima Verde, a Natal, a Natalima, a Folha Murcha, a Piralima, a Lima de Sorocaba e a Westin. Outros cultivares de origem controvertida, podem ter sido originadas por hibridação sexual ou mutação, como é o caso da variedade Pêra.

2.3.1 Dispersão ou distribuição das espécies de citros

Os gêneros produtores de frutos úteis de citros, *Fortunella* (Kunquats), *Poncirus* (trifoliatas) e *Citrus* (toranjas, tangerinas, laranjas azeda, laranja doce, limas, cidras, limões e outros) são nativos de uma extensa área asiática que se estende do noroeste da Índia à China centro-setentrional, leste das Filipinas, Tailândia e Indonésia (Chapot, 1975). Os centros de origem das principais espécies comerciais são difíceis de serem reconhecidos, por muitas razões. Estas vem sendo cultivadas por milênios e misturadas em tal extensão com híbridos selecionados, ou com populações naturais que dificulta a identificação de seus centros de origem.

A laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, é a espécie de citros mais cultivada e é originada provavelmente na Indochina e sul da China. É possível que os antigos romanos já a conhecessem, porém o mais certo é que as introduções ocorreram por volta de 1425, por meio da rota de comércio de países como Portugal e

Itália com os chineses. Laranja doce, juntamente com outras espécies, foi introduzida na América do Norte por meio das Ilhas Canárias por Cristóvão Colombo, por volta de 1493; e no Brasil por volta de 1540.

Ainda segundo Chapot (1975), gêneros de citros, como *Citrus*, *Poncirus*, *Fortunella*, *Eremocitrus* e *Murraya* hibridizam-se facilmente, sendo que muitas variedades e mesmo "espécies" atuais surgiram desta maneira na natureza. Outro fato interessante é que embora a hibridação ocorra entre gêneros diferentes, nem sempre ocorre dentro de uma mesma espécie. Algumas variedades de laranja doce possuem baixa fertilidade de pólen, como observado por Moreira²⁷ & Gurgel (1941). Esta perda de fertilidade pode ter sido originada tanto via cruzamentos naturais como devido a mutações espontâneas.

O fato é que as mutações somáticas desempenham um papel fundamental para o melhoramento desses cultivares. Tal é esta importância que Chapot (1975) destaca ao lado das principais espécies de citros as rotas percorridas pela variedade Bahia, também chamada de Washington Navel, a qual adquiriu grande importância econômica no hemisfério norte. Originada no Brasil, no Estado de Bahia, esta variedade é uma provável mutação da variedade Seleta, e a partir de 1824 foi introduzida na Austrália, de onde foi para a Flórida em 1835, Washington em 1870 e Califórnia 1873.

A Tabela 3 ilustra algumas variedades e suas prováveis formas mutantes, a maioria das quais de importância econômica no Estado de São Paulo.

2.3.2 Mutações somáticas

Mutações são alterações no código genético, o qual determina os caracteres qualitativos e quantitativos nos seres vivos. Elas desempenham um papel fundamental na ampliação da variabilidade genética, principalmente para plantas de propagação vegetativa como os citros, permitindo o surgimento de novas variedades

²⁷ MOREIRA, S. Exame e contagem de pólen. In: RELATÓRIO da Seção de Citricultura. Campinas, I.A.E., 1940. p.53-62.

(Broertjes & Van Harten, 1988). Na natureza considera-se que uma em cada milhão de plantas sofra mutação, porém este índice é variável de espécie para espécie e, no caso dos citros, imagina-se que esta taxa seja mais elevada. As mutações espontâneas bem como as induzidas têm mostrado que podem introduzir alterações na coloração, na forma e tamanho das folhas, nas flores e frutos, diminuição no número de sementes, modificação na estrutura e forma das plantas, recuperação de fertilidade em plantas estéreis, alterações na composição química dos frutos, alterações nos caracteres fisiológicos (período de florescimento e frutificação), bem como resistência a doenças e pragas (Spiegel-Roy, 1991).

Os fatores que determinam as taxas de mutação nos organismos podem ser externos (nutrição, temperatura, radiações e mutagênicos químicos naturais) e internos (constituição genética, condições fisiológicas da planta) (Tulmann Neto et al., 1991). No caso de plantas de propagação vegetativa, como é o caso dos citros, normalmente busca-se a alteração de uma ou poucas características em cultivares de elite bem estabelecidos. Isto dificilmente se conseguiria em poucas gerações por meio de cruzamentos.

Segundo Broertjes & Van Harten (1988) a principal vantagem que as mutações trazem são alterações de uma ou poucas características em cultivares bem estabelecidos, sem alterar as características desejáveis dos mesmos. Outro aspecto a ser considerado é que as mutações não só permitem a obtenção de novas variedades de citros por meio das variedades já cultivadas, e portanto de grande aceitação comercial, como podem permitir que cultivares parcialmente estéreis, como o "limão" Tahiti de origem triplóide, possam dar origem a novas variedades assexuadamente.

Ao conjunto de métodos e técnicas de exploração e seleção de mutantes espontâneos ou induzidos dá-se o nome de melhoramento genético por meio de mutações.

2.3.3 Mutações espontâneas

A elevada aceitação de alguns cultivares de citros torna o lançamento de novos cultivares via hibridação sexual bastante difícil. Esta tendência tem estimulado a busca de mutantes espontâneos. Shamel (1943) a partir de 1909, documentou muitas variações somáticas em plantações comerciais de citros e verificou que estas características eram mantidas por enxertia, e que estas mudanças poderiam ser de interesse, quando bem selecionadas. Os mutantes naturais de maior impacto são aqueles de crescimento compacto, com melhores coloração de frutos, variação de ciclo e ausência de sementes. A busca de mutantes com qualidades superiores pode tornar-se organizada, onde o sucesso depende, entre outros fatores, do número total de árvores, efeito do clima, práticas culturais e da frequência de mutação por variedade (Spiegel-Roy, 1991).

Existem muitas variedades de citros provavelmente originadas por meio de mutações espontâneas, sendo que muitas das quais são exploradas comercialmente. A Tabela 4 ilustra alguns exemplos de mutantes somáticos e as alterações para diferentes caracteres, muitos dos quais com valor de seleção. Um aspecto importante a ser considerado, tanto quando se fala de mutantes espontâneos como em mutantes induzidos, são as reversões das mutações (Lapins, 1983). As reversões são características de tecidos quiméricos, que combinam diferentes genótipos dentro de uma mesma planta. Este acontecimento é inevitável no processo de formação de variedades mutantes, uma vez que a mutação é um evento unicelular e geralmente são obtidas em tecidos multicelulares (Broertjes & Van Harten, 1988). O quimerismo é um aspecto negativo nos trabalhos de melhoramento via indução de mutações, onde os melhoristas buscam sempre obter mutantes estáveis para avaliação. Outro aspecto importante é que para a produção de mudas os viveiristas devem, quando possível, evitar mutantes ou quimeras instáveis pois podem produzir mudas com vigor, desenvolvimento e fenótipo desuniformes.

Em citros as mutações ocorrem a nível de gametas, diretamente no pólen ou no óvulo, nos tecidos do nucelo dentro da semente e /ou nas células

Tabela 3. Variedades de *Citrus* e seus prováveis mutantes espontâneos¹.

Variedades originais	Mutações espontâneas
Laranjeira Seleta	Bahia ou Washington Navel (Dorsett et al. 1917) ² Seleta Branca (Moreira & Filha, 1963) ² Seleta Amarela (Moreira & Filha, 1963) ² Seleta Vermelha (Moreira & Filha, 1963) ²
Laranjeira Bahia	Baianinha (Webber, 1943) ² Thonson, Robertson, Carter e Atwood ²
Laranjeira Pêra De origem desconhecida. Alguns autores são de opinião de que é a mesma Lamb's Summer, var. norte americana, outros que é oriunda da var. Berna da Espanha ² ; outros afirmam que ela é oriunda do Brasil.	Lima Verde Clones ³ : Pêra Premunizada Pêra Olímpia Pêra Bianchi Pêra Ipiгуá Pêra GS - 2000
Laranjeira Valência	Natal ² Folha Murcha ²
Laranjeira Natal	Natalima
Laranjeira Lima	Piralima - Selec. pelo Prof. P.W.C. de Vasconcelos, ESALQ Lima de Sorocaba (Seleção feita em Sorocaba)
Laranjeira Comuna ou Beledi	Shamouti (Oppenheinn, 1927, 1929) ²
Variedade desconhecida (cultivada no RS)	Westin
Pomelo ou "Grapefruit", com sementes	Marsh Seedless ² (sem sementes)
Pomelo Marsh Seedless	Thompson (Pink Marsh) ² Redblush (Ruby) ² Red Marsh ²

¹ Fonte: Domingues et al. 1995e. ² Citado por Hodgson (1967). ³ Os clones da var. Pêra também diferem devido a diferenças de resposta ao vírus da tristeza dos citros (Teófilo Sobrinho et al. 1977 e 1981).

Tabela 4. Características que podem ser alteradas nas variedades de *Citrus* através de mutações somáticas espontâneas ou induzidas e alguns exemplos¹.

Características alteradas	Exemplos de variedades
Vigor da planta e hábito de crescimento	laranjeira Cipó
Tamanho, formato e cor das folhas	laranjeiras Folha Murcha e Imperial
Época de maturação	laranjeira Folha Murcha
Ausência de sementes	laranjeiras Bahia, Baianinha e pomelo Marsh
Produtividade	laranjeiras Lima de Sorocaba e Baianinha
Tamanho e forma dos frutos	laranjeiras Bahia e Baianinha
Coloração e/ou textura da casca	lar. Imperial, Cacao Concan e Seleta Vermelha
Coloração da polpa e suco	pom. Star Ruby e Rioré (Spiegel-Roy, 1990)
Alteração nos níveis de acidez	laranjeira Lima Verde

¹ Fonte: Domingues et al. 1995e.

somáticas (mutações de gemas). A causa de tais alterações são pouco conhecidas, mas existem indícios de que o estresse ambiental ou nutricional, a constituição genética da variedade estudada, bem como radiações naturais auxiliam neste processo.

Segundo Spiegel-Roy (1990), dois caracteres que parecem ser mais fáceis de serem obtidos por este tipo de melhoramento são a coloração dos frutos e ausência de sementes. Tais características podem ser facilmente reconhecidas com apenas duas gerações de propagação vegetativa após a detecção da mutação. Para caracteres como produtividade, tamanho e forma de fruto, o mesmo autor recomenda o avanço das gerações vegetativas por meio de enxertias sucessivas.

Em trabalho realizado por Frost & Krug (1944), há indicação de que para citros existem três camadas geratrizes para a formação dos diferentes tecidos celulares da planta, sendo a primeira responsável pela formação da epiderme, a segunda por todos os tecidos das folhas com exceção da epiderme, seria também responsável pelos microsporócitos e, no mínimo, por uma parte do córtex de brotos vegetativos novos, e a terceira camada responsável pelo pró-câmbio e pela medula do caule, sendo esta última portanto responsável pelo hábito de crescimento em citros.

2.3.4 Mutações induzidas

O sucesso e aceitação dos mutantes naturais tem servido como um incentivo para se tentar obter mutantes em programas de melhoramento por meio de indução de mutação e do estudo de progênes vegetativas. Ainda existem poucas variedades de citros com aceitação comercial obtidas desta maneira. A principal dificuldade deste método de melhoramento reside no fato de não se poder direcionar a ação dos mutagênicos para obtenção de um carácter específico, uma vez que as mutações ocorrem ao acaso, o que se faz é selecionar os possíveis mutantes para o carácter desejado.

Existem, no entanto, alguns mutantes induzidos de importância comercial, como é o caso dos pomelos ou "grapefruits" sem sementes e de coloração

intensa (Star Ruby e Rioired) e o tangelo Minneola, também sem sementes (Spiegel-Roy, 1991). Tulmann Neto et al. (1991), trabalhando com indução de mutações visando o melhoramento genético do cultivar de laranja Pêra, obtiveram alterações para altura de copa, menor número de sementes, alteração na coloração da polpa, tipo e paladar dos frutos, modificação no formato da folha e de coloração das folhas. Estes mutantes estão sendo testados em campo para se verificar seu valor agrônômico.

A indução de mutações pode, portanto, ser utilizada para o melhoramento de variedades de interesse. Para isto podem ser utilizados agentes mutagênicos físicos (como raios Ultra Violeta, neutrons, raios X e raios gama) e químicos (como os agentes alquilantes: etil etano sulfonato, metano sulfonato de etila, dietil sulfato e a azida sódica), ou ainda, pode-se explorar paralelamente as técnicas de cultura de tecidos vegetais e engenharia genética também com a mesma finalidade.

Os agentes mutagênicos normalmente produzem efeitos primários, causando danos fisiológicos e as alterações à nível de DNA, as quais podem ser herdáveis e recebem o nome de mutações induzidas. Para a indução de mutações podem ser tratadas sementes, ramos contendo gemas ou plantas em desenvolvimento. No caso de mutagênicos físicos, as doses normalmente são escolhidas com base em ensaios de radiosensitividade, as quais observam curvas de sobrevivência, número de ramos, altura de plântulas, entre outros, após a irradiação com diferentes doses e/ou taxas de radiação.

Após o tratamento com o mutagênico, havendo a indução de mutações em uma ou poucas células, estas darão origem a tecidos mutados, os quais se desenvolverão lado a lado com tecidos normais da planta, estabelecendo então o que se chama de competição diplôntica ou intra-somática, onde as células com maior capacidade de sobrevivência e multiplicação prevalecerão. Nestes casos estas plantas ou ramos destas plantas são chamados de quiméricos, isto é, onde co-existem tecidos geneticamente diferentes em um mesmo indivíduo. Sobre este assunto Broertjes & Van Harten (1988) comentam que células que sofreram danos fisiológicos ou cromossômicos, apresentam uma menor capacidade mitótica em relação às células

que não sofreram estes efeitos, mas afirmam que mutações gênicas simples ou mesmo deleções menores não alteram necessariamente a capacidade de competição da célula.

A maioria dos eventos mutacionais são de natureza recessiva ($Aa \rightarrow aa$). A frequência de alterações de alelos recessivos para dominantes ($aa \rightarrow Aa$) é muito baixa (Brock, 1978). Como a maioria das variedades de *Citrus* possuem um elevado grau de heterozigosidade, então as mutações recessivas podem ser mais facilmente induzidas e selecionadas. Outro aspecto importante a ser observado é que a distinção dos heterozigotos (Aa) dos homozigotos dominantes (AA) é possível somente em poucos casos, indicando que nem sempre é fácil a detecção dos mutantes obtidos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Na presente pesquisa foram estudados 61 genótipos de laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Destes, 17 fazem parte do **experimento 1**, instalado em dezembro de 1980 no Centro de Citricultura Sylvio Moreira (CCSM/IAC), em Cordeirópolis, SP. e composto de clones de laranja ‘Pêra’ e outras variedades com características morfológicas e/ou agrônômicas semelhantes à ‘Pêra’. A maioria dos clones de laranja ‘Pêra’ foi coletada no interior do Estado de São Paulo, na década de 1970. A seguir são indicados os 11 clones da variedade ‘Pêra’ e as outras 6 variedades assemelhadas a ela e, quando possível, sua origem: 1. Pêra Vimusa (Fazenda Macaúba, Santa Adélia, SP.; março de 1979); 2. Pêra E.E.L. (Pêra selecionada de pé franco no IAC); 3. Pêra GS-2000 (Chácara de Guilherme Spanhol, Cascalho; janeiro de 1975); 4. Pêra Olímpia (Olímpia, SP.; fevereiro de 1976); 5. Pêra Premunizada-1212 (clone pré-imunizado com estirpe fraca do vírus da tristeza dos citros, no IAC); 6. Pêra Bianchi (Fazenda São Judas Tadeu, de Alfeu Bianchi, Bebedouro; abril de 1970); 7. Pêra R.Gullo-1569 (Fazenda Lagoa Bonita, de Roberto Gullo; abril de 1978); 8. Pêra Dibbern (Sítio de Benedito Luis Dibbern; setembro de 1971); 9. Pêra Pirangi (Fazenda Barro Preto, Pirangi; setembro de 1970); 10. Pêra R.Gullo-1570 (Fazenda Lagoa Bonita, de Roberto Gullo, abril de 1978); 11. Redonda (foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC como ‘Pêra Redonda’); 12. Pêra Premunizada-1743 (clone pré-imunizado com estirpe fraca do vírus da tristeza dos citros, no IAC); 13. Ovale (BAG-citros); 14. Ovale de Siracusa (BAG-citros; dezembro de 1980); 15. Ovale San Lio (BAG-citros); 16. Lamb’s Summer (BAG-citros); 17. Corsa tardia (BAG-citros). Estes genótipos, estavam enxertados em limoeiro ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osbeck), em experimento implantado em 6 blocos

casualizados, com uma planta por parcela, espaçamento de 7 m x 5 m, em Latossolo vermelho-escuro distrófico.

Os outros 44 genótipos (**experimento 2**) fazem parte da coleção de clones velhos do banco ativo de germoplasma de citros (BAG-citros) do Instituto Agrônômico, instalado no Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, situado em Cordeirópolis, SP. Estavam enxertados sobre tangerineira Cleópatra (*Citrus reshni* Hort. ex. Tanaka) e foram plantados em 13/11/1986, em espaçamento de 7,5 m x 5,5 m, com 3 plantas por introdução, cujos números de identificação na coleção e nomes foram: 09. Lima, 12. Lima Tardia, 13. Lima Verde, 16. Lima Lisa, 23. Baianinha Piracicaba, 27. Washington Navel, 29. Baiana Retiro, 37. Baianinha 23-4-60, 54. Lanceta Barão, 56. Do Céu-1, 58. Diva, 61. Cametá, 68. Seleta Branca, 70. Seleta Vermelha, 71. Imperial, 72. Hamlin Reserva, 73. Hamlin, 74. Hamlin Variegada, 79. Rubi Blood, 87. Blood Oval, 93. Sangüínea de Mombuca, 96. Cipó, 106. Sangüínea de Piracicaba, 112. Non Pareil, 115. Westin, 137. Caipira-DAC, 140. Caipira Comum, 142. Pele de Moça, 147. Lamb's Summer, 148. Pêra de Abril, 149. Pêra sem Sementes, 150. Perão, 151. Pêra Coroadada, 152. Pêra Comprida, 153. Pêra Mel, 154. Pêra Rio, 155. Pêra C.V., 156. Pêra Ovo, 157. Pêra Caire, 158. Pêra Ipiguá, 161. Valência Late, 163. Valência Variegada, 164. Natal e 165. Natal Bebedouro. As variedades estavam plantadas em área que não apresenta manchas de solo, num Latossolo vermelho-escuro orto, de relevo homogêneo e praticamente sem declividade (Anexo A). Como citado anteriormente, a manutenção dessa coleção é feita da mesma maneira realizada para um pomar comercial, com o manejo adequado e uniforme de pragas, doenças e de plantas daninhas, além das correções de pH do solo e de adubação mineral. Ambos os experimentos foram conduzidos sem irrigação e estavam em região de clima do tipo Cwa, de Köppen. Cordeirópolis, encontra-se à aproximadamente 639 m, acima do nível do mar, à uma latitude de 22°32'S e longitude 47°27'W e a temperatura média é de 20,1°C (14,4°C a 27,7°C), e média de 1.310 mm de chuvas ao ano (Coelho et al. 1984).

A escolha destes 61 genótipos de laranja doce foi feita com base em avaliação prévia dos acessos, feita em campo (Domingues²⁸), e em sugestões recebidas (Teófilo Sobrinho²⁹). Destes, 25 apresentam, em bibliografia, alguma descrição de suas características morfológicas e agronômicas para diferentes locais de avaliação. Para a maioria, no entanto, esta caracterização não foi encontrada, justificando-se portanto, sua caracterização numa mesma época e local, com base em descritores envolvendo planta, folha, flores e frutos (76 caracteres avaliados qualitativa e quantitativamente) e compará-las com variedades comerciais de laranja doce. A seguir será feita uma breve descrição dos acessos estudados, com base em literatura disponível e, quando possível, a sua origem e introdução no CCSM/IAC.

1. Laranja Lima: Segundo Hodgson (1967), esta variedade apresenta frutos de pequenos a médios, esféricos a subglobosos; poucas sementes comparativamente. Casca média a grossa; superfície levemente rugosa; cor laranja clara. O suco fresco possui cor amarelo claro; macio e rico em suco; gosto insípido devido à baixa acidez. Maturação muito precoce. Árvores vigorosas, grandes e com densa folhagem, e altamente produtivas. A laranja Lima é a variedade de laranja doce não ácida de maior importância no Brasil, onde o seu plantio beirou os 10 % das árvores plantadas, mas hoje não possui valor comercial significativo; possui valor particular em dietas e é bem aceita pelas crianças (Hodgson, 1967). Segundo Donadio et al. (1995), plantas de clone velho da laranja Lima, apresentaram folhas de comprimento médio de 7,86 cm e largura do limbo 4,29 cm, pequeno pecíolo de 0,99 cm, com margem levemente serrada. Como característica geral produzem frutos com 120 g, 45% de suco, cor amarela clara, tendendo para o esverdeado, 10,3 °Brix, e 0,12% de acidez e “ratio” 85, 5 a 6 sementes/fruto, com casca média à grossa e vesículas de óleo ligeiramente salientes. Desta variedade tem surgido diferentes

²⁸ DOMINGUES, E.T. Caracterização dos acessos das coleções de clones novos e velhos do banco de germoplasma de citros do Centro de Citricultura quanto ao estresse hídrico e qualidade do fruto. 1994. (Dados não publicados).

²⁹ TEÓFILO SOBRINHO, J. Mutações somáticas. *Informativo do Centro de Citricultura*, n.29, p.3, nov., 1997.

clones por mutação, como a Piralima e Lima de Sorocaba (Donadio et al., 1995). Segundo Figueiredo (1991), esta laranja é de origem desconhecida, é uma das mais importantes variedades de laranja com baixa acidez cultivadas no Brasil. Seus frutos são muito apreciados pela população brasileira, tendo qualidades dietéticas especiais para os adultos e muito apreciados entre as crianças. Árvores de porte médio a grande, com a copa alta e alongada e folhas acuminadas. A produtividade é muito boa, sendo estimada em 250 kg de frutos por planta. Seus frutos são destinados ao mercado interno para consumo ao natural e também para a indústria de suco concentrado. A participação porcentual da variedade, em número de plantas, dentro do grupo das laranjas está dentro dos 2% ocupados pelas laranjas com baixa acidez (Figueiredo, 1991). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, em 1931.

2. Laranja Lima Tardia: Segundo Figueiredo (1991), a origem dessa variedade é obscura, tendo sido introduzida pela família Doring, no Bairro do Pinhal, no município de Limeira, Estado de São Paulo, por sementes obtidas no Estado de Minas Gerais. Presume-se ser ela uma mutação da laranja Pêra, pelas semelhanças que apresenta com esta variedade. A Lima Tardia vem sendo propagada com o nome de Lima Verde ou Mineira. Árvores de porte médio, com galhos mais ou menos eretos e folhas acuminadas. A produtividade é média, alcançando 200 kg de frutos por planta. A cultivar Natalima Roque, selecionada pelo Instituto Agrônômico de Campinas, apresenta produção, qualidade e permanência dos frutos nas plantas, superior aos demais clones conhecidos. Sua menor tolerância à tristeza exige pré-imunização do material com estirpe fraca do vírus. Os frutos têm forma ovalada a esférica, com duas sementes e pesam em média 130g; a casca é de cor amarelo-pálida, com espessura média e vesículas de óleo em nível. A polpa é de cor amarela e tem textura firme. Apresenta 43% do peso do fruto em suco, com teores médios de sólidos solúveis (°Brix) - 10,5, acidez - 0,14% e “ratio” de 75. Seus frutos destinam-se principalmente para o consumo ao natural no mercado interno. Sua participação

percentual, em número de plantas, está dentro dos 2% relativos a laranjas com baixa acidez (Figueiredo, 1991).

3. Laranja Lima Verde: Segundo Donadio et al. (1995), esta variedade, diferentemente da variedade Lima e outras de baixa acidez que têm seu período de maturação de março à agosto, sendo de precoces à meia estação, a Lima Verde produz até outubro ou novembro, sendo também conhecida como Lima Tardia. As árvores têm porte médio, galhos mais ou menos eretos e folhas acuminadas com comprimento médio de 8,47 cm, largura de 4,78 cm e pecíolo com 1,32 cm de comprimento por 0,32 cm de largura. Os frutos ovalados à esféricos, com casca quase lisa com bolsas de óleo em nível, apresentam peso médio de 130 a 180 g; altura 7,44; diâmetro de 7,09 cm; 45 a 50% de suco; 7 a 10 sementes, 9,45 °Brix, 0,03 a 0,14% de acidez, 75 a 250 de “ratio”, e 10 gomos. Como característica peculiar seus frutos apresentam casca esverdeada mesmo quando maduros (Donadio et al., 1995).

4. Laranja Lima Lisa: Provável mutação da laranja Lima comum, introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC (ver laranja Lima).

5. Laranja Baianinha de Piracicaba: Segundo Hodgson (1967), este nome distingue esta importante variedade de outras duas seleções brasileiras, Ivers e Thomazzelli, de frutos menores. Os seus frutos são distintos da Baiana, ou Bahia, devido a quatro principais características de fruto, possui frutos menores, o formato é mais ovalado, possui um “umbigo” menor e mais fechado e a casca é mais fina. A árvore é mais produtiva, porém menor e menos vigorosa que as baianas. Presume-se que esta variedade foi originada de uma mutação somática da ‘Bahia’. Esta variedade é instável e tem dado origem de tempos em tempos a novos clones segundo dados da literatura. Já foi a terceira variedade comercial do Brasil onde era cultivada principalmente no Estado de São Paulo (Hodgson, 1967). Segundo Figueiredo 1991, a Baianinha provavelmente se originou de uma mutação da variedade Bahia, que apareceu num pomar localizado em Piracicaba, Estado de São Paulo, por volta de 1907, cujas plantas foram enxertadas com borbulhas importadas dos Estados Unidos, possivelmente da Flórida. Estas var. apresentam árvores de porte médio a grande,

com copa arredondada e folhagem abundante. A produtividade é muito boa, estimada em 250 kg de frutas por planta. A cultivar foi melhorada no Instituto Agrônomo de Campinas, onde foram obtidos e selecionados muitos clones, principalmente com a finalidade de eliminação dos vírus da exocorte e sorose, bem como de melhor produção e qualidade dos frutos. Os melhores clones selecionados são denominados IAC - 48, 89 e 79. Os frutos têm a forma quase esférica, normalmente não apresentam sementes e pesam em média 168 g; a casca é de cor laranja forte, com espessura média, e vesículas de óleo quase em nível. A polpa é de cor laranja viva, com textura firme. Apresenta 40% do peso do fruto em suco, com teores médios de sólidos solúveis (°Brix) - 13, acidez - 0,92% e “ratio” de 14,1. Seus frutos são destinados aos mercados interno e externo e também à indústria de suco concentrado. A participação porcentual da variedade, em número de plantas, está dentro dos 2% relativos ao grupo Bahia (Figueiredo, 1991).

6. Laranja Washington Navel (Bahia ou Baiana): Segundo Hodgson (1967), esta variedade apresenta frutos grandes, esféricos a obovóides ou elipsóides; base às vezes com leve colarinho; ápice frequentemente evidente com amplos “mamilos”; “umbigos” médios a grandes e as vezes evidentes; sem sementes. Coloração bem pronunciada (laranja intenso). Casca medianamente grossa, um pouco macia; superfície grosseiramente pontuada e de brilho moderado. Polpa intensamente colorida; textura firme; com suco moderado; rica em sabor. Frutos mantém-se bem na árvore e possui qualidades relativamente boas de armazenamento e transporte, mas não é boa para o processamento. De maturação precoce. Árvores com o topo arredondado, um pouco pendente, e vigor e tamanho médios. Sensível ao calor e à seca durante a florada. Anteras coloridas de creme, devido a ausência de pólen. A origem da Bahia ou Baiana é provavelmente da var. Seleta, segundo Dorsett³⁰ et al., citados por Hodgson (1967), como uma mutação espontânea da mesma, encontrada no Estado da Bahia. De lá pra cá foi introduzida na Austrália em 1824 e Flórida em

³⁰ DORSETT, P.H.; SHAMEL, A.D.; POPENOE, W. The navel orange of Bahia; with notes on some little-known Brazilian fruits. U.S. Dept. Agr. Bul.. n.445, p.35. 1917.

1835. Da Austrália foi levada para a Califórnia em 1870. Doze mudas foram levadas da Bahia diretamente para Washington e receberam então a designação de Washington Navel, nome pelo qual é conhecida internacionalmente. A ‘Baiana’ seria uma variante mais precoce da variedade portuguesa (“Umbigo”) descrita por Risso & Poiteau³¹ (Hodgson, 1967). Segundo Figueiredo (1991), a origem da laranja Bahia não é conhecida, mas conclui-se que ela provavelmente venha de uma mutação encontrada em uma planta da variedade Seleta, no Estado da Bahia, propagada primeiramente entre 1810 e 1820. Daí espalhou-se para todos ou outros países citrícolas. A literatura mostra claramente que as variedades do grupo Bahia apresentam grande instabilidade somática e consequentemente, têm dado origem a diversas mutações. Apresenta árvores grandes, com copa arredondada de folhagem abundante, com folhas verdes escuras e grandes. A produtividade é boa, variando de 150 a 250 kg de frutos por planta. A variedade foi selecionada no Instituto Agrônomo de Campinas, tendo se destacado, entre outros, a cultivar Monte Parnazo, que apresenta maturação tardia dos frutos, de julho a setembro, o que os torna de maior valor no mercado de frutos ao natural. Os frutos da ‘Bahia’ tem a forma esférica, normalmente sem sementes e pesam em média 200g, sendo 65% deles maiores que o tipo 150; a casca é de cor laranja forte, com espessura média a grossa, com vesículas de óleo em nível. A polpa é de cor laranja viva e apresenta textura firme e granulada. O suco corresponde a 38% do peso do fruto, com teores médios de sólidos solúveis (°Brix) - 13,2, acidez - 0,94% e “ratio” de 14,0. Seus frutos são destinados essencialmente para o consumo ao natural, no mercado interno, não se prestando para a industrialização. A participação porcentual da variedade, em número de plantas, está dentro dos 2% relativos ao grupo ‘Bahia’ (Figueiredo, 1991). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, em 1931.

7. Laranja Baiana Retiro ou Bahia Retiro: Segundo Donadio et al. (1995), esta variedade é de meia estação, árvore esferóide de crescimento ereto e aberto, de altura baixa a média, folhagem densa e superfície do tronco lisa. As folhas

³¹ RISSO, J.A. & POITEAU, A. *Histoire naturelle des orangers*. Audot, Paris, 1922. 280 p.

são simples, de cor verde, forma elíptica e margem crenada para inteira e brevipéculadas. Os frutos de médios a grandes, de cor laranja e forma de esferóide a elipsóide, ápice convexo, com “umbigo” de tamanho médio imbutido e base de convexa a truncada, pesando em média 195 g, altura 6,66 e largura 6,77 cm. Superfície papilada com pontuações, espessura de média a grossa, forte aderência e glândulas de óleo medianamente acentuadas. Polpa de cor laranja e textura firme, com eixo sólido. Os frutos apresentam-se quase sem sementes e pouco suco (40% do seu peso) com 10,85 °Brix, 1,19% de acidez, 9,12 de “ratio” (Donadio et al. 1995). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, em 1931. (ver laranja Bahia ou Baiana).

8. Laranja Baianinha 23-4-60: Seleção clonal da Baianinha comum, introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC. (ver laranja ‘Bahia’ e ‘Baianinha’).

9. Laranja Lanceta Barão: Planta atípica pelo porte reduzido, enxertada em tangerina Cleópatra. Apresenta folhas lanceoladas e baixa produtividade de frutos de baixo valor agrônômico. Pode ter sido originada de algum tipo comum de laranjeira por mutação ou hibridação. Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Chácara Michelin, no município de Santa Rita, em fevereiro de 1941.

10. Laranja Do Céu-1: Segundo Donadio et al. (1995), esta variedade é procedente de Rio Claro, SP. Sua maturação é precoce. A árvore tem a forma esferóide e hábito de crescimento ereto, apresenta altura média, com folhagem bastante densa e superfície do tronco lisa. As folhas são simples, de cor verde tendendo para escura, elípticas, margem crenada e brevipéculadas. Seus frutos são de tamanho médio, esferóides, ápice truncado e base convexa, de cor laranja, peso médio de 105 g, altura de 5,7 cm, largura de 5,84 cm e 8 a 15 sementes/fruto. A casca apresenta superfície papilada, espessura média, forte aderência e com glândulas de óleo medianamente acentuadas. A polpa é de cor alaranjada e de textura macia, com eixo sólido. O suco é abundante e corresponde a 48% do peso do fruto, com teores médios de 8,82 °Brix, 0,52% de acidez, 16,97 de “ratio” (Donadio et al., 1995). Foi

introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, em 1931.

11. Laranja Diva: Segundo Hodgson (1967), esta variedade é tardia, originada do Brasil, possui frutos de tamanho médio, firme mas rica em suco, de bom sabor e contém muito poucas sementes. É de boa manutenção e transporte. A árvore é de vigor e tamanho médios, crescimento ereto, e produção moderada; apresenta importância limitada e já foi considerada promissora (Hodgson, 1967). Segundo Donadio et al. (1995), esta variedade foi testada em comparação a outras variedades tardias e não foi aprovada pela baixa produção. A árvore tem forma elipsóide e hábito de crescimento aberto, altura média, densidade da folhagem média e superfície do tronco lisa. As folhas são do tipo simples, de cor verde, com forma elíptica e margem crenada, brevipetioladas, com pecíolo apresentando largura média e forma obovada. Os frutos desta variedade são de tamanho médio, esferóides, ápices e base truncados, de cor laranja-forte, com peso médio de 145 g, altura de 6,5 cm, largura de 6,48 cm e duas sementes/fruto em média. A casca é de superfície lisa, espessura média, moderada aderência e glândulas de óleo medianamente acentuadas. A polpa é de cor amarelada e tem textura firme, com eixo sólido. O suco corresponde a 45% do peso dos frutos, com teores médios de 9,6 °Brix, 1,6% de acidez, 6,0 de “ratio” (Donadio et al. 1995). Foi originada de Taubaté, SP. e introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC antes de 1938, quando, segundo Moreira (1948) já eram realizados estudos de viabilidade de pólen com essa variedade.

12. Laranja Cametá: Planta atípica pelo porte reduzido, enxertada em tangerina Cleópatra. Apresenta folhas lanceoladas e possui baixa produtividade de frutos de baixo valor agrônômico. Pode ter sido originada de algum tipo comum de laranjeira por mutação ou hibridação. Por engano seu nome havia sido alterado para Cometa no BAG-citros. Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da antiga Estação Experimental de Campinas, SP, em fevereiro de 1941.

13. Laranja Seleta Branca: Segundo Hodgson (1967), esta variedade apresenta frutos de tamanho médio, de subglobosos a esféricos, área basal as vezes

com sulcos radiais; ápice arredondado ou ligeiramente achatado; areola frequentemente distinta; poucas sementes. Casca medianamente grossa; superfície macia; cor laranja clara. Tendência para colorir com o avanço da maturidade. Polpa rica em suco; sabor levemente ácido até a plena maturidade, quando ela torna-se atrativo e prontamente aceitável. Os frutos não se mantêm por muito tempo nas árvores após a maturação. Embora seja de coloração precoce ela é considerada de meia estação. As árvores são moderadamente vigorosas, de tamanho médio e regularmente produtivas. Segundo aquele autor, a tendência de originar variações somáticas foi observada na Califórnia, por Webber³², e na Austrália. Segundo Bobone³³, citado por Hodgson (1967), a origem da Seleta é desconhecida, mas parece que é originada de uma variedade portuguesa, em 1925 era listada entre as cultivares de lá. De acordo com Moreira & Filha³⁴, citados por Hodgson (1967), existem várias seleções clonais com os nomes populares de Abacaxi, Amarela, Branca, Itaboraí e Vermelha (Hodgson, 1967). Segundo Donadio et al. (1995), sua maturação é de meia estação à tardia. A árvore tem a forma esferóide e hábito de crescimento aberto. Apresenta altura média, com densidade de folhagem média e superfície do tronco lisa. As folhas são simples, verdes, elípticas, de margem crenada e brevipeciouladas. Os frutos são de tamanho médio, esferóides, ápice e base truncados, de cor alaranjada, com peso médio de 180 g, altura de 6,9 cm, largura de 7,25 cm e em torno de 16 sementes/fruto. A casca apresenta superfície rugosa, espessura média, fortemente aderida ao endocarpo e com glândulas de óleo acentuadas. A polpa é de cor alaranjada e tem textura macia, com eixo sólido. O suco corresponde a 47% do peso dos frutos, com teores médios de 11,7 °Brix, 1,15% de acidez, 10,17 de “ratio” (Donadio et al., 1995). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, em 1931.

³² WEBBER, H.J. Cultivated varieties of citrus. In: WEEBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.) **The Citrus Industry**. Univer. Calif. Press, Berkeley and Los Angeles, v.1, 1943. p.475-668.

³³ BOBONE, A. Tentativa de caracterização de algumas formas de laranjas portuguesas. **Rev. Agron.**, v.26, n.3, p.253-318, 1938.

³⁴ MOREIRA, S.; FILHA, A.J.R. **Cultura dos citros**. Edições Melhoramentos, São Paulo, 5ª ed., 1963. 120p.

14. Laranja Seleta Vermelha: Segundo Donadio et al. (1995), acredita-se ser uma mutação da Seleta comum, possivelmente originada no Rio de Janeiro. Maturação de meia estação, possui excelente cor interna. A árvore tem a forma esferóide e hábito de crescimento aberto. Apresenta altura média, densa folhagem e superfície do tronco lisa. Tolerante à tristeza, apresenta caneluras leves. As folhas são simples, verdes, com forma elíptico-lanceolada, margem crenada e brevipéculadas. Apresenta frutos de tamanho médios, esferóides, ápice e base truncados, de cor alaranjada, com peso médio de 156 g, altura de 6,57 cm, largura de 6,80 cm e em torno de 12 sementes/fruto. A casca alaranjada, apresenta superfície lisa, espessura média, forte aderência e glândulas de óleo não acentuadas. A polpa é de cor alaranjada e tem textura firme, com eixo sólido. O suco representa 49% do peso do fruto, com teores de 11,06 °Brix, 1,05% de acidez, 10,53 de “ratio” (Donadio et al., 1995). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, em 1931. (ver Seleta Branca).

15. Laranja Imperial: Existem menções a variedades com este nome no hemisfério norte citadas por Hodgson (1967), porém não devem se tratar da mesma variedade, uma vez que nenhuma delas parece ser variegada como esta. Planta produtiva, de porte médio, apresenta folhas e frutos intensamente variegados de verde e branco. Embora seus frutos sejam bons para o consumo, essa variedade parece possuir maior interesse ornamental e científico, uma vez que trata-se de uma quimera combinando dois genótipos diferentes na mesma planta, por meio de mutação somática. Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, em 1931.

16. Laranja Hamlin Reserva: O seu nome é derivado da Fazenda Reserva de Araras, SP, de onde foi originada. (ver laranja Hamlin).

17. Laranja Hamlin: Segundo Hodgson (1967), esta variedade possui frutos pequenos a médios, globosos a levemente oblatos; as vezes com alguns sulcos radiais e anéis areolares fracos; poucas sementes ou nenhuma. Bem coloridas quando maduras. Casca fina, com suave superfície finamente pontuada; polpa bem colorida

na Flórida, no Brasil nem tanto, macia, rica em suco, pouco ácida; sabor doce. Uma das mais precoces na maturação. Árvores moderadamente vigorosas, medias a grandes, produtivas e mais tolerantes ao frio que a maioria. A variedade Hamlin foi originada casualmente como um pé franco em um pomar perto de Glenwood, na Flórida, plantada em 1879, foi batizada pelo dono A.G. Hamlin e seu valor foi reconhecido alguns anos mais tarde, após suportar bem geadas na Flórida. Já foi a variedade mais cultivada na Flórida e de importância considerável como variedade destinada à exportação, sendo possivelmente a principal variedade de laranja doce de maturação precoce daquela região. Em condições de clima subtropical, quente e úmido, a variedade produz frutos de tamanho satisfatório para o mercado, embora a qualidade seja baixa. Em condições secas e subtropicais, a qualidade dos frutos é melhor, embora os frutos sejam menores (Hodgson, 1967). De acordo com Figueiredo (1991), os primeiros plantios dessa variedade foram feitos a partir de 1940 na Fazenda Três Barras, pertencentes ao Frigorífico Anglo S/A, no município de Pitangueiras, Estado de São Paulo. Apresenta árvores grandes, com copa cônica e folhagem abundante. A produtividade é excelente, podendo alcançar mais de 300 kg de frutos por planta. É conhecida como a cultivar mais produtiva e o material foi melhorado no Instituto Agrônômico de Campinas, onde foi eliminado o vírus da exocorte do material importado, por meio da obtenção de clones nucelares, posteriormente selecionados para melhores qualidade e produtividade de frutos. Os frutos têm forma ligeiramente ovalada, quase esférica, com três a quatro sementes e com peso médio de 130 g; a casca é de cor laranja clara, com espessura fina e vesículas de óleo em nível. A polpa é de cor laranja com textura firme. Em média tem 41% do peso do fruto em suco, com teores de sólidos solúveis (°Brix) - 12, acidez - 0,96% e “ratio” de 12,5. Seus frutos são destinados normalmente para o consumo ao natural no mercado externo e para a indústria de suco concentrado. A participação porcentual dessa variedade, em número de plantas, está estimada em 3% dentro do grupo das laranjas (Figueiredo, 1991).

18. Laranja Hamlin Variegada: Planta originada como mutação somática da laranjeira Hamlin, trata-se de uma quimera combinando nas folhas, levemente variegadas, as cores verde escura e clara, introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC. (ver laranja Hamlin).

19. Laranja Ruby Blood: Segundo Hodgson (1967), esta variedade possui frutos de tamanho médio, globosos a levemente oblongos; leves sulcos areolares circulares; relativamente poucas sementes. Bem colorida, com polpa vermelha sob condições favoráveis. Casca medianamente grossa, finamente pontuada. Polpa macia e rica em suco; sabor rico. Polpa de cor laranja, pontuada de vermelho sob condições favoráveis e maturidade à meia estação. Árvores moderadamente vigorosas, compactas, médias a grandes e produtivas. A variedade Rubi foi introduzida do Mediterrâneo (país desconhecido) na Flórida em torno de 1880. Segundo aquele autor, ela aparenta ser uma variedade italiana. Em condições da costa californiana não colore, enquanto que em regiões quentes do interior dos EUA, colore muito bem. Diversos clones ou seleções são conhecidas, originadas desta variedade, os quais diferem em desenvolvimento, em cor, entre outras características (Hodgson, 1967).

20. Laranja Blood Oval: Segundo Hodgson (1967), esta variedade também é denominada de Doblefina (ou Oval Sangre, Sanguina Oval, Rojo Oval, Sanguine Ovale, Morlotte) e apresenta frutos de pequenos a médios, ovais a oblongos; com poucas ou sem sementes. Frutos amarelo-alaranjados na maturidade, mais ou menos densamente rosados, com pontuações coloridas de rosa. Casca medianamente espessa, firme e coriácea; superfície muito macia e textura fina; casca bastante presa, apresentando dificuldade para descascar. Apresenta polpa firme e moderada em quantidade de suco, com pontuações rosadas; aroma característico, sabor agradável. Os frutos maduros prendem-se mal nas árvores, mas possuem surpreendentes qualidades para armazenamento e transporte e são de meia estação a tardios. As árvores são pequenas, de pouco vigor e de crescimento aberto; com folhagem esparsa e verde mais clara que a maioria, sendo precoces e produtivas. Os

frutos dificilmente se colorem bem. Variedade espanhola de origem desconhecida. As variedades Entrefina, Double Fine Ameliorré e Spanish Sanguinelli são originadas como mutações somáticas desta variedade (Hodgson, 1967). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Espanha, em 09/08/1936.

21. Laranja Sangüínea de Mombuca: Segundo Donadio et al. (1995), sua maturação é de meia estação. De árvore arredondada, de crescimento aberto, pouco vigorosa e pouco densa. As folhas são típicas da espécie, sendo simples, elípticas, verdes, brevipetioladas e de margem inteira. Os frutos são de tamanho médio (140 g), esferóides, de ápice e base truncados, de cor laranja, com altura e diâmetro de 8,16 cm, com sementes grandes em número de 18 a 20/fruto. A casca é levemente rugosa, de espessura média, aderente e com glândulas de óleo acentuadas. A polpa é de cor vermelha, embora o suco mantenha a coloração laranja normal, sendo portanto designada de falsa Sangüínea. A textura da polpa é média e o eixo central sólido. Suco abundante, igual a 54% do peso do fruto, com teores de sólidos solúveis de 8 a 10 °Brix, 0,8 a 1,0% de acidez e “ratio” de 8 a 10 (Donadio et al., 1995). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, oriunda de Mombuca, distrito de Piracicaba.

22. Laranja Cipó: Segundo Donadio et al. (1995), esta laranjeira é de origem desconhecida, sendo possivelmente uma mutação de outra variedade. Foi propagada recentemente com o nome de laranjeira Trepadeira. Sua maturação dá-se na meia estação. Sua árvore tem forma oblata, com tendência de crescimento esparramado em direção ao chão, com ramos e troncos recurvados e internódios longos. As folhas são simples, elípticas, de cor verde escura, brevipetioladas, com pecíolo estreito e forma deltóide. Frutos de tamanho médio, esferóides, com ápice e base truncados, cor laranja fraca, peso médio de 146 g, altura de 6,8 cm e diâmetro de 6,9 cm e 15,4 sementes por fruto. A casca apresenta superfície rugosa, espessura média, aderência forte, com glândulas de óleo acentuadas. A polpa é de cor laranja-fraca a amarelada, textura macia e eixo central sólido. O suco corresponde a 49% de seu peso, com teores de sólidos solúveis de 8 a 10 °Brix, 0,6 a 0,9% de acidez, 11 a

13 de “ratio” (Donadio et al., 1995). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, antes de 1938 segundo Moreira (1948).

23. Laranja Sangüínea de Piracicaba: Segundo Donadio et al. (1995), a maturação de seus frutos é de meia estação; em árvores esferóides e hábito de crescimento aberto, de altura baixa a média, densidade de folhagem média e superfície de tronco lisa. Tolerante à tristeza, não apresenta caneluras. As folhas são simples, verdes, ovaladas, de margem crenada e brevipetioladas. Frutos de tamanho médio, com formato esferóide, ápice e base truncados, de cor laranja, com peso médio de 126 g, altura de 5,76 cm, largura de 6,35 cm. A casca apresenta superfície de lisa a levemente rugosa, com glândulas de óleo não acentuadas. A polpa é de cor laranja, não apresentando a cor vermelha típica da Sangüínea de Mombuca, tem textura firme e eixo sólido. Os frutos apresentam suco abundante (47% de seu peso), com teores de sólidos solúveis de 10,42 °Brix, 1,43% de acidez e 7,29 de “ratio” (Donadio et al., 1995). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da ESALQ, Piracicaba, SP.

24. Laranja Non Pareil: Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Engenho Velho, Araras, SP, em 22/01/1943.

25. Laranja Westin: Segundo Hodgson (1967), o fruto desta variedade de meia estação brasileira é de pequeno a médio, praticamente sem sementes e de boa coloração (laranja profundo), rica em suco e saborosa (acidez relativamente alta). A qualidade de transporte é considerada como boa. As árvores são vigorosas, copa aberta, de grande estatura e muito produtivas. Inicialmente conhecida como Clementina teve seu nome alterado para se evitar confusões com a conhecida tangerina de mesmo nome, seu nome atual foi dado em homenagem ao professor Philippe Westin Cabral de Vasconcellos da ESALQ/USP e é considerada promissora entre as variedades de meia estação brasileiras (Hodgson, 1967). Segundo Figueiredo (1991) admite-se que a laranja ‘Westin’ apareceu no Estado do Rio Grande do Sul, provavelmente por mutação de semente ou de gema. Essa variedade foi introduzida no Estado de São Paulo com o nome de laranja Clementina, por ser proveniente do

Porto dos Clementes, município de São João de Montenegro, no Rio Grande do Sul. Para evitar confusão de nomes entre essa variedade e a bem conhecida tangerina Clementina nos mercados europeus, foi então sugerido para ela o nome de laranja Westin. Apresenta árvores grandes, com copa arredondada e folhagem abundante. Sua produtividade comum atinge cerca de 250 kg de fruto por planta. A cultivar foi melhorada no Instituto Agrônômico de Campinas, onde foi obtido e selecionado clone nucelar, com eliminação de vírus prejudiciais e rejuvenescimento do material. Seus frutos são de forma esférica, com duas a três sementes e de peso médio de 145 g; sua casca é de cor laranja forte, de espessura média e vesículas de óleo pouco salientes, ligeiramente ásperas ao tato. Tem polpa cor alaranjada forte e textura firme. Seu suco é abundante, 50% do peso do fruto, com teores médios de sólidos solúveis (°Brix) - 12,2, acidez - 0,93% e “ratio” de 13,1. Destina-se para consumo ao natural, nos mercados interno e externo ou para suco concentrado. Os frutos da ‘Westin’ chegaram a obter altas cotações no mercado de Londres. A participação porcentual da variedade, em número de plantas, situa-se em menos de 2% do total relativo a laranjas (Figueiredo, 1991). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da coleção do Dr. Navarro de Andrade, Fazenda Engenho Velho, Araras, SP, em 22/01/1943.

26. Laranja Caipira-DAC: (ver Caipira comum).

27. Laranja Caipira comum: Segundo Donadio et al. (1995) a laranja Caipira Taquari é morfologicamente semelhante à Caipira comum. Trata-se de planta vigorosa, de crescimento ereto e copa arredondada a elipsóide; pecíolo de médio a curto; frutos médios em suco, são de forma arredondada a elipsóide, de tamanho médio, com ápice truncado e base côncava, de cor laranja, com peso variando de 120 a 150 g e 6 a 12 sementes por fruto. A casca apresenta-se rugosa, com espessura média, forte aderência e com glândulas de óleo acentuadas. A polpa é de cor laranja e textura média, com eixo sólido, às vezes semi aberto (Donadio et al., 1995).

28. Laranja Pele de Moça: : Segundo Donadio et al. (1995), sua maturação é de meia estação a tardia. A árvore tem a forma esferóide e hábito de

crescimento ereto. Apresenta altura média, densidade de folhagem média e superfície do tronco lisa. As folhas são simples, verdes, elípticas, de margem crenada e brevipeciouladas. Frutos de tamanho médio, esferóides, com ápice e base truncados, de cor laranja-forte, peso médio de 150 g, com altura igual a 5,76 cm e largura de 5,79 cm e 4 a 6 sementes/fruto. A casca apresenta superfície lisa, espessura fina, forte aderência e com glândulas de óleo medianamente acentuadas. A polpa é de cor alaranjada e tem textura firme, com eixo sólido. Suco abundante, igual a 55% do peso do fruto, com teores de sólidos solúveis igual a 10,02 °Brix, acidez - 1,59% e “ratio” de 6,31 e cor laranja forte (Donadio et al. 1995). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Alpes, Santa Lúcia; antes de 1938 segundo Moreira (1948).

29. Laranja Lamb's Summer: Segundo Hodgson (1967), esta variedade é também conhecida por Lamb, e de maturação tardia. O fruto é de pequeno a médio tamanho, ovóide a elipsóide, contém muito poucas sementes e segura bem os frutos na árvore com baixa perda de qualidade. De acordo com Webber³⁵, citado por aquele autor, esta antiga variedade foi originada como uma plântula germinada de semente num viveiro do Sr. Lamb em Volusia County e foi batizada por um vizinho, E.O. Painter, que reconheceu suas características diferentes. Ela não adquiriu, no entanto, grande importância nos EUA. Moreira & Filha³⁶ e outros especialistas brasileiros têm expresso a opinião de que Pêra, a variedade mais importante para o Brasil é, provavelmente, a própria Lamb's Summer, embora existam outras possíveis origens para esta variedade (Hodgson, 1967).

30. Laranja Pêra de Abril: Segundo Donadio et al. (1995), esta variedade é uma possível forma mutante da variedade Pêra. É de maturação precoce a meia estação. A árvore tem forma elipsóide-oblonga e hábito de crescimento aberto. Apresenta altura média, densidade da folhagem média e superfície do tronco lisa. As

³⁵ WEBBER, H.J. Cultivated varieties of citrus. In: WEEBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.) **The Citrus Industry**. Univer. Calif. Press, Berkeley and Los Angeles, v.1, 1943. p.475-668.

³⁶ MOREIRA, S.; FILHA, A.J.R. **Cultura dos citros**. Edições Melhoramentos, São Paulo, 5ª ed., 1963. 120p.

folhas são simples, verdes, de formato elíptico, de margem crenada e brevipéculadas. Os frutos de tamanho médio, com forma elipsóide, ápice e base truncados, de cor laranja, com peso médio de 174 g, altura de 7,3 cm, largura de 7,1 cm. A casca, de cor amarelo clara, apresenta superfície levemente rugosa, espessura média, forte aderência e com glândulas de óleo não acentuadas. A polpa é de cor laranja e textura firme, com eixo sólido. O suco corresponde a 41% do peso do fruto, com teores médios de 6,9 °Brix, 0,77% de acidez, 9,0 de “ratio” (Donadio et al., 1995). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio de Rio Claro, SP.

31. Laranja Pêra sem Sementes: Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Estação Experimental de Taubaté; antes de 1938 segundo Moreira (1948).

32. Laranja Perão: Segundo Donadio et al. (1995), esta variedade é de origem desconhecida, assemelha-se a algumas variedades de outros países. É de meia estação à tardia. A árvore tem a forma esferóide e hábito de crescimento aberto. Apresenta altura média, densidade da folhagem média e superfície do tronco lisa. As folhas são simples, verde-escuras, elípticas, de margem inteira e brevipéculadas. Os frutos de tamanho médio, periformes, ápice e base truncados, de cor laranja, com peso médio de 236 g, altura de 8,6 cm, largura de 7,4 cm e em torno de 6 sementes/fruto. A casca apresenta superfície rugosa, espessura média, forte aderência e com glândulas de óleo médias. A polpa é de cor laranja e textura macia, com eixo sólido. O suco corresponde a 51% do peso do fruto e possui teores médios de sólidos solúveis - 9,95 °Brix, 1,23% de acidez, 8,1 de “ratio” (Donadio et al., 1995). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, antes de 1938 segundo Moreira (1948).

33. Laranja Pêra Coroada: Designada com este nome possivelmente por apresentar depressões na casca do fruto que partem da base para o ápice em formato de coroa, o aspecto geral do fruto lembra a laranja Pêra. Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Estação Experimental de Deodoro, Rio de Janeiro.

34. Laranja Pêra Comprida: Designada com este nome possivelmente por apresentar aspecto geral do fruto que lembra a laranja Pêra, possuindo os frutos mais alongados. Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, em 1931.

35. Laranja Pêra Mel: Possivelmente designada com este nome por apresentar frutos doces que lembram a laranja Pêra.

36. Laranja Pêra Rio ou Pêra: Segundo Hodgson (1967), esta variedade apresenta fruto pequeno, de ovóide a elipsóide, com poucas sementes. Casca medianamente fina, superfícies macia e finamente colorida, firme, de textura fina; rica em suco, saborosa, tardia na maturação. Mantém-se na árvore muito bem, sem a perda da qualidade e possui boas características para armazenamento e transporte. As árvores são vigorosas, de crescimento ereto; folhagem densa, com muitas folhas das quais os pecíolos são desuniformemente alados; muito produtivas. Moreira & Filha³⁷ e outros horticulturistas brasileiros, citados por aquele autor, expressaram a opinião de que a var. Pêra é provavelmente a mesma Lamb's Summer da Flórida. Se for, ela originou-se como uma plântula oriunda de semente em Volusia County, em torno de 1897, quando ela foi descrita e recebeu o nome do proprietário. Diversos clones são reconhecidos desta variedade no Brasil, incluindo Perão, uma árvore pouco produtiva, com frutos grandes e que lembram Shamouti. Salibe, em comunicação pessoal a Hodgson, em 1964, chamou atenção para a semelhança entre Pêra e a var. Berna da Espanha. Esta variedade se tornou a principal variedade cultivada, bem como uma das mais tardias cultivadas no Brasil, principalmente nos Estados do Rio e de São Paulo (Hodgson, 1967). Segundo Figueiredo (1991), a variedade Pêra foi introduzida no Brasil há muito tempo, sendo atualmente a mais importante variedade do País; com árvores de porte médio, galhos mais ou menos eretos, folhas acuminadas. É pouco tolerante à tristeza. Sua produção é muito boa, atingindo em média 250 kg de frutos por planta. Dentre os melhores clones selecionados destacam-se o Premunizado, o

³⁷ MOREIRA, S.; FILHA, A.J.R. **Cultura dos citros**. Edições Melhoramentos, São Paulo, 5ª ed., 1963. 120p.

Olímpia, o Bianchi e o Ipiguá. Os frutos têm a forma ovalada, com três a quatro sementes e peso médio de 145 kg; a casca é de cor alaranjada, de espessura fina a média, quase lisa e com vesículas de óleo em nível. Tem polpa de cor laranja viva e textura firme. Seu suco é muito abundante, 52% de peso do fruto, com teores médios de sólidos solúveis (°Brix) - 11,8, acidez - 0,95% e “ratio” de 12,5. O destino dos frutos é para consumo ao natural, nos mercados interno e externo, ou para suco concentrado. É a variedade mais plantada no Estado de São Paulo, participando, em número de plantas, com 52% do total relativo a laranjas. Tem muito boa adaptação às condições climáticas do Estado, sendo esta mais uma razão para a cultivar ocupar a preferência dos citricultores paulistas (Figueiredo, 1991). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC antes de 1938 segundo Moreira (1948).

37. Laranja Pêra C.V.: Seleção clonal da laranja Pêra. (Ver laranja Pêra Rio).

38. Laranja Pêra Ovo: Possivelmente designada com este nome por apresentar aspecto geral dos frutos que lembram a laranja Pêra e introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC.

39. Laranja Pêra Caire: Possivelmente designada com este nome por apresentar frutos doces que lembram a laranja Pêra.

40. Laranja Pêra Ipiguá: Seleção clonal da laranja Pêra. Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda de Cassiano Otto Malle, Bebedouro, SP, em 09/04/1970.

41. Laranja Valência Late: Segundo Hodgson (1967), a variedade Valência é também conhecida como Valência Late ou Hart late. Produz fruto de tamanho médio a grande, oblongo a esférico; com anel areolar fraco ou ausente e poucas sementes ou ausentes. Os frutos maduros apresentam boa coloração, mas são susceptíveis ao esverdeamento sob certas condições; casca medianamente grossa, firme e coriácea; superfície macia. Suco abundante e sabor bom, mas comumente ácido. Frutos mantidos excepcionalmente bem nas árvores com baixa deterioração na qualidade e possui bons armazenamento e transporte. Excelente para processamento,

sendo considerada mundialmente a mais tardia entre as variedades comerciais. As árvores são vigorosas, levemente eretas, grandes e prolíficas, com grande capacidade de adaptação, mas com tendência a alternar a produção. A origem desta variedade não é a Espanha e sim foi uma introdução realizada nos EUA de plantas das ilhas Açores, as quais provavelmente originaram-se de Portugal onde possuía o nome de Don João (Galvão³⁸ e Chapot³⁹, citados por aquele autor). Possíveis variedades originadas desta, por mutação somática, são a Natal e a Folha Murcha no Brasil, Calderon na Argentina, Lue Gim Gong e Pope na Flórida e Harward da Nova Zelândia (Hodgson, 1967). De acordo com Figueiredo (1991), a suposição comum de que essa variedade é de origem espanhola não tem evidências concretas. Embora existam variedade de aparência similar na região de Valência, na Espanha, nenhuma delas de caracteriza pela maturação tão tardia da Valência. A variedade Berna, que tem maturação tardia como a Valência é, entretanto, diferente dela em vários aspectos. Ela não deve ser confundida também com a “Valência temprana”, única variedade espanhola com o nome Valência, que é de maturação precoce e apresenta frutos com tamanho pequeno, forma achatada e que também não é muito propagada. Suas árvores são de porte médio a grande, com folhagem abundante, de produção muito boa, podendo atingir mais de 200 kg de frutos por planta. A cultivar foi melhorada no Instituto Agrônômico de Campinas, tendo sido obtidos e selecionados os clones Valência IAC 36 e 38, de alta produtividade. Os frutos têm a forma quase esférica, com cinco a seis sementes e peso médio de 150g; a casca é de cor forte, de espessura média e vesículas de óleo quase em nível. A polpa é de cor laranja carregada e apresenta textura firme. O suco representa 50% do peso do fruto, com teores médios de sólidos solúveis (°Brix) - 11,8, acidez - 1,05% e “ratio” de 11,2. O destino dos frutos é para consumo ao natural, nos mercados interno e externo, ou para a indústria de suco. Ocupa lugar de destaque na preferência de citricultores, pela sua boa produtividade e tamanho de

³⁸ GALVÃO, J.M. Estudo da variedade de laranja serodes chamada de D. João. Dir. Gen. Serv. Agric., Brig. Tec. da XIV Regias [Beja]. Folha Divulgação, Ser. II, v.37, n.14, 12p. 1943.

³⁹ CHAPOT, H. L'orange Don João et l'orange Valencia Late. Cah. Rech. Agron. [Rabat] n.18, p.113-116, 1993c.

frutos, principalmente nas regiões de Limeira, participando, em número de plantas, com 9% dentro do grupo das laranjas (Figueiredo, 1991). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP, em 1931.

42. Laranja Valência Variegada: Planta originada como mutação somática da laranjeira Valência, trata-se de uma quimera combinando nas folhas, levemente variegadas, as cores verde escura e clara, introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC. (ver laranja Valência).

43. Laranja Natal: Segundo Hodgson (1967), ela produz fruto de tamanho médio, globoso a largamente obovóide; muito poucas sementes; de coloração pálida, amarelo-alaranjado; polpa pálida; macia, textura fina, rica em suco; frutos saborosos e aromáticos quando maduros, devido à elevada acidez. Boa qualidade de transporte. Maturação muito tardia. As árvores são vigorosas, grandes e produtivas. A origem desta variedade é desconhecida, mas existem forte indícios de se tratar de uma mutação somática da var. Valência no Brasil, devido às semelhanças entre as plantas e frutos de ambas (Hodgson, 1967). Segundo Figueiredo (1991), esta laranja é de origem desconhecida, essa variedade brasileira assemelha-se muito à Valência nas características do fruto e da planta e admite-se que ela seja, provavelmente, uma mutação da laranja Valência. Suas árvores são de grande porte, com copa arredondada e folhagem abundante. Sua produtividade comum atinge mais de 250 kg de frutos por planta. A cultivar foi melhorada no Instituto Agrônomo de Campinas, onde foi obtido e selecionado clone nucelar. Os frutos são de forma arredondada, com três a quatro sementes e com peso médio de 140 g; a casca é de cor laranja clara, de espessura fina a média e vesículas de óleo em nível. Tem polpa de cor alaranjada e textura firme. O suco é abundante, 50% do peso do fruto, com teores médios de sólidos solúveis (°Brix) - 12, acidez - 1% e “ratio” de 12. O destino dos frutos é para consumo ao natural, nos mercados interno e externo ou para suco concentrado. Ocupa em São Paulo o segundo lugar em importância dentro do grupo de laranja doce, vindo logo depois da laranja Pêra, participando, em número de

plantas, com 30% dentro do grupo das laranjas (Figueiredo, 1991). Foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio da Fazenda Reserva, Araras, SP.

44. Laranja Natal Bebedouro: Trata-se de clone da conhecida laranja Natal, de clone velho, que foi introduzida no BAG-citros do CCSM/IAC, por meio de Bebedouro, SP. (ver laranja Natal).

3.1 Seleção de clones de laranja 'Pêra' e variedades assemelhadas quanto à qualidade do fruto e período de maturação⁴⁰

O **experimento 1**, encontrava-se no 12º, 13º e 14º anos de produção (anos agrícolas de 1995 a 1997). As avaliações foram realizadas no laboratório de qualidade de frutos do CCSM/IAC, quinzenalmente, de junho a dezembro de cada ano, em amostras de 18 frutos coletados, 3 por planta, na porção mediana da copa. Os caracteres avaliados foram: peso médio (g), altura média (cm), largura média (cm) e relação altura/largura de fruto, número de frutos por caixa (40,8 kg), porcentagem de suco, de acidez, sólidos solúveis (°Brix), "ratio" e quantidade de sólidos solúveis por caixa de 40,8 kg, onde: $\text{kgSS/cx} = \text{°Brix} \times \% \text{ Suco} \times 40,8 \div 10.000$ (segundo Di Giorgi et al., 1990). A determinação da acidez foi feita titulando-se uma alíquota de 25 ml de suco, até pH 8,2, com solução de NaOH 0,3125 N. O teor de açúcares totais presentes no suco foi expresso em °Brix, foi determinado com o auxílio de um refratômetro de mesa e as leituras corrigidas em função da acidez do suco (Reed et al., 1986). Foi realizada a análise de variância, e as médias contrastadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo programa SANEST⁴¹. Devido a se tratar de metodologia nova, os resultados obtidos para o ano de 1995 foram previamente publicados (Domingues et al., 1996c, 1997a, 1997b).

⁴⁰ DOMINGUES, E.T.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; TULMANN NETO, A.; MATTOS JUNIOR, D. Seleção de clones de laranja 'Pêra' e variedades assemelhadas - qualidade do fruto e período de maturação. *Laranja*, v.20, 1999. (encaminhado para publicação em Jul. 1997). (Apresentado parcialmente na 19ª Semana da Citricultura do CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP, em 17/06/1997).

⁴¹ ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. *Sistema de análise estatística (SANEST)*. (software).

Por meio dos dados avaliados, padronizados, foi realizada análise multivariada. Foram estudadas as correlações, médias de 1995 a 1997, entre os diferentes caracteres avaliados e apresentadas no texto as significativas e aparentemente mais importantes (correlação produto-momento de Pearson, para $p < 0,05$). Foram realizadas as análises dos componentes principais por meio das quais pôde-se quantificar a importância dos caracteres para explicar a variância constatada e, pelos componentes, que são ortogonais entre si e portanto não correlacionados, os genótipos foram agrupados quanto ao grau de similaridade pela técnica UPGMA e distâncias Euclidianas. A análise multivariada obedeceu as técnicas descritas por Crisci & Armengol (1983), Cruz (1984 e 1990) e Manly (1994) e foi realizada pelo programa “Statistica” para “Windows” (Stat Soft, 1993).

A partir dos dados de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), percentual de acidez e “ratio”, foram obtidas as equações de regressão para cada genótipo, em função do número de dias acumulados após início das análises de laboratório pelo programa Excel, versão 5.0 (Soft-Art, 1985-1994). Uma vez que é difícil a separação dos clones mais precoces ou mais tardios pela observação das curvas de maturação adotou-se a análise multivariada com o uso da técnica de agrupamento para ordená-los adequadamente. Como a safra normal da variedade Pêra é colhida de julho a novembro no Estado de São Paulo (Figueiredo, 1991), foi definido realizar a análise de agrupamento dos clones e variedades entre outubro e novembro, quando a maioria já teria os frutos em estágio de maturação avançada, e utilizando dados estimados somente de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) e de percentual de acidez, já que o “ratio” é variável dependente destas (Domingues et al., 1996c, 1997a e 1997b). Foram adotados os dados de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) e de percentual de acidez estimados, por meio das respectivas equações de regressão, para os dias 23 e 28 de outubro e 02 de novembro, ou seja, em torno de 140 dias do início das análises para os anos de 1995 a 1997.

Os dados estimados foram padronizados e utilizou-se a técnica UPGMA de agrupamento (pares ordenados pela média aritmética não ponderada) e a distância

Euclidiana para a obtenção de dendrograma. A definição dos grupos de maturação pela análise de agrupamentos foi realizada pela adoção de uma separatriz correspondente a um valor de distância Euclidiana que permitisse separar adequadamente os grupos formados. Para estes grupos foram obtidas, então, novas equações de regressão de sólidos solúveis (°Brix), acidez e “ratio” para cada grupo, com base nas equações individuais previamente obtidas. Com a finalidade de testar a estabilidade de resultados em diferentes safras, os resultados finais foram comparados aos preliminares (Domingues et al., 1996c, 1997a, 1997b).

Foram adotados valores médios, mínimos e máximos de peso, altura, largura e relação altura/largura de fruto, número de frutos por caixa (40,8 kg), porcentagem de suco, acidez, sólidos solúveis (°Brix), “ratio” e kgSS/cx; aceitáveis para frutos da variedade ‘Pêra’ na região de Limeira, no período de junho a dezembro. Estes valores foram calculados levando-se em consideração os resultados apresentados por Coelho (1984), Figueiredo (1991), Viégas (1991) e Nonino (1994). Os genótipos que apresentaram valores médios dentro do intervalo adotado para cada caracter recebeu nota 1, se acima, recebeu o sinal >, e se inferior, recebeu o sinal <. A laranja ‘Pêra’ ideal, portanto, deve se enquadrar nos intervalos adotados para cada caracter, recebendo então o índice 10 de seleção. A seleção dos clones de laranja ‘Pêra’ e as variedades assemelhadas foi baseada neste índice e nos grupos de maturação obtidos.

3.2 Seleção de variedades de laranja doce quanto à qualidade do fruto e período de maturação

O **experimento 2**, encontrava-se no 6º, 7º e 8º anos de produção (anos agrícolas de 1995 a 1997). As avaliações foram realizadas no laboratório de qualidade de frutos do CCSM/IAC, quinzenalmente, de junho a dezembro de cada ano, em amostras de 15 frutos coletados, 5 por planta, na porção mediana da copa. Os caracteres: peso médio (g), altura média (cm) e largura média de frutos (cm), número

de frutos por caixa (40,8 kg), porcentagem de suco, de acidez, sólidos solúveis (°Brix), “ratio” e quantidade de sólidos solúveis por caixa de 40,8 kg, foram avaliados de maneira semelhante ao experimento anterior. Também a análise multivariada, as correlações médias para os diferentes caracteres avaliados, a análise dos componentes principais, a quantificação da importância dos caracteres na explicação da variância observada e a análise de agrupamentos foram semelhantes àquela.

A partir dos dados de sólidos solúveis (°Brix), percentual de acidez e “ratio”, foram obtidas as equações de regressão para cada genótipo, em função do número de dias acumulados após início das análises de laboratório; e a análise de agrupamentos foi utilizada para ordenar os genótipos adequadamente. Como a safra normal de algumas das variedades de laranja doce estudadas iniciam-se em março e de outras prolongam-se até dezembro, ou mais, no Estado de São Paulo (Figueiredo, 1991), foi definido realizar a análise de agrupamento dos genótipos entre julho e agosto, quando a maioria teria frutos em estágio de maturação, e utilizando dados estimados somente de sólidos solúveis (°Brix) e de acidez, já que o “ratio” é variável dependente destas (Domingues et al., 1996c, 1997a e 1997b). Foram adotados os dados de sólidos solúveis (°Brix) e percentual de acidez estimados, por meio das respectivas equações de regressão, para os dias 26 e 31 de julho e 05 de agosto, ou seja, em torno de 55 dias do início das análises para os anos de 1995 a 1997. Estes dados estimados padronizados permitiram o agrupamento dos genótipos pela técnica UPGMA e distância Euclidiana. A repetibilidade dos resultados para cada safra foi avaliada.

Para efeito de seleção dos melhores genótipos, com base nos caracteres avaliados, foram estabelecidos intervalos “ideais” para esses caracteres. Foram adotados valores médios, mínimos e máximos de peso, altura, largura e relação altura/largura de fruto, número de frutos por caixa (40,8 kg), porcentagem de suco, de acidez, sólidos solúveis (°Brix), “ratio” e kgSS/cx, aceitáveis para frutos de laranja doce na região de Limeira, no período de junho a dezembro. Como explicado no experimento anterior, as variedades que apresentaram médias dentro dos intervalos

adotados para estes caracteres, somaram o índice 10 e foram selecionadas. A seleção das 44 variedades foi baseada neste índice e nos grupos de maturação obtidos.

3.3 Poliembrionia em clones de laranja Pêra e variedades assemelhadas⁴²

O **experimento 1** amostrado, se encontrava no 12^o ano de produção (ano agrícola de 1995). Foram retiradas sementes de 18 frutos coletados na porção mediana da copa de cada um dos 17 genótipos estudados.

Avaliou-se a taxa de poliembrionia pela contagem direta dos embriões nas sementes e por meio da germinação de sementes em casa de vegetação, baseando-se em metodologia descrita por Moreira & Gurgel (1947) e Gurgel & Soubiê Sobrinho (1951). As sementes, retiradas de frutos maduros, foram secas ao ar. A contagem direta de embriões na semente foi feita, no Laboratório de Radiogenética do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), por meio da retirada da testa e do tegmen de 16 sementes por variedade e da contagem dos embriões com cotilédones visíveis, sob lupa. A semeadura foi realizada em outubro de 1995, com 24 sementes de cada genótipo, em substrato Plantimax adubado com Osmocot (80g do adubo de formulação 17:9:11 para cada 18 litros do substrato), individualmente, à profundidade média de 1 cm, em bandejas de isopor (120 “células” com 16 cm² de área superficial e 10 cm de profundidade). As bandejas foram mantidas em telado do CCSM/IAC, sob boa iluminação, ventilação e umidade adequados para a germinação.

As avaliações foram iniciadas 20 dias após a semeadura e continuaram por 40 dias. Anotou-se dados referentes ao número de sementes germinadas por tratamento e número de embriões germinados por semente, obtendo-se a taxa de germinação e de poliembrionia. Por meio do percentual de sementes germinadas por variedade e do número de embriões por semente germinada, calculou-se as taxas de germinação e de poliembrionia. Obteve-se, ainda, o peso simples de 30 sementes secas ao ar. Foi realizada a análise de variância para o número de sementes

⁴² DOMINGUES, E.T.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; TULMANN NETO, A. Estudo da poliembrionia em diferentes clones de laranja Pêra e variedades assemelhadas. *Bragantia*, 1997. /No prelo/.

observadas por fruto, número de embriões observados por semente [dados transformados segundo $\sqrt{(x + 0,5)}$] e taxa de poliembria nas sementes [percentuais calculados, transformados segundo arco seno $\sqrt{(x / 100)}$]. As médias foram contrastadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para os demais dados foram apresentadas as médias ou percentuais devido a taxa de germinação variável interferir no número de repetições. O número médio de embriões por semente germinada foi calculado pela relação do total de embriões germinados pelo total de sementes germinadas. A taxa de poliembria foi calculada pela relação entre o número de sementes com mais de um embrião observado ou germinado pelo total de sementes avaliadas ou germinadas por variedade. A análise de correlação, produto-momento de Pearson, entre as médias dos caracteres foi realizada a 5% de probabilidade.

3.4 Estudo da poliembria em 44 variedades de laranja doce⁴³

O estudo da poliembria foi realizado nas variedades do **experimento 2**, no 6º ano de produção, ano agrícola de 1995, por meio da contagem direta de cotilédones visíveis nas sementes e por meio da germinação em casa de vegetação, de maneira semelhante ao experimento descrito anteriormente.

Para a germinação *in vitro*, no Laboratório de Radiogenética-CENA/USP, foram coletadas, com pinça e bisturi, 24 sementes de frutos desinfetados, em câmara de fluxo laminar, com álcool absoluto e flambagem. Estas sementes foram colocadas para germinar sobre meio de cultura sólido, contendo macro e micronutrientes, segundo Murashige & Skoog (1962), sem fitoreguladores e incubadas em sala de crescimento sob temperatura controlada ($26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e sob condições de 16 horas de luz (intensidade luminosa de 30 W/m^2). Foi realizada análise de variância, semelhantemente ao exposto no experimento anterior, e as médias foram contrastadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para os demais

⁴³ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; FINA, B.G. Study of polyembryony for sweet orange varieties. *Revista Brasileira de Genética*, 1997. (encaminhado para publicação em Jul. 1997).

dados foram apresentadas as médias ou percentuais. O número médio de embriões germinados por semente, em casa de vegetação e *in vitro*, foi calculado pela relação do total de embriões germinados pelo total de sementes germinadas. A taxa de poliembrião foi calculada pela relação entre o número de sementes com mais de um embrião observado ou germinado pelo total de sementes avaliadas ou germinadas por variedade. A análise de correlação, produto-momento de Pearson, entre as médias dos caracteres foi realizada a 5% de probabilidade.

3.4.1 Pêra de Abril, uma variedade de laranja doce monoembriônica.

No experimento, que visava avaliar a intensidade de poliembrião em genótipos de laranja doce, foi encontrada a variedade Pêra de Abril como monoembriônica. Possivelmente a primeira citação de variedade monoembriônica em laranja doce. Para confirmação dos resultados, em outubro de 1996, foram semeadas mais 150 sementes dessa variedade em substrato, e *in vitro*, de maneira semelhante ao já exposto anteriormente. Avaliou-se o polimorfismo morfológico dos “seedlings” de progênie obtida sob polinização aberta no banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC, e comparou-se com a planta mãe. Para isto foram avaliados comprimento e largura de folha e de pecíolo, presença de folhas trifoliadas e de espinhos nas plântulas, 5 meses após germinação, em maio de 1997. A partir dos quais foram calculadas as relações: comprimento de folha/ largura de folha, comprimento do pecíolo/ largura do pecíolo, comprimento de folha/ comprimento do pecíolo, largura de folha/ largura de pecíolo. Por estes últimos dados calculados e pela presença ou ausência de folhas trifoliadas, os genótipos e a variedade Pêra de Abril foram agrupados pela distância Euclidiana e método UPGMA .

Para confirmar a origem zigótica das plântulas, foram utilizados os sistemas PRX, ACP, ADH, GOT, EST e MDH para comparar a variedade Pêra de Abril com os “seedlings” da mesma, obtidos por polinização aberta no banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC. Para isto foram escolhidas plântulas com

maior semelhança morfológica entre si, portanto, os de menor probabilidade de serem híbridos. O estudo do polimorfismo isoenzimático foi avaliado, em dezembro de 1996, no Laboratório de Genética Ecológica da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP, em Piracicaba, SP. Para a análise de isoenzimas foram adotadas metodologias desenvolvidas e/ou adaptadas por Veasey (1998). Foram usados os sistemas-tampão gel/eletrodo à base de Lithium-Borato (LB), pH 8,3 (Wendel & Weeden, 1990), para as enzimas peroxidase (PRX), esterase (EST) e glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT), e à base de Tris-Citrato (TC), pH 7,5 (Soltis et al., 1983), para as enzimas álcool desidrogenase (ADH), fosfatase ácida (ACP), Malato desidrogenase (MDH) seguindo metodologias adaptadas de Brewbaker et al. (1968), Scandilios (1965), Alfenas et al. (1991) e Brewer & Sing (1970) (Anexo D).

Folhas jovens, da segunda inserção acima das folhas cotiledonares, foram utilizadas como amostras. Aproximadamente 1/3 destas folhas, coletadas no dia das análises, foram macerados com 2 a 3 gotas de água destilada, com o auxílio de um bastão de vidro, em “cadinhos”, em placa de acrílico resfriada, mantida sobre formas de gelo durante o processo de extração. Maiores detalhes da metodologia empregada estão detalhadas a seguir no item 3.10.

A matriz de similaridade gerada foi obtida pelo índice de similaridade de Jaccard utilizando-se o programa computacional NTSYS - “Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System” (Rohlf, 1992). Dendrogramas foram obtidos utilizando-se o método UPGMA, de acordo com Sneath & Sokal (1973), Crisci & Armengol (1983) e Manly (1994).

3.5 Estudo da viabilidade de pólen em clones de laranja Pêra e outras variedades assemelhadas⁴⁴

Foi realizada a avaliação da viabilidade do pólen dos 11 clones de laranja 'Pêra' e de 6 variedades assemelhadas à 'Pêra' (**experimento 1**), no 12º ano de produção (ano agrícola de 1995). Foram coletados 12 botões florais em máximo desenvolvimento, antes da antese, de seis árvores por variedade. Os botões foram mantidos em placas de Petri até a abertura floral, o que levou aproximadamente 24 h. Após a abertura dos botões, as anteras foram coletadas, com o auxílio de pinças e armazenadas em placas de Petri até a deiscência e liberação do pólen, o qual foi acondicionado em tubos 'eppendorf' e coberto com solução indicada por Santos⁴⁵ (3:1 de álcool absoluto e ácido acético). Após 24 horas estes tubos 'eppendorf' foram mantidos em geladeira a aproximadamente 4°C.

Os estudos sobre a viabilidade do pólen foram feitos no Laboratório da Seção de Radiogenética do CENA/USP, por meio da coloração dos grãos de pólen com carmim acético a 25% e da contagem dos grãos de pólen viáveis e não viáveis, sob microscópio ótico, seguindo metodologia apresentada por Moreira⁴⁶ & Gurgel (1941). As lâminas foram levemente aquecidas sobre chama para melhoria da coloração antes da contagem. Avaliou-se 6 lâminas preparadas para cada um dos genótipos e foram feitas três leituras para cada lamínula, em cada leitura obteve-se um número de grãos de pólen viáveis e outro de grãos de pólen inviáveis, sendo realizadas fotos ilustrativas. Foram calculados os percentuais de pólen viável e não viável por variedade e realizada a análise de variância [percentuais, transformados segundo arco seno $\sqrt{(x / 100)}$].

⁴⁴ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Estudo da viabilidade de pólen em clones de laranja Pêra e outras variedades assemelhadas. *Revista Ciência Rural*. Universidade Federal de Santa Maria. 1997. (encaminhado para publicação em Ago. 1997).

⁴⁵ SANTOS, J.A. Comunicação pessoal, 1996.

⁴⁶ MOREIRA, S. Exame e contagem de pólen. In: RELATÓRIO da Seção de Citricultura. Campinas, I.A.E., 1940. p.53-62.

Foram estudadas as possíveis correlações (produto-momento de Pearson, para $p < 0,05$) entre o percentual de pólen viável com produção média de frutos por planta (utilizando dados obtidos por Teófilo Sobrinho et al., 1992, e Domingues et al., 1997b), número médio de sementes por fruto e percentual de poliembrionia nas sementes (utilizando dados obtidos por Domingues et al., 1997c) para os clones e variedades estudados.

3.6 Viabilidade do pólen em variedades de laranja doce⁴⁷

Para estudo da viabilidade de pólen foram coletadas flores das 44 variedades pertencentes ao **experimento 2**, no 6º ano de produção (ano agrícola de 1995). A partir de 12 botões florais em máximo desenvolvimento, coletados antes da antese, de três árvores por variedade, foi realizada a coleta e o armazenamento do pólen, de maneira semelhante ao relatado no experimento anterior.

Os estudos sobre a viabilidade do pólen foram feitos no Laboratório de Radiogenética do CENA/USP, como descrito anteriormente, seguindo metodologia apresentada por Moreira & Gurgel (1941). As lâminas foram levemente aquecidas sobre chama para melhoria da coloração antes da contagem. Foram avaliadas 6 lâminas para cada uma das 44 variedades e realizadas três leituras em cada lamínula, de cada leitura obteve-se um número de grãos de pólen viáveis e outro de grãos de pólen inviáveis, sendo realizadas fotos ilustrativas. Seguindo metodologia adotada por Moreira & Gurgel (1941), foram calculados os percentuais de pólen viável e de pólen inviável para cada leitura, considerando-se a somatória destes valores igual a 100% e, por meio destes dados realizou-se a análise de variância [percentuais, transformados segundo arco seno $\sqrt{(x / 100)}$] e as médias foram contrastadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O número de grãos de pólen não foram utilizados diretamente para a análise estatística pois a metodologia usada não visou determinar diferenças na

⁴⁷ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Estudo da viabilidade de pólen em 44 variedades de laranja doce (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck). *Scientia Agricola*, 1997. /No prelo/.

quantidade total de pólen produzida por cada variedade. Foram estudadas as possíveis correlações (produto-momento de Pearson, para $p < 0,05$) entre o percentual de pólen viável com número de frutos estimados na projeção de 1 m² de copa (usando dados de Domingues et al, 1998d), número de sementes, peso de sementes, número de embriões por semente e percentual de poliembrião, segundo dados de Domingues et al. (1996b e 1996d).

3.7 Influência da polinização e da morfologia floral na frutificação de variedades de laranja doce⁴⁸

Para estudo da polinização em laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, foram utilizadas 34 das 44 variedades que compõe o **experimento 2**. Estas foram: Lima, Lima Tardia, Lima Verde, Lima Lisa, Baianinha Piracicaba, Washington Navel, Baiana Retiro, Baianinha 23-4-60, Lanceta Barão, Do Céu-1, Diva, Cametá, Seleta Branca, Seleta Vermelha, Imperial, Hamlin Reserva, Hamlin, Hamlin Variegada, Blood Oval, Sangüínea de Mombuca, Cipó, Non Pareil, Pele de Moça, Pêra sem Sementes, Perão, Pêra Coroada, Pêra Comprida, Pêra Mel, Pêra Rio, Pêra C.V., Pêra Ovo, Pêra Caire, Valência Variegada e Natal Bebedouro.

Devido à seca ocorrida no período da florada principal, em agosto de 1995, com a consequente derrubada das flores e “chumbinhos”, a polinização foi realizada em nova florada ocorrida no início de novembro do mesmo ano. As flores fornecedoras de pólen foram coletadas com 24 horas de antecedência, do tangeleiro Minneola e do citrangeiro Troyer. O tangelo Minneola é um híbrido do pomelo Duncan e da tangerineira Dancy; produzido na Flórida, foi nomeado e distribuído para cultivo em 1931 (Hodgson, 1967). O citrange Troyer é híbrido da laranja Bahia (Washington Navel) com pólen de Trifoliata, obtido por E.M Savage, sob a orientação de W.T. Swingle, em Riverside, Califórnia, em 1909. Recebeu este nome de Swingle em 1934, em homenagem a A.M. Troyer, dono da propriedade no

⁴⁸ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A. Influência da polinização e da morfologia floral na frutificação de variedades de laranja doce.). *Scientia Agricola*, 1997. /No prelo/.

Alabama (EUA) onde foi testado. Como todo citrange, esse associa as características do trifoliata, de grande vigor, com a adaptabilidade a diferentes solos da laranja doce (Hodgson, 1967).

As flores ficaram em placas de Petri individuais até a abertura das mesmas quando foram coletadas as anteras, com o auxílio de pinças flambadas, e armazenadas em novas placas de Petri assépticas, evitando-se também a contaminação com pólen de outras origens. Estas foram conservadas em sílica gel para a dessecação e abertura das anteras e liberação do pólen. Este pólen foi transportado em pequenas placas de Petri ao campo onde foi realizada a polinização.

Foram utilizadas 15 flores em máximo desenvolvimento, antes da antese, por variedade, para 5 tratamentos realizados, sendo eles: 1. Flores testemunhas, as quais ficaram sujeitas tanto à autopolinização como à polinização cruzada pelo vento ou pela ação de agentes polinizadores, como abelhas; 2. Flores emasculadas e ensacadas, cujas anteras foram retiradas, antes da antese, com auxílio de estiletes e pinças; 3. Flores autopolinizadas e ensacadas, onde as flores foram polinizadas com pólen de flores da própria planta e não foram emasculadas; 4. Flores polinizadas com pólen do tangeleiro Minneola (*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus paradisi* Osbeck) e ensacadas; e 5. Flores polinizadas com pólen do citrangeiro Troyer (*Citrus sinensis* Osbeck x *Poncirus trifoliata* [L.] Raf.) e ensacadas. Todos os tratamentos foram marcados com fitas de cores diferentes, para facilitar a identificação em campo. Durante o desenvolvimento dos frutos, após a fase tipo “chumbinho”, foram calculados os percentuais de fixação dos frutos originados dos diferentes tratamentos.

A posição relativa das anteras em relação ao estigma nas flores das variedades também foi avaliada. Se posicionadas acima do estigma, receberam nota 1; se na mesma altura, nota 2; e se abaixo, nota 3. Estas avaliações foram feitas com os botões florais em máximo desenvolvimento, antes da antese, dissecando os mesmos com a ajuda de pinça e bisturi. As distâncias das anteras ao estigma e o comprimento dos pistilos, da base do ovário até o estigma, foram medidos (mm). Estas avaliações

foram feitas com base na florada de agosto de 1995. Foram coletadas 15 flores das 3 repetições de cada variedade, na porção mediana das copas. As medições foram feitas com régua milimetrada e paquímetro. Para estas avaliações foram realizadas análises de variância e as médias foram contrastadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foram avaliadas as possíveis correlações entre estes caracteres avaliados com a fixação de frutos sob polinização aberta, e destes com o percentual de pólen viável, com o número médio de sementes por fruto e com o percentual de poliembrião obtido pela contagem dos embriões nas sementes (dados obtidos por Domingues^{49, 50} et al., 1996b e 1996d) das variedades de laranja doce estudadas. Foi utilizada a correlação linear de Pearson, a 5% de probabilidade.

Após o desenvolvimento e maturação, em meados de setembro de 1996, os frutos originados dos cruzamentos (tratamentos 4 e 5) foram colhidos no banco de germoplasma de *Citrus* do Centro de Citricultura Sylvio Moreira do Instituto Agrônomo, em Cordeirópolis, e levados ao Laboratório de Radiogenética do CENA/USP, para germinação das sementes *in vitro*. Isto foi realizado para a avaliação futura dos possíveis híbridos inter-específicos obtidos e com esta finalidade, como controle, também foram coletados frutos dos parentais fornecedores de pólen, tangeleiro Minneola e do citrangeiro Troyer.

Foram coletadas, com pinça e bisturi, as sementes dos frutos desinfetados, em câmara de fluxo laminar, com álcool absoluto e flambagem. Estas sementes foram colocadas para germinar sobre meio de cultura sólido, contendo macro e micronutrientes, segundo Murashige & Skoog (1962), sem fito-reguladores e incubadas em sala de crescimento sob temperatura controlada ($26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e sob condições de 16 horas de luz (intensidade luminosa de 30 W/m^2). Após a germinação as plântulas originadas foram mantidas sob trocas de meio até maio de

⁴⁹ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Estudo da viabilidade de pólen em 44 variedades de laranja doce (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck). *Scientia Agricola*, 1997. /No prelo/.

⁵⁰ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; FINA, B.G. Study of polyembryony for sweet orange varieties. *Revista Brasileira de Genética*, 1997. (encaminhado para publicação em Jul. 1997).

1997, quando foram avaliados morfológicamente os possíveis híbridos, os quais deverão ser aclimatados em solo para separação das plântulas nucelares das zigóticas, por meio do polimorfismo isoenzimático.

3.8 Caracterização morfológica de 11 clones de laranja Pêra e 6 variedades assemelhadas⁵¹

Os dados foram coletados dos 17 genótipos do **experimento 1**. A caracterização morfológica baseou-se, principalmente, em caracteres apresentados nos descritores do IBPGR (1988). As diferentes etapas da caracterização morfológica foram realizadas, em sua maior parte, no CCSM/IAC, em Cordeirópolis, SP. e no laboratório de Radiogenética do CENA/USP em Piracicaba, SP.

3.8.1 Caracterização morfológica das árvores

A caracterização morfológica das árvores foi realizada de junho a julho de 1995 e baseada em características que permitissem estimar a dimensão, o desenvolvimento vegetativo, a densidade de enfolhamento, a produção de frutos nesta época. As medições foram feitas com réguas e fitas métricas e as medidas tomadas em metros. O cálculo do volume de copa foi feita de acordo com Mendel (1956), utilizando a fórmula $V = \frac{2}{3}\pi R^2 H$ onde V representa o volume da copa, R o raio médio e H a altura da copa. A estimativa da densidade de enfolhamento feita na porção mediana das copas, nos quadrantes norte, sul, leste e oeste das mesmas, por meio de contagens, sob a projeção de um quadro de madeira de área conhecida (0,50 m x 0,50 m) da superfície da copa até o centro da mesma. Os caracteres avaliados foram os seguintes:

- 1.1. Altura de planta ou árvore, tomada em metros.
- 1.2. Altura de copa (H), tomada em metros.

⁵¹ DOMINGUES, E.T.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; TULMANN NETO, A. Caracterização morfológica de 11 clones de laranjeira Pêra e 6 variedades assemelhadas. (encaminhado para publicação a partir de Dez. 1997 - PAB).

- 1.3. Largura de copa (2R), média dos valores tomados na direção da linha e perpendicular a esta (m).
- 1.4. Volume da copa (V), tomado em m^3 , onde $V = \frac{2}{3}\pi R^2 H$
- 1.5 Circunferência de tronco da planta, tomada em metros, 0,10 m acima da enxertia (m)
- 1.6 Circunferência de tronco da planta, tomada em metros, 0,10 m abaixo da enxertia (m)
- 1.7. Número de folhas estimado na projeção de $1 m^2$, na porção mediana da copa, tomado na projeção de um quadro de madeira, medindo 0,50 m x 0,50 m, até o centro da copa, nos quadrantes leste e oeste.
- 1.8. Produção média em 8 anos segundo Teófilo Sobrinho et al. (1992) e Domingues et al. (1997b)

3.8.2 Caracterização morfológica das folhas

A caracterização morfológica das folhas foi feita com base em caracteres avaliados qualitativa e quantitativamente, para aquelas inseridas na quarta posição, do ápice para a base dos ramos, colhidas na porção mediana da planta, de março a abril de 1995. Foram tomadas 18 folhas maduras por clone ou variedade, sendo 3 de cada repetição. As medições foram feitas com paquímetros e réguas milimetradas e as medidas tomadas em milímetros. Os caracteres avaliados foram:

- 2.1. Ciclo vegetativo da folha: 1. persistente; 2. decídua
- 2.2. Tipo de folha: 1. simples; 2. composta (trifoliada)
- 2.3. Cor da folha: 1. verde claro; 2. verde; 3. verde escuro; 4. variegada
- 2.4. Formato da folha: 1. lanceolada; 2. elíptica; 3. ovada; 4. obovada; 5. orbicular
- 2.5. Comprimento da lâmina ou limbo foliar (sem o pecíolo) (mm)
- 2.6. Largura da lâmina ou limbo foliar (mm), tomada no ponto mais largo
- 2.7. Comprimento da folha, incluindo pecíolo (mm).
- 2.8. Margem foliar: 1. lisa; 2. ondulada; 3. crenada; 4. dentada; 5. serrilhada
- 2.9. Formato do ápice da folha: 1. aguda; 2. acuminada; 3. emarginada
- 2.10. Formato da base da folha: 1. cuneada; 2. atenuada; 3. obtusa
- 2.11. Número de glândulas de óleo no ápice da lâmina foliar/ $9,6 mm^2$, utilizando marcador com 3,5 mm de diâmetro
- 2.12. Número de glândulas de óleo na porção mediana da lâmina foliar/ $9,6 mm^2$, utilizando marcador com 3,5 mm de diâmetro
- 2.13. Número de glândulas de óleo na base da lâmina foliar/ $9,6 mm^2$, utilizando marcador com 3,5 mm de diâmetro
- 2.14. Tipo do pecíolo (comprimento relativo do pecíolo em relação à lâmina foliar):
1. sésil (s/ pecíolo); 2. brevipéculada (pecíolo menor que a lâmina foliar); 3. longipéculada

- 2.15. Comprimento do pecíolo (mm)
- 2.16. Relação do comprimento do pecíolo/ comprimento da lâmina foliar
- 2.17. Tipo da asa do pecíolo: 0. ausente; 1. muito estreitas; 2. estreitas; 3. medianas; 4. largas; 5. muito largas
- 2.18. Comprimento da asa do pecíolo (mm)
- 2.19. Largura da asa do pecíolo (mm)
- 2.20. Formato das asas do pecíolo: 1. cordiforme; 2. deltóide; 3. obovada; 4. cuneada

3.8.3 Caracterização morfológica das flores

A caracterização morfológica das flores foi feita com base em caracteres avaliados qualitativa e quantitativamente. Foram coletados 18 botões florais em máximo desenvolvimento antes da antese (abertura floral), de cada clone ou variedade, 3 de cada repetição, na porção mediana das plantas na florada de agosto-setembro de 1995. As medições foram feitas com paquímetros e réguas milimetradas e as medidas tomadas em milímetros. Os caracteres avaliados foram:

- 3.1. Arranjo das flores: 1. solitárias; 2. em inflorescência
- 3.2. Posição da flor ou inflorescência: 1. axilar; 2. terminal
- 3.3. Tipo de inflorescência: 1. panícula; 2. racemo; 3. corimbo; 4. outra
- 3.4. Comprimento do pedicelo (mm)
- 3.5. Cor dos botões florais: 1. esverdeada; 2. branca; 3. amarela; 4. púrpura; 5. rosada; 6. outra
- 3.6. Comprimento do botão floral em máximo desenvolvimento antes da antese
- 3.7. Largura do botão floral em máximo desenvolvimento antes da antese
- 3.8. Cor das flores abertas: 1. branca; 2. creme; 3. rosa; 4. outras
- 3.9. Comprimento da pétala (mm)
- 3.10. Largura da pétala (mm)
- 3.11. Número de estames
- 3.12. Comprimento do estame, tomado da base do filete até o ápice da antera.
- 3.13. Comprimento do gineceu, tomado da base do ovário até o ápice do estigma.
- 3.14. Posição das anteras em relação ao estigma: 1. acima; 2. na mesma altura; 3. abaixo do estigma.
- 3.15. Posição das anteras em relação ao estigma (notas do item anterior avaliadas quantitativamente).
- 3.16. Distância da antera até o estigma (mm)
- 3.17. Estágio das flores na data de 1 a 4 de setembro de 1995: 0. ausência de flores e botões; 1. poucos botões; 2. predominância de botões; 3. predominância de flores abertas; 4. flores cadentes; 5. predominância de chumbinhos
- 3.18. Número de sépalas
- 3.19. Número de pétalas

3.20. Percentual de pólen viável segundo Domingues⁵² et al.

3.8.4 Caracterização morfológica dos frutos

A caracterização morfológica de frutos foi feita com base em caracteres avaliados qualitativa e quantitativamente, em frutos colhidos no mês de julho de 1995, ano em que os frutos adquiriram boa coloração devido ao frio mais pronunciado daquele inverno e permitiram fotos e diapositivos⁵³ de boa qualidade (Domingues, 1996). Foram coletados 18 frutos de cada variedade na altura mediana das copas das árvores. Foram feitas medições com paquímetros e réguas milimetradas (mm), pesagens em balança de laboratório (g) e contagens para os caracteres avaliados quantitativamente. Os caracteres avaliados qualitativamente foram classificados ou receberam notas. Os caracteres avaliados foram:

- 4.1. Formato do fruto (segundo Radford, 1974): 1. elíptico; 2. largamente elíptico; 3. circular; 4. oblato; 5. transversalmente elíptico; 6. oval; 7. largamente oval; 8. muito largamente oval; 9. largamente oval depresso; 10. oval depresso; 11. obovado; 12. largamente obovado; 13. muito largamente obovado; 14. largamente obovado depresso; 15. obovado depresso
- 4.2. Formato do ápice do fruto: 1. mamiliforme; 2. angular; 3. convexo; 4. truncado; 5. depresso
- 4.3. Formato da base do fruto: 1. pescoço; 2. convexo; 3. truncado; 4. côncavo; 5. côncavo-colarinho; 6. colarinho com pescoço
- 4.4. Diâmetro do pedúnculo (mm)
- 4.5. Diâmetro do “umbigo” ou, como mais frequente, da cicatriz estilar.
- 4.6. Altura do fruto (mm)
- 4.7. Largura do fruto (mm)
- 4.8. Peso do fruto (g)
- 4.9. Cor do epicarpo (segundo Biesalski, 1957) (Anexo C).
- 4.10. Número de glândulas de óleo/ 10 mm de casca (epicarpo), tomado na região equatorial do fruto.
- 4.11. Número de glândulas de óleo/ 9,6 mm² de casca, tomado na região equatorial do fruto utilizando furador circular com 3,5 mm de diâmetro.
- 4.12. Espessura do flavedo ou epicarpo na zona equatorial do fruto (mm)

⁵² DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Estudo da viabilidade de pólen em clones de laranja Pêra e outras variedades assemelhadas. *Revista Ciência Rural*. Universidade Federal de Santa Maria. 1997. (encaminhado para publicação em Ago. 1997).

⁵³ TEÓFILO SOBRINHO, J. Caracterização do BAG-Citros. *Informativo do Centro de Citricultura*, n.11, p.1, maio, 1996.

- 4.13. Espessura do albedo ou mesocarpo na zona equatorial do fruto (mm)
- 4.14. Diâmetro do endocarpo (mm)
- 4.15. Cor da polpa: 1. verde claro; 2. verde; 3. amarelo claro; 4. amarelo; 5. laranja; 6. avermelhado
- 4.16. Diâmetro da columela (ou axis) (mm)
- 4.17. Número de gomos por fruto
- 4.18. Formato da columela (ou axis): 1. circular; 2. irregular; 3. estrelado ou radial
- 4.19. Número médio de sementes por fruto
- 4.20. Comprimento médio das sementes (mm)
- 4.21. Largura média das sementes (mm)
- 4.22. Formato das sementes: 1. fusiforme; 2. cuneiforme; 3. clavada; 4. ovóide; 5. globosa; 6. deltóide; 7. semi-esferóide.
- 4.23. Cor da semente (testa): 1. branca; 2. creme; 3. amarela; 4. verde; 5. marron
- 4.24. Tegmen: 1. avermelhada; 2. verde; 3. cinza
- 4.25. Cor do cotilédone: 1. branca; 2. gelo; 3. creme; 4. verde-claro; 5. verde-escuro; 6. avermelhado.
- 4.26. Percentual de poliembrionia da semente, segundo Domingues et al. (1997c)
- 4.27. Valores médios de percentual de acidez no suco, obtidos de junho a dezembro de 1995 por Domingues et al. (1996c, 1997a e 1997b).
- 4.28. Valores médios de sólidos solúveis (°Brix) no suco, obtidos de junho a dezembro de 1995 por Domingues et al. (1996c, 1997a e 1997b).

Os dados avaliados foram denominados de qualitativos ou quantitativos de acordo com o método de classificação ou medição, como descrito por Crisci & Armengol (1983). Os dados qualitativos foram representados da seguinte maneira: Uma nota somente, indica a predominância daquele valor para o caracter avaliado, quando duas notas prevaleceram em proporções praticamente iguais foram representadas com a 1ª nota mais freqüente/ 2ª nota mais freqüente, e assim sucessivamente. Para os caracteres tomados quantitativamente, foi realizada a análise univariada pelo programa SANEST e as médias foram contrastadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os caracteres cujos dados apresentaram valores iguais a zero, como, por exemplo, número de sementes, foram transformados segundo $\sqrt{(x+0,5)}$. Devido a quantidade de dados são mencionadas no texto os genótipos que apresentaram as maiores e as menores médias para os diferentes caracteres e, portanto, diferentes estatisticamente. As tabelas trazem a diferença mínima significativa (dms) e os coeficientes de variação (CV). A partir deste último, pode-se

calcular os desvios em relação à média pela fórmula $CV = (\text{desvio padrão}/\text{média}) \times 100$ (Centeno, 1981).

Pelos dados quantitativos padronizados foi realizada a análise multivariada, foram estudadas as correlações entre os diferentes caracteres avaliados e apresentadas no texto apenas as significativas e aparentemente mais importantes (correlação produto-momento de Pearson, para $p < 0,05$). Foram realizadas as análises dos componentes principais por meio das quais pôde-se quantificar a importância dos caracteres para explicar a variância avaliada sendo ressaltados os caracteres que contribuíram com valores $\geq |0,7|$ para cada componente, nas análises parciais de planta (8 dados quantitativos), folha (10 dados quantitativos), flôr (11 dados quantitativos), fruto (18 dados quantitativos) e na análise conjunta dos 47 caracteres avaliados quantitativamente. Foram realizadas as análises dos componentes principais por meio das quais pôde-se quantificar a importância dos caracteres para explicar a variância observada e, por meio destes componentes, que são ortogonais entre si e portanto não correlacionados, os genótipos foram agrupados quanto ao grau de similaridade pela técnica UPGMA e distâncias Euclidianas. A análise multivariada obedeceu as técnicas descritas por Crisci & Armengol (1983), Cruz (1984 e 1990) e Manly (1994) e foi realizada pelo programa “Statistica” para “Windows” (Stat Soft, 1993).

3.9 Caracterização morfológica de 44 variedades de laranja doce⁵⁴

Os dados foram coletados das 44 variedades que compõe o **experimento 2**, em sua maior parte, no CCSM/IAC e no laboratório de Radiogenética do CENA/USP. A caracterização morfológica foi realizada pelos descritores do IBPGR (1988) e outros que se julgou serem de importância para laranja doce, de maneira semelhante ao exposto no experimento anterior, citando-se aqui apenas os itens que diferiram.

⁵⁴ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A. Caracterização morfológica de 44 variedades de laranja doce. (encaminhado para publicação a partir de Jan. 1998 - PAB).

Na caracterização morfológica das árvores, a estimativa da produção de frutos foi feita por meio de contagens dos frutos em estágio de desenvolvimento (jovens) e em estágio de maturação (adultos) contidos na projeção de 0,25 m², na porção mediana das copas, nos quadrantes norte, sul, leste e oeste das mesmas, sob a projeção de um quadro de madeira de área conhecida (0,50 m x 0,50 m) da superfície da copa até o centro da mesma. A somatória dos quadrantes foi denominada de número de frutos estimados/ m².

Na caracterização morfológica das folhas, foram coletadas 15 folhas maduras por clone ou variedade, inseridas na quarta posição, do ápice para a base de ramo sem fruto, na porção mediana da planta entre março a abril de 1995, sendo 5 folhas de cada repetição.

Na caracterização morfológica das flores, foram coletadas 15 flores de cada clone ou variedade, 5 de cada repetição, na porção mediana das plantas na florada de agosto-setembro de 1995. Adotou-se o percentual de pólen viável avaliado por Domingues et al. (1996b).

A caracterização morfológica de frutos foi realizada no mês de julho de 1995 e 1997 e foram coletados 15 frutos de cada variedade, 5 de cada repetição, na altura mediana das copas das árvores. Adotou-se o percentual de poliembrionia da semente, avaliado por Domingues, et al. (1996d). Os valores médios de percentual de acidez no suco, obtidos de junho a dezembro de 1995 e 1997, por meio de análises quinzenais, em amostras de 15 frutos por variedade, utilizando uma extratora de copo único (mod. OTTO 1800, filtro com furos de 0,6 mm de diâmetro e área de vazão igual a 20%). Para as determinações da acidez e de sólidos solúveis(°Brix) adotou-se os métodos descritos por Reed et al. (1986). Os valores médios de sólidos solúveis (°Brix) no suco, obtidos de junho a dezembro de 1995 e 1997, utilizando-se metodologia detalhada em Domingues et al. (1997a).

Os dados avaliados foram denominados de qualitativos ou quantitativos de acordo com o método de classificação ou medição, como descrito por Crisci & Armengol (1983) e representados de maneira semelhante ao já explicado

anteriormente. As análises univariadas dos dados quantitativos foram realizadas pelo programa SANEST e as médias foram contrastadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As correlações e a análise multivariada foram realizados pelo programa “Statistica” para “Windows” (Stat Soft, 1993).

3.10 Avaliação do polimorfismo de isoenzimas entre variedades de laranja doce

O estudo do polimorfismo isoenzimático foi avaliado para os 44 acessos do **experimento 2**, ao final de 1996 e início de 1997, no Laboratório de Genética Ecológica da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP, em Piracicaba, SP. Para a análise de isoenzimas foram adotadas metodologias desenvolvidas e/ou adaptadas por Veasey, 1998. Foram testados o sistema-tampão gel/eletrodo à base de Lithium-Borato (LB), pH 8,3 (Wendel & Weeden, 1990), para as enzimas peroxidase (PRX), esterase (EST) e glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT), e o sistema-tampão gel/eletrodo à base de Tris-Citrato (TC), pH 7,5 (Soltis et al., 1983), para as enzimas álcool desidrogenase (ADH), fosfatase ácida (ACP), Malato desidrogenase (MDH) seguindo metodologias adaptadas de Brewbaker et al. (1968), Scandilios (1965), Alfenas et al. (1991) e Brewer & Sing (1970) (Anexo D).

Quanto às amostras vegetais foram utilizados cotilédones e folhas adultas jovens. Os cotilédones foram extraídos de sementes de 14 variedades do **experimento 2**, as quais foram: Lima, Washington Navel, Lanceta Barão, Seleta Branca, Hamlin, Rubi Blood, Cipó, Caipira, Lamb’s Summer, Perão, Pêra Rio, Pêra Ipiгуá, Valência Late e Natal. As folhas adultas jovens foram coletadas das 44 variedades do **experimento 2**. As amostras foram coletadas um dia antes da análise e mantidas sob refrigeração. Pequenas porções destas foram maceradas com 2 a 3 gotas de água destilada, com o auxílio de um bastão de vidro, em “cadinhos”, em placa de acrílico resfriada, mantida sobre formas de gelo durante o processo de extração. Foi colocado papel de filtro comum, de 13 mm de diâmetro, sobre os extratos de cada amostra, e sobre estes papéis circulares, tiras de papel de filtro (Whatman nº 3), de 4

mm x 8 mm, os quais absorveram o extrato livre de impurezas. Para acompanhar e marcar o fronte de corrida, foi acrescentada tira de papel de filtro, embebida em solução de azul de bromofenol a 0,1%, nas duas extremidades do gel. O gel foi preparado com uma mistura de 20 g de amido de milho (Penetrose 30) (Val et al., 1981) e 10 g de amido de batata (Sigma) para cada 250 ml, segundo metodologia desenvolvida por Veasey, 1998.

Os géis foram mantidos à temperatura de aproximadamente 6°C, durante a migração, à corrente de 25 mA por meia hora, após o que, foram retirados os papéis de filtro e a corrente ajustada à 35 mA (cubas com tampão - Lithium Borato) e à 40 mA (cubas com tampão - Tris-Citrato). O tempo total de corrida levou em torno de 6 horas, quando o marcador do fronte de corrida (azul de bromofenol) atingia de 7 a 9 cm. Após o término da corrida o gel era cortado em 6 fatias de 2 mm de espessura, sendo que as duas superiores eram descartadas. A distância percorrida pela banda em relação à distância percorrida pelo azul de bromofenol (linha de frontal da corrida) também chamada de mobilidade relativa (Rf) foi calculada.

Pela dificuldade em se interpretar os zimogramas em termos de locos e alelos, o grau de similaridade entre os genótipos foi estimado pelas bandas para os sistemas isoenzimáticos estudados (monomórficas e polimórficas) presentes (1) ou ausentes (0). A matriz de similaridade gerada foi obtida pelo índice de similaridade de Jaccard utilizando-se o programa computacional NTSYS - “Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System” (Rohlf, 1992). Dendrogramas foram obtidos utilizando-se o método de ordenamento de pares pela média aritmética não ponderada (UPGMA - “Unweighted pair group arithmetic average”) de acordo com Sneath & Sokal (1973), Crisci & Armengol (1983), Manly (1994). O polimorfismo obtido para variedades estudadas foi comparado ao polimorfismo morfológico e molecular obtidos para as mesmas por (Domingues et al., 1998a, 1998c e 1998d).

3.11 Avaliação do polimorfismo de RAPD entre variedades de laranja doce

Foram estudados os 44 acessos do **experimento 2**, para a análise de polimorfismo usando RAPD, extraiu-se o DNA genômico de folhas frescas ou liofilizadas de plantas com 10 anos de idade, dos genótipos citados. Para a extração do DNA foi utilizada a metodologia descrita por Murray & Thompson (1980), adaptada por Machado et al. (1996) e utilizada como rotina no laboratório de biotecnologia do CCSM/IAC. As finas partículas obtidas, de 100 mg das folhas trituradas em cadinho com nitrogênio líquido, foram colocadas em tubos “eppendorf” e homogeneizadas em 1,6 ml de tampão de extração (100 mM Tris-HCl, pH 7,5; 10 mM EDTA, pH 8,0; 0,7 M NaCl; 1% CTAB; 2% de sarkosyl; 140 mM 2-mercaptoetanol). O homogeinizado foi transferido para dois novos tubos e aquecido em “banho-maria” (30 min a 60°C) agitando-se a cada 10 min e resfriado à temperatura ambiente. Adicionou-se 1 vol. de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) e agitou-se levemente por 5 min. Após centrifugação por 5 min a 12.000 rpm, as fases foram separadas (microcentrífuga Sorval MC12V). A fase superior foi transferida para um novo tubo “eppendorf” e adicionado 0,1 vol. de CTAB 10% (10% CTAB; 0,7M NaCl), e uma nova extração com 1 vol. de clorofórmio: álcool isoamílico foi realizada. A fase superior foi transferida para um outro tubo e adicionado 1 vol. de tampão de precipitação CTAB 1% (50 mM Tris-HCl, pH 8,0; 10 mM EDTA). Após misturar com cuidado, os tubos foram centrifugados por 5 min a 12.000 rpm, e o sobrenadante descartado. O sedimento (“pellet”) foi dissolvido em 400 µl de TE alto sal (10 mM Tris-HCl, pH 8,0; 1 mM EDTA; 1M NaCl) por 1 hora a 65°C. Após baixar à temperatura ambiente, o DNA foi re-precipitado com 2 vol. de etanol absoluto gelado. Após centrifugação por 5 min a 12.000 rpm, o sobrenadante foi descartado e os “pellets” foram lavados com etanol 70% e 100%. O DNA foi dissolvido em 25 µl de 0,1 x TE contendo 10 µg/µl de RNase.

A quantificação do DNA genômico, de acordo com Sambrook et al. (1989), foi efetuada pela eletroforese em gel de agarose (0,8%, corado com brometo

de etídio 0,5 ng/ml), de 1 µl da amostra de DNA individual misturado a 1 µl de tampão (0,25% de azul de bromofenol e 40% de sacarose) e 3µl de água, ao lado de concentrações conhecidas de DNA-lambda (50, 100, 150, 200, 250 ng/µl). Após corrida eletroforética em tampão TAE 1% (em torno de 30 min.), o gel foi observado sobre luz ultra violeta e as concentrações de DNA das amostras estimadas com base nos padrões. As amostras de DNA foram diluídas a uma concentração de 5 ng/µl e estocadas a -20°C. O DNA foi considerado de boa qualidade quando não havia rastro na eletroforese, o que indicaria a presença de impurezas ou da degradação do DNA.

As reações de amplificação, segundo Grattapaglia & Sederoff (1994), foram preparadas num volume total de 13 µl {[4,4 µl de H₂O]; [1,3 µl de Tampão 10X (10 mM Tris-HCl, pH 8,3; 50 mM KCl; 2,0 mM de MgCl₂ e 0,001% de gelatina)]; [1µl dNTPs (0,2 mM de cada dATP, dTTP, dCTP e dGTP - Pharmacia)]; [3 µl de “primer” (0,2 mM de “primer” de 10 nucleotídeos, 15 ng - Operon)]; [0,3 µl de Taq-polimerase (1,5 unidades - CENBIOT/RS)] e [3 µl de solução de DNA 5ng/µl]}, cobertas com uma gota (aproximadamente 25 µl) de óleo mineral (SIGMA) e amplificadas em termocicladores com blocos para tubos de 0,5 ml ou placas de 96 poços (MJ Research Thermocycler) programados para 36 ciclos de 1 min a 92°C, 1min a 36°C e 2 min a 72°C e, após o último ciclo, manteve-se a 72°C por 10 min. Os produtos das reações de amplificação foram visualizados em gel [1,4% agarose em tampão TAE-1X (0,04 M Tris-acetato, 1 mM EDTA)], corado com brometo de etídio (0,5 µg/ml). À solução de reação (13 µl) adicionou-se 2,2 µl do tampão de carregamento da amostra (0,25% de azul de bromofenol e 40% de sacarose) e 5 µl foram aplicados em gel ao lado do padrão de Ladder-1kb (GIBCO-BRL) usado como marcador de peso molecular. A eletroforese foi realizada por, aproximadamente, 7cm de corrida no gel (em torno de 3h), em cuba contendo tampão TAE-1X; os resultados foram fotografados sobre luz ultra violeta.

Foram testados mais de 140 iniciadores ou “primers” para a amplificação do DNA, por meio de PCR para 1 mistura (“mix”-A) de quantidades

equimolares de DNA das variedades Diva, Sangüínea de Mombuca, Cipó e Lamb's Summer; destes, 140 foram dos kits A, B, C, J, R, U, AV da Operon (20 "primers" decâmeros / kit). Os "primers" que apresentaram 3 ou mais bandas de boa visibilidade foram selecionados. Estes foram então utilizados para discriminar polimorfismo entre 5 "mix", compostos de quantidades equimolares de DNA, das variedades estudadas: 1) DNA das limas; 2) DNA das sangüíneas; 3) DNA das laranjas de "umbigo"; 4) DNA da Hamlin, Seleta Branca, Diva e do Céu-1; e 5) DNA das Pêras, Natal, Valências, Caipira-DAC, Pêra de Abril, Cipó, Westin, Caipira e Lamb's Summer. Os "primers" que discriminaram 1 ou mais bandas polimórficas entre os 5 "mix" de DNA foram selecionados. Estes foram então utilizados em testes repetidos, para a reação com DNA individual das variedades estudadas. Os resultados apresentados, foram avaliados comparando-se os padrões de bandas obtidas em 12 variedades representativas da espécie, as quais foram Lima, Baianinha Piracicaba, Lanceta Barão, Diva, Seleta Branca, Hamlin, Rubi Blood, Cipó, Westin, Caipira-DAC, Ipiranga e Natal.

O grau de similaridade entre plantas foi estimado pelas bandas RAPD (monomórficas e polimórficas) presentes (1) ou ausentes (0). Foram construídas matrizes binárias sendo que os indivíduos constituíram as colunas da matriz e as bandas constituíram as linhas. Os pesos moleculares das bandas polimórficas foram obtidos utilizando o programa Gel (versão 1989-JRT). A matriz de similaridade gerada foi obtida pelo coeficiente de Jaccard utilizando-se o programa computacional NTSYS - "Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System" (Rohlf, 1992). Dendrogramas foram obtidos utilizando-se o método de ordenamento de pares pela média aritmética não ponderada (UPGMA - "Unweighted pair group arithmetic average") de acordo com Sneath & Sokal (1973), Crisci & Armengol (1983), Manly (1994). O polimorfismo obtido para variedades estudadas foi comparado ao polimorfismo morfológico e de isoenzimas obtido para as mesmas por Domingues et al. (1998d).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parte dos trabalhos realizados na presente pesquisa foram encaminhados para publicação assim que concluídos, como indicado no texto, parte dos resultados foram encaminhados ao FUNDECITRUS⁵⁵ e ao CNPq⁵⁶.

4.1 Seleção de clones de laranja ‘Pêra’ e variedades assemelhadas quanto à qualidade do fruto e período de maturação⁵⁷

As variedades Ovale, Pêra GS-2000 e Ovale San Lio produziram frutos maiores, em torno de 160 g, também apresentaram maiores médias de altura e largura, cerca de 7,4 e 6,6 cm, respectivamente e, desta forma, apresentaram menor número de frutos por caixa de 40,8 kg (em torno de 250). Os demais clones e variedades também apresentaram frutos com dimensões satisfatórias para o mercado de frutas frescas, pouco acima de 6 cm de altura e largura. Ressalva deve ser feita à variedade Lamb’s Summer, que apresentou, em média, no período estudado, frutos pouco menores que o ideal para o comércio de frutas frescas (6,41 cm de altura, 5,85 cm de largura, 113,5 g/ fruto e 369 frutos/ caixa) (Tabela 5). Em geral, os frutos produzidos em 1995, foram maiores que os de 1997 e 1996.

Domingues et al. (1997b) citam a variedade Redonda como produtiva (média de 125 kg/planta para 12 anos de produção), e como uma nova opção de variedade tardia. No entanto, como único inconveniente, foi observado que ela

⁵⁵ DOMINGUES, E.T. Caracterização morfológica e agronômica de clones de laranjeira Pêra. RELATÓRIO encaminhado ao FUNDECITRUS, maio 1997. 44p.

⁵⁶ DOMINGUES, E.T. Caracterização morfológica, agronômica e molecular de variedades de laranja doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. Plano de Tese (34p.) e Relatório de atividades desenvolvidas de 1995-1997 encaminhados para renovação da Bolsa de Doutorado no período de 1998-1999, out. 1997. 107p.

⁵⁷ DOMINGUES, E.T.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; TULMANN NETO, A.; MATTOS JUNIOR, D. Seleção de clones de laranja Pêra e variedades assemelhadas - qualidade do fruto e período de maturação. *Laranja*, v.20, 1999. (encaminhado para publicação em Jul. 1997).

Tabela 5. Valores médios obtidos para peso, altura, largura e número de frutos por caixa, rendimento de suco, quantidade de sólidos solúveis por caixa e em °Brix, acidez e “ratio”. Caracteres de valor agrônomo avaliados para frutos em estágio de maturação de 11 clones de laranja ‘Pêra’ e 6 outras variedades enxertados em limoeiro ‘Cravo’ de 1995 a 1997 (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP).^{1,2}

Variedade ou clone	Peso fruto g	Altura fruto cm	Largura fruto cm	Altura/ largura	Frutos/ caixa	Rend. de suco %	SS/ caixa kg/cx	SS	Acidez	“Ratio”
Pêra Vimusa	132,34 efg	6,74 def	6,13 f-i	1,09 bc	312,69 bcd	47,59 a	2,48 cde	12,82 cd	1,25 cde	11,51 bc
Pêra EEL	151,66 a-e	7,06 a-d	6,37 b-f	1,10 abc	274,58 d-g	49,60 a	2,55 bcd	12,62 d	1,13 efg	12,50 ab
Pêra GS-2000	163,05 ab	7,39 ab	6,62 ab	1,12 ab	255,64 fg	48,42 a	2,44 cde	12,36 de	1,19 def	11,26 bc
Pêra Olímpia	133,33 d-g	6,77 def	6,22 e-h	1,09 bc	308,96 b-e	49,47 a	2,53 b-e	12,58 d	1,27 cde	11,06 bcd
Pêra Prem.-1212	129,26 fg	6,72 def	6,06 ghi	1,10 abc	320,51 bc	49,06 a	2,83 a	14,17 a	1,45 abc	10,82 cd
Pêra Bianchi	136,48 def	6,90 cde	6,26 e-h	1,10 abc	302,46 b-e	48,52 a	2,56 bcd	12,93 cd	1,21 def	11,71 bc
Pêra R.Gullo-1569	135,55 d-g	6,73 def	6,21 e-h	1,08 c	305,09 b-e	50,28 a	2,75 ab	13,39 bc	1,33 cd	11,18 bc
Pêra Dibbern	140,07 c-f	6,81 c-f	6,24 e-h	1,09 bc	295,07 c-f	50,28 a	2,55 bcd	12,46 d	1,24 cde	11,20 bc
Pêra Pirangi	143,61 b-f	7,01 b-e	6,35 b-g	1,13 abc	288,93 c-g	48,23 a	2,53 b-e	12,87 cd	1,56 ab	9,45 de
Pêra R.Gullo-1570	122,14 fg	6,68 def	5,98 hi	1,11 ab	339,20 ab	48,03 a	2,68 abc	13,70 ab	1,38 bcd	11,09 bc
Redonda	137,27 def	6,62 ef	6,30 c-g	1,05 d	302,00 b-e	50,57 a	2,62 abc	12,71 cd	1,64 a	8,66 e
Pêra Prem.-1743	137,09 def	6,93 cde	6,26 d-h	1,10 abc	300,57 b-e	50,41 a	2,59 abc	12,63 d	1,34 bcd	10,83 cd
Ovale	167,01 a	7,47 a	6,67 a	1,12 ab	250,17 g	51,47 a	2,32 de	11,05 f	1,11 efg	11,08 bcd
Ovale de Siracusa	152,89 a-e	7,19 abc	6,48 a-e	1,11 abc	272,38 d-g	50,25 a	2,62 abc	12,77 cd	1,22 def	11,69 bc
Ovale San Lio	160,90 abc	7,39 ab	6,55 a-d	1,12 a	257,41 fg	48,97 a	2,32 de	11,65 ef	1,01 fg	12,50 ab
Lamb's Summer	113,52 g	6,41 f	5,85 i	1,09 bc	368,93 a	49,53 a	2,60 abc	12,89 cd	1,61 a	9,00 e
Corsa Tardia	155,01 a-d	7,21 abc	6,56 abc	1,09 abc	267,01 efg	49,63 a	2,20 e	11,29 f	0,94 g	13,50 a
dms (Tukey, 5%)	22,04	0,41	0,29	0,03	42,33	3,95	0,25	0,72	0,22	1,63
C.V. (%)	5,07	1,92	1,51	0,91	4,67	2,61	3,30	1,80	5,50	4,78

¹ Médias de análises quinzenais com amostras de 18 frutos/ tratamento no período de junho a dezembro de 1995 a 1997.

² Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente entre si (sentido vertical) pelo teste de Tukey - 5%.

produziu frutos pequenos (125g, cada) na safra de 1995. Deste modo, foram necessários 331 frutos para preenchimento de uma caixa de 40,8 kg. Na média de 1995 a 1997, no entanto, os frutos desta variedade mostraram-se de bom tamanho, apresentando 6,62 cm de altura por 6,30 de largura, e com 137,27g cada, perfazendo 302 frutos por caixa. Os frutos da variedade Redonda apresentaram, ainda, a menor relação altura/largura, indicando sua forma arredondada. Quanto ao formato do fruto, todas as demais variedades foram semelhantes, com formato típico da laranja 'Pêra', ou seja, largamente obovalados, segundo relação de proporção definida por Radford (1974).

O rendimento de suco foi superior na 'Ovale' e 'Redonda' (cerca de 51%, em média), sendo que a primeira apresentou valores em torno de 50% durante todo período de avaliação, no entanto, na média das três safras, não houve diferença estatística entre os genótipos estudados (Tabela 5). De acordo com Figueiredo (1991) a variedade Pêra produz frutos com suco em abundância, em torno de 52% de rendimento de suco, e acima do valor médio obtido com outras variedades de laranja doce, que segundo Viégas (1991), varia de 40 a 45%. A quantidade de sólidos solúveis por caixa, ou rendimento industrial foi superior na 'Pêra Premunizada-1212' e 'Pêra R.Gullo-1569', cerca de 2,8 kg/cx. (Tabela 5). Estes valores estão acima da média normalmente observada para a variedade Pêra, que é de 2,5 kg/cx., segundo dados apresentados por Figueiredo (1991). Nas safras individuais de 1995 a 1997 a 'Pêra Premunizada-1212' também apresentou rendimento industrial acima da média. Já a var. Corsa Tardia apresentou as menores médias para este caracter (2,20 kg/cx.). Em geral o rendimento de suco no fruto (%) e a quantidade de sólidos solúveis por caixa em 1997 foram maiores que em 1995.

No ano de 1995 e 1997 o teor de sólidos solúveis (°Brix) e "ratio" médios apresentaram-se mais elevados em comparação à 1996 para os genótipos avaliados. A acidez média, no entanto, foi superior em 1996. Talvez isto se explique pelas chuvas mais intensas ocorridas no local em 1996 (Anexo B). Quanto à variação no ano, as curvas de sólidos solúveis (°Brix), percentual de acidez e "ratio" (relação

°Brix/acidez), mostraram tendências semelhantes para os genótipos. Em geral, no mês de junho de cada ano, com os frutos ainda verdes, o teor de sólidos solúveis variou de valores em torno de 11°Brix, apresentando elevação desses teores até 13 ou 14 °Brix, quando sofreram alguma redução com o início das chuvas (em torno de 12 °Brix). Individualmente a ‘Pêra Premunizada-1212’ apresentou os maiores valores (14,17 °Brix) e as var. Ovale, Ovale San Lio e Corsa Tardia apresentaram os menores valores (menor que 12 °Brix). Em geral, os níveis de acidez situaram-se por volta de 2%, em média, em junho, e decaíram para níveis próximos a 0,7% em dezembro, sendo que a Redonda e Lamb’s Summer apresentaram média superior para este caracter no período (em torno de 1,6%); normalmente, variedades com média de acidez de suco mais elevadas são as de maturação de frutos mais tardias, como é o caso das duas últimas variedades citadas (Domingues et al., 1996c, 1997a e 1997b). As curvas de “ratio” foram proporcionais: quanto maiores os teores de sólidos solúveis (°Brix) e menores os de acidez, maiores os valores de “ratio” (Tabela 5).

Na variedade Pêra os frutos são colhidos normalmente com níveis de acidez entre 0,6 a 0,9%, segundo Di Giorgi et al. (1994), conseguindo-se, nesse estágio, maiores valores de sólidos solúveis (°Brix) e menores índices de degradação dos frutos. Segundo Viégas (1991), para as variedades comumente processadas, os valores de “ratio” normalmente variam de 6 a 20 durante o processo de maturação, sendo ideal a faixa compreendida entre 11 e 14 para a industrialização. Nestes níveis a acidez ainda é adequada para manter a qualidade e a conservação do suco após o processamento.

A altura, largura e peso do fruto apresentaram correlações médias significativas entre si (acima de +0,90). O percentual médio de acidez de suco observado de junho a dezembro (de 1995 a 1997) apresentou correlação significativa com sólidos solúveis (°Brix) (+0,62), sólidos solúveis por caixa (+0,57), número de frutos por caixa (+0,62) e negativa com altura, largura e peso de fruto (em torno de -0,60). O teor médio de sólidos solúveis no suco (°Brix), observado de junho a dezembro, para as 3 safras, apresentou correlação positiva com o número de frutos

por caixa (+0,64) e negativa com altura, largura e peso de fruto (em torno de -0,68). Estes dados demonstram que normalmente frutos maiores apresentam menores valores de acidez e sólidos solúveis (°Brix). Os valores de “ratio” apresentaram correlação significativa (-0,93) apenas com a acidez o que é indicativo da maior importância da acidez, em detrimento dos sólidos solúveis (°Brix), na intensidade deste carácter, normalmente utilizado como indicativo do estágio de maturação de frutos (Tabela 6).

Tabela 6. Correlação produto-momento de Pearson média, para percentual de acidez, sólidos solúveis (°Brix), “ratio”, peso, altura e largura de fruto, relação altura/ largura de fruto, rendimento de suco, quantidade de sólidos solúveis/caixa e número de frutos/ caixa de 40,8 kg, avaliados em 11 clones de laranja ‘Pêra’ e seis variedades assemelhadas à ‘Pêra’, de 1995 a 1997.

Carateres	Acidez	°Brix	“Ratio”	Peso de fruto	Altura de fruto	Largura de fruto	Alt./larg de fruto	Rend. de suco	kg SS/caixa	Frutos/caixa
Acidez	1,00	0,62*	-0,93*	-0,60*	-0,64*	-0,58*	-0,43	-0,11	0,57*	0,62*
°Brix	0,62*	1,00	-0,34	-0,68*	-0,66*	-0,72*	-0,15	-0,27	0,89*	0,64*
“Ratio”	-0,93*	-0,34	1,00	0,41	0,46	0,37	0,40	0,04	-0,33	-0,45
Peso de fruto	-0,60*	-0,68*	0,41	1,00	0,95*	0,97*	0,34	0,11	-0,64*	-0,99*
Altura fruto	-0,64*	-0,66*	0,46	0,95*	1,00	0,93*	0,56*	0,03	-0,66*	-0,93*
Largura fruto	-0,58*	-0,72*	0,37	0,97*	0,93*	1,00	0,23	0,13	-0,67*	-0,97*
Alt./larg fruto	-0,43	-0,15	0,40	0,34	0,56*	0,23	1,00	-0,28	-0,27	-0,29
Rend. de suco	-0,11	-0,27	0,04	0,11	0,03	0,13	-0,28	1,00	0,17	-0,11
kg SS/caixa	0,57*	0,89*	-0,33	-0,64*	-0,66*	-0,67*	-0,27	0,17	1,00	0,60*
Frutos/caixa	0,62*	0,64*	-0,45	-0,99*	-0,93*	-0,97*	-0,29	-0,11	0,60*	1,00

* Correlações marcadas foram significativas a 5% de probabilidade.

A importância do estudo das correlações, como ressaltado por Cruz (1990), encontra-se, principalmente no fato de que os caracteres medidos quantitativamente estão na maioria das vezes, sob controle de poligenes que se distribuem em todo o genoma da espécie e têm ações e interações relativamente complexas. Também, o grande número de locos envolvidos aumenta a probabilidade de formação de blocos gênicos, incluindo fatores que controlam outros caracteres considerados no estudo, e de manifestação dos efeitos pleiotrópicos, de tal forma que as correlações podem ser elevadas.

Tabela 7. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição de cada caracter de qualidade de fruto na explicação da variância de cada componente obtido para 11 clones de laranja 'Pêra' e seis variedades assemelhadas à 'Pêra', de 1995 a 1997.

Comp. princ.	Eigen valor	Variân. total %	Eigen-valor acumulado	Variân. t. acum. %	Caracteres	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4	Comp.5
1	16,79	55,96	16,79	55,96	Acidez, 95	0,85*	-0,34	0,19	-0,20	0,09
2	4,15	13,82	20,94	69,78	SS (°Brix), 95	0,77*	0,34	0,41	-0,02	-0,03
3	2,15	7,18	23,09	76,96	"Ratio", 95	-0,64	0,54	-0,14	0,29	-0,09
4	2,03	6,77	25,12	83,73	Peso fruto, 95	-0,91*	0,07	0,22	-0,09	0,08
5	1,25	4,16	26,37	87,89	Altura fruto, 95	-0,93*	0,22	0,11	-0,16	0,00
6	0,95	3,17	27,32	91,05	Larg. fruto, 95	-0,92*	-0,04	0,23	-0,03	0,16
7	0,69	2,29	28,00	93,35	Alt/larg.fruto,95	-0,58	0,61	-0,14	-0,33	-0,28
8	0,30	1,00	28,31	94,35	Rend.suco (%), 95	0,34	-0,63	-0,12	0,05	-0,42
9	0,25	0,84	28,56	95,20	SS/cx, 95	0,83*	0,00	0,31	0,00	-0,21
10	0,22	0,73	28,78	95,93	Num. frutos, 95	0,92*	-0,08	-0,24	0,03	-0,08
11	0,16	0,53	28,94	96,47	Acidez, 96	0,81*	-0,40	0,12	-0,28	-0,09
12	0,12	0,39	29,06	96,85	SS (°Brix), 96	0,80*	0,32	0,43	-0,03	-0,05
13	0,10	0,34	29,16	97,19	"Ratio", 96	-0,67	0,56	0,00	0,28	0,19
14	0,06	0,21	29,22	97,40	Peso fruto, 96	-0,81*	-0,44	0,10	-0,09	-0,07
15	0,06	0,19	29,28	97,59	Altura fruto, 96	-0,83*	-0,26	0,05	-0,33	-0,17
16	0,06	0,19	29,33	97,78	Larg. fruto, 96	-0,79*	-0,46	0,05	-0,08	-0,01
17	0,05	0,16	29,38	97,94	Alt/larg.fruto,96	-0,22	0,45	0,02	-0,69	-0,42
18	0,05	0,16	29,43	98,10	Rend.suco (%), 96	-0,58	-0,31	0,34	0,42	-0,04
19	0,05	0,16	29,48	98,25	SS/cx, 96	0,62	0,19	0,67	0,19	-0,06
20	0,05	0,16	29,52	98,41	Num. frutos, 96	0,82*	0,41	-0,13	0,01	-0,01
21	0,05	0,16	29,57	98,57	Acidez, 97	0,80*	-0,33	0,16	-0,35	0,19
22	0,05	0,16	29,62	98,73	SS (°Brix), 97	0,77*	0,39	0,33	0,02	0,14
23	0,05	0,16	29,67	98,89	"Ratio", 97	-0,60	0,51	-0,16	0,47	-0,16
24	0,05	0,16	29,71	99,05	Peso fruto, 97	-0,88*	-0,16	0,35	-0,02	0,09
25	0,05	0,16	29,76	99,21	Altura fruto, 97	-0,90*	-0,02	0,31	-0,16	-0,02
26	0,05	0,16	29,81	99,37	Larg. fruto, 97	-0,85*	-0,30	0,30	0,00	0,02
27	0,05	0,16	29,86	99,52	Alt/larg.fruto,97	-0,51	0,63	0,15	-0,44	-0,09
28	0,05	0,16	29,90	99,68	Rend.suco (%), 97	-0,22	-0,27	0,14	0,42	-0,71*
29	0,05	0,16	29,95	99,84	SS/cx, 97	0,71*	0,30	0,41	0,23	-0,15
30	0,05	0,16	30,00	100,00	Num. frutos, 97	0,84*	0,14	-0,40	-0,06	-0,10
Variância explic.						16,79	4,15	2,15	2,03	1,25
Proporção total						0,56	0,14	0,07	0,07	0,04

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

Os cinco primeiros componentes principais, com eigen-valores > 1 , representaram 87,89% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (56% da variância total) foram acidez, sólidos solúveis (°Brix), peso, altura e largura de fruto, sólidos solúveis e

número de frutos por caixa, com eigen-valores iguais ou acima de 0,7. Nas análises feitas para as safras individuais os resultados foram semelhantes (Tabela 7).

A partir desta análise observa-se que 7 dos 10 caracteres avaliados foram mais importantes na explicação da variabilidade encontrada entre os genótipos estudados. Nem sempre os caracteres que mais explicam a variabilidade são de interesse agrônomo, portanto nem sempre estudados nos programas de melhoramento. No entanto, desses 7 caracteres vários encontram-se fortemente correlacionados os quais, não fosse o interesse agrônomo de caracterização, poderiam ser excluídos em estudos taxonômicos envolvendo muitos genótipos.

Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para os escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, foram separados 6 grupos distintos à distância Euclidiana igual a 5. Os quais foram em ordem crescente de similaridade: ‘Redonda’; ‘Lamb’s Summer’; ‘Pêra Pirangi’; ‘Ovale’; ‘Corsa Tardia’ e o sexto grupo formado pela ‘Pêra GS-2000’, ‘Ovale San Lio’, ‘Pêra Olímpia’, ‘Pêra Vimusa’, ‘Pêra R.Gullo-1570’, ‘Ovale de Siracusa’, ‘Pêra EEL’, ‘Pêra Premunizada-1212’, ‘Pêra Dibbern’, ‘Pêra R.Gullo-1569’ ‘Pêra Bianchi’ e ‘Pêra Premunizada-1743’ (Figura 1).

No agrupamento realizado para as médias originais padronizadas, as variedades Redonda, Lamb’s Summer, Pêra Pirangi e as variedades Corsa Tardia e Ovale também estiveram entre as mais distantes (Figura 1); tendência que se manteve para cada ano de estudo. Estes resultados mostraram boa eficiência e repetibilidade da análise multivariada na separação dos genótipos. Estas variedades agrupadas separadamente, apresentaram menor semelhança com os principais clones de laranja ‘Pêra’ apesar de muitas semelhanças morfológicas e da indicação da Lamb’s Summer como uma possível origem da variedade Pêra (Hodgson, 1967).

Pelas curvas de tendência da maturação de frutos, observou-se que a regressão linear apresentou melhores ajustes para acidez e “ratio” e a polinomial de segundo grau para o teor de sólidos solúveis (°Brix). Estas confirmaram que a maioria dos clones de laranja ‘Pêra’ e demais variedades já apresentava os frutos em estágio

Figura 1. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA, para 10 caracteres de qualidade de fruto de 11 clones de laranja 'Pêra' e seis variedades assemelhadas à 'Pêra', de 1995 a 1997.

de maturação avançada entre outubro e novembro. O período de safra destes clones, na região estudada, iniciou-se em meados de setembro e estendeu-se até o final de dezembro, ou mais. A análise dos componentes principais para dados de sólidos solúveis (°Brix) e percentual de acidez, estimados pelas equações de regressão, ao final de outubro e início de novembro, mostrou que ambos os caracteres foram responsáveis pela variância total no primeiro componente (67,20%) e indicou que a acidez apresentou uma leve superioridade na explicação desta variância (Tabela 8).

Tabela 8. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) no suco de frutos de 11 clones de laranja 'Pêra' e seis variedades assemelhadas à 'Pêra', de 1995 a 1997, para a explicação da variância de cada componente.

Comp. princ.	Eigen valor	Variância total	Eigen-valor acumulado	Variância total acumulada	Caracteres	Comp.1	Comp.2
		%		%		1	2
1	12,10	67,20	12,10	67,20	Acidez - out.95	0,87*	-0,41
2	2,66	14,76	14,75	81,96	Acidez - out.95	0,87*	-0,41
3	1,23	6,85	15,99	88,81	Acidez - nov.95	0,87*	-0,40
4	0,83	4,59	16,81	93,40	Acidez - out.96	0,88*	-0,33
5	0,43	2,39	17,24	95,78	Acidez - out.96	0,89*	-0,31
6	0,18	0,99	17,42	96,78	Acidez - nov.96	0,90*	-0,29
7	0,05	0,29	17,47	97,06	Acidez - out.97	0,87*	-0,35
8	0,05	0,28	17,52	97,34	Acidez - out.97	0,86*	-0,33
9	0,05	0,27	17,57	97,61	Acidez - nov.97	0,86*	-0,32
10	0,05	0,27	17,62	97,88	°Brix - out.95	0,82*	0,31
11	0,05	0,27	17,67	98,15	°Brix - out.95	0,81*	0,31
12	0,05	0,27	17,71	98,41	°Brix - nov.95	0,80*	0,30
13	0,05	0,26	17,76	98,68	°Brix - out.96	0,75*	0,40
14	0,05	0,26	17,81	98,94	°Brix - out.96	0,73*	0,41
15	0,05	0,26	17,86	99,21	°Brix - nov.96	0,71*	0,42
16	0,05	0,26	17,90	99,47	°Brix - out.97	0,73*	0,50
17	0,05	0,26	17,95	99,74	°Brix - out.97	0,74*	0,50
18	0,05	0,26	18,00	100,00	°Brix - nov.97	0,74*	0,50
Variância explic.						12,10	2,66
Proporção total						0,67	0,15

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

Foram obtidos dendrogramas pelos escores dos componentes principais e pelos dados estimados padronizados de sólidos solúveis e acidez (Figura 2). O

Figura 2. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA, para percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) ao final de outubro e início de novembro (1995 a 1997), em 11 clones de laranja 'Pêra' e seis variedades assemelhadas à 'Pêra'.

dendrograma obtido pelos escores não formou grupos adequados e individualizou demais os genótipos estudados, deste modo optou-se pelo originado dos dados estimados padronizados. Adotando-se como separatriz o nível 4 de distância, obtendo-se 6 grupos de maturação, os quais foram previamente ordenados dos menos aos mais tardios, com base em resultados prévios (Domingues et al., 1996c, 1997a e 1997b): o primeiro foi representado pela ‘Corsa Tardia’; o segundo pela ‘Ovale’ e ‘Ovale San Lio’; o terceiro, formado por ‘Pêra Vimusa’, ‘Ovale de Siracusa’, ‘Pêra GS-2000’, ‘Pêra Bianchi’, ‘Pêra Dibbern’, ‘Pêra EEL’, ‘Pêra Olímpia’, ‘Pêra Premunizada-1743’; o quarto, pela ‘Pêra R.Gullo-1569’ e ‘Pêra R.Gullo-1570’; o quinto grupo pela ‘Pêra Premunizada-1212’; e o sexto pela ‘Pêra Pirangi’, ‘Redonda’ e ‘Lamb’s Summer’.

Foi observado que as variedades do grupo 1 e 2 foram bastante semelhantes quanto à acidez e apresentaram níveis mais baixos, cerca de 1,5% em junho e 0,5% em dezembro. Os clones e variedade do grupo 3, apresentaram acidez em torno de 1,8% em junho e 0,6% em dezembro. Os clones do grupo 4 apresentaram acidez em torno de 2,0% em junho e 0,7% em dezembro. O clone do grupo 5 apresentou acidez em torno de 2,1% em junho e 0,9% em dezembro. O clone e variedades do grupo 6, apresentaram acidez em torno de 2,5% em junho e 0,8% em dezembro. A partir desses dados pode ser considerado que os grupos 3, 4, 5 e 6 foram mais tardios que os dois primeiros. Quanto aos sólidos solúveis (°Brix), foi verificado que os grupos 1 e 2 apresentaram os menores níveis em junho (em torno de 10°Brix) apresentando aproximadamente os mesmos valores ao final das análises, em dezembro. Os clones e variedades dos grupos 3 e 6 apresentaram em torno de 11°Brix em junho e 11,5°Brix em dezembro. Os clones dos grupos 4 e 5 apresentaram em torno de 12°Brix em junho e 13°Brix em dezembro.

Confrontando-se os dados de acidez e sólidos solúveis (°Brix) com os valores de “ratio”, confirma-se como mais precoce o primeiro grupo, composto pela variedade Corsa Tardia, que atingiu um “ratio” igual a quatorze, 17 dias antes do segundo grupo, formado pelas var. Ovale e Ovale San Lio. O terceiro grupo atingiu o

mesmo valor de “ratio” 24 dias após o primeiro grupo, de maturação intermediária, formado por ‘Pêra Vimusa’, ‘Ovale de Siracusa’, ‘Pêra GS-2000’, ‘Pêra Bianchi’, ‘Pêra Dibbern’, ‘Pêra EEL’, ‘Pêra Olímpia’, ‘Pêra Premunizada-1743’. O quarto grupo, formado pela ‘Pêra R.Gullo-1569’ e ‘Pêra R.Gullo-1570’, atingiu um “ratio” igual a quatorze, 36 dias após o primeiro grupo. O quinto grupo (‘Pêra Premunizada-1212’), atingiu o mesmo valor de “ratio” 40 dias após o primeiro grupo de maturação. O sexto grupo (‘Pêra Pirangi’, ‘Redonda’ e ‘Lamb’s Summer’), atingiu o mesmo valor de “ratio” 70 dias após o primeiro grupo de maturação. A diferença de maturação variou, portanto, de 70 dias do primeiro (menos tardio) para o último grupo (mais tardio). Porém a precocidade das variedades Corsa Tardia, Ovale e Ovale San Lio e os baixos níveis de acidez e sólidos solúveis (°Brix), indicam ainda que estas não apresentaram frutos tão desejáveis para o processamento de frutos, como é o caso da variedade Pêra, de uma maneira geral. Embora o quinto grupo (‘Pêra Premunizada-1212’) tenha atingido “ratio” quatorze, 30 dias antes do sexto grupo, apresentou acidez e sólidos solúveis (°Brix) mais elevados em dezembro, significando que sua colheita além de iniciar-se antes, pode prosseguir juntamente com a do grupo de maturação mais tardia. De uma maneira geral os genótipos mantiveram a mesma tendência de maturação nos anos de 1995, 1996 e 1997.

Os resultados confirmam que o método de agrupamento usado neste trabalho, e também por Domingues et al. 1996c, 1997a e 1997b e Mattos Júnior⁵⁸ et al., facilita a seleção de novos clones ou variedades mais precoces e/ou mais tardios, em relação aos já utilizados. O que pode contribuir para uma maior oferta de frutos durante o ano e redução da entressafra. O método permite, ainda, a comparação imediata de um grande número de clones ou variedades com características semelhantes de maturação, e a comparação de um mesmo clone ou variedade quanto à maturação em diferentes regiões.

⁵⁸ MATTOS JUNIOR, D.; GONZALES, A.F.; POMPEU JUNIOR, J.; PARAZZI, C. Avaliação de curvas de maturação de laranjeiras utilizando a análise de agrupamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 1997. (no prelo).

A caracterização de variedades de laranja doce, quanto à qualidade de fruto, é importante para as diferentes regiões de produção, uma vez que a plasticidade fenotípica é acentuada em citros e nem sempre boas ou más características são fenotipicamente estáveis em uma variedade quando plantada em diferentes regiões; deste modo existem diferentes trabalhos neste sentido, como o realizado por Donadio et al. (1979 e 1995) e Paiva et al. (1994).

As médias dos caracteres de avaliação morfológica de fruto e de qualidade de suco, adotados como padrões para a laranja 'Pêra' na região de Limeira, foram definidos com base em resultados apresentados por Coelho (1984), Figueiredo (1991), Viégas (1991) e Nonino (1994) (Tabela 9).

Tabela 9. Valores médios, mínimos e máximos de peso, altura e largura de fruto, altura/ largura de fruto, número de frutos por caixa de 40,8 kg, rendimento de suco no fruto, quantidade de sólidos solúveis por caixa e em °Brix, percentual de acidez e "ratio" adotados para a laranja 'Pêra' "ideal", considerada como de índice 10, e os índices obtidos para 11 clones de laranja 'Pera' e seis outras variedades assemelhadas, quando comparados aos valores adotados como ideais.¹

Variedade ou clone	Peso fruto	Altura fruto	Largura fruto	Alt./ largura	Frutos/ caixa	Rend. suco	kgSS/ cx	SS °Brix	Acidez	"Ratio"	Índice
Laranja 'Pêra' - média	152,5	7	7	1,07	268	52	2,6	11,5	1,2	12,5	10
Laranja 'Pêra' - mín.	140	6	6	1	247	48	2,4	11,5	1	11	10
Laranja 'Pêra' - máx.	170	8	8	1,13	291	> 48	> 2,4	> 11,5	1,65	16	10
Pêra Vimusa	<	1	1	1	>	<	1	1	1	1	7
Pêra EEL	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Pêra GS-2000	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Pêra Olímpia	<	1	1	1	>	1	1	1	1	1	8
Pêra Prem.-1212	<	1	1	1	>	1	1	1	1	1	8
Pêra Bianchi	<	1	1	1	>	1	1	1	1	1	8
Pêra R.Gullo-1569	<	1	1	1	>	1	1	1	1	1	8
Pêra Dibbern	1	1	1	1	>	1	1	1	1	1	9
Pêra Pirangi	1	1	1	1	1	1	1	1	1	<	9
Pêra R.Gullo-1570	<	1	<	1	>	1	1	1	1	1	7
Redonda	<	1	1	1	>	1	1	1	1	<	7
Pêra Prem.-1743	<	1	1	1	>	1	1	1	1	<	7
Ovale	1	1	1	1	1	1	<	<	1	1	8
Ovale de Siracusa	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Ovale San Lio	1	1	1	1	1	1	<	1	1	1	9
Lamb's Summer	<	1	<	1	>	1	1	1	1	<	6
Corsa Tardia	1	1	1	1	1	1	<	<	<	1	7

¹ O sinal < indica abaixo do "ideal", 1 dentro e, > acima do intervalo desejado.

Todos os clones ou variedades da presente pesquisa que apresentaram médias dentro dos intervalos adotados como “ideais” para a laranja ‘Pêra’, receberam índice 10, isto é, mostrou qualidade semelhante à ‘Pêra’ nos 10 caracteres avaliados e, portanto, foram selecionadas como superiores para os caracteres estudados. Estas foram a ‘Pêra EEL’, a ‘Pêra GS-2000’ e a ‘Ovale de Siracusa’, todas encontram-se no terceiro grupo de maturação.

As variedades Corsa Tardia (primeiro grupo de maturação), Ovale e Ovale San Lio (segundo grupo de maturação) não se enquadraram no padrão de qualidade de fruto da laranja ‘Pêra’. A ‘Pêra R.Gullo-1569’ e ‘Pêra R.Gullo-1570’, do quarto grupo de maturação apresentaram frutos com dimensões menores que o ideal para o mercado de frutos *in natura*, os quais podem ser destinados ao processamento. A ‘Pêra Premunizada-1212’ (quinto grupo) e as variedades ‘Pêra Pirangi’, ‘Redonda’ e ‘Lamb’s Summer’ (sexto grupo) não apresentaram o padrão de qualidade de fruto da laranja ‘Pêra’; algumas delas com frutos menores ao ideal mas que podem ser destinados à industrialização. A maturação mais tardia em relação à ‘Pera’ justifica sua seleção, levando em consideração os caracteres aqui avaliados.

4.2 Seleção de variedades de laranja doce quanto à qualidade do fruto e período de maturação

As variedades Baiana Retiro e Washington Navel foram as que produziram frutos maiores (a primeira 231,39 g e a segunda 225,86 g) nos três anos de estudo e estiveram entre as que apresentaram maiores médias de altura e largura, cerca de 7,8 e 7,6 cm, respectivamente, apresentando menor número de frutos por caixa de 40,8 kg (em torno de 180). As variedades Pêra Ipiranga e Lanceta Barão originaram frutos de menor peso (98,02 e 69,05 g, respectivamente), sendo que a última produziu frutos de menor altura e largura média (5,17 e 5,10 cm, respectivamente), perfazendo 601 frutos/ caixa (Tabela 10). Os demais genótipos apresentaram valores intermediários. Em geral, os frutos foram pouco maiores em

1995 que em 1996 e 1997. Como parte dos 44 genótipos estudados não apresentam qualidades agronômicas que justifiquem seu plantio comercial, alguns dos resultados aqui apresentados estarão distantes dos valores ideais recomendados para cultivares. De modo geral, frutos de aproximadamente 150 g e com altura e largura em torno de 7 cm são considerados bons para o mercado de frutas frescas, podendo ser pouco menores (caso da ‘Lima’) ou pouco maiores (caso da ‘Baianinha’) (Figueiredo, 1991).

A relação altura sobre largura, inferior a 1, indicou as variedades com frutos de formato que tende ao oblato, como a ‘Hamlin Reserva’, com 0,93; em torno de 1, indicou os mais circulares (maioria) e acima da unidade, os largamente elípticos ou largamente obovalados, como a ‘Pêra Comprida’, com 1,15, segundo relação de proporção definida por Radford (1974).

O rendimento de suco foi superior na ‘Natal Bebedouro’ e ‘Pêra Caire’ (acima de 52,2%), e inferior na ‘Hamlin Reserva’ e ‘Lanceta Barão’ (abaixo de 36,7%). Sendo que os demais genótipos apresentaram resultados intermediários. As safras diferiram entre si quanto ao rendimento de suco para a média dos genótipos estudados 1997 (48%) > 1996 (47%) > 1995 (44%). De acordo com Figueiredo (1991) a variedade Pêra produz frutos com suco em abundância, em torno de 52% de rendimento de suco, e acima do valor médio obtido com outras variedades de laranja doce, que segundo Viégas (1991), varia de 40 a 45%. A quantidade de sólidos solúveis por caixa, ou rendimento industrial foi superior na ‘Pêra Ovo’ e ‘Pêra Ipiguá’, acima de 2,6 kg/cx. (Tabela 6). Estes valores estão acima da média normalmente observada para a variedade Pêra, que é de 2,5 kg/cx., segundo dados apresentados por Figueiredo (1991). As Variedades Pêra de Abril e Hamlin Reserva apresentaram os menores valores (1,63 kg/cx.). Também ocorreu variação anual para este caracter, 1997 (2,40 kg/cx.) > 1995 (2,21kg/cx.) > 1996 (2,16 kg/cx.).

Os sólidos solúveis (°Brix) e “ratio” médios apresentaram-se mais elevados no ano de 1997 (12,33°Brix e 25,94) e 1995 (12,23°Brix e 23,59) em comparação à 1996 (11,39°Brix e 20,47, respectivamente) para os genótipos avaliados. A acidez média, no entanto, foi superior em 1995 e 1996 (1,13%) em

Tabela 10. Valores médios obtidos para peso, altura, largura, relação altura/largura e número de frutos por caixa, rendimento de suco, quantidade de sólidos solúveis por caixa e em °Brix, acidez e "ratio". Caracteres de valor agrônomico avaliados para frutos em estágio de maturação de 44 genótipos de laranja doce enxertados sobre tangerineira Cleopatra de 1995 a 1997 (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP) ¹.

Variedades	Peso g	Altura cm	Largura cm	Altura/ largura	Frutos/ caixa	Rend. de suco %	SS/ caixa kg/cx	SS °Brix	Acidez %	"Ratio"
Lima	110,06 1-p	6,00 no	6,01 1-t	0,99 h-1	371,78 b-h	44,64 g-m	2,15 h-m	11,83 b-h	0,11 o	113,89 b
Lima Tardia	114,31 k-p	5,98 no	6,02 1-s	0,99 h-m	358,03 c-i	47,51 b-h	2,46 a-g	12,72 a-d	0,08 o	148,15 a
Lima Verde	111,67 1-p	6,57 d-n	5,82 p-t	1,12 ab	368,41 b-h	44,23 h-m	2,11 i-m	11,74 b-h	0,09 o	136,18 a
Lima Lisa	129,78 i-n	6,52 e-o	6,23 g-q	1,04 d-h	317,59 e-o	45,32 e-l	2,24 d-l	12,15 b-f	0,08 o	153,70 a
Baian. Piracicaba	170,83 cd	7,14 bcd	7,03 b	1,01 f-i	241,56 p-u	41,28 k-o	2,03 k-n	12,11 b-g	0,89 k-n	14,40 c
Wash. Navel	225,86 a	7,73 ab	7,55 a	1,03 f-i	183,30 tu	40,65 l-o	2,19 g-m	13,30 ab	0,98 i-m	14,39 c
Baiana Retiro	231,39 a	7,80 a	7,59 a	1,02 e-i	179,92 u	41,16 k-o	2,15 h-m	12,88 abc	1,05 g-m	13,00 c
Baianinha 23460	155,94 c-i	6,81 c-h	6,71 b-g	1,01 g-l	265,95 k-r	42,18 i-n	2,27 c-k	13,24 ab	1,04 g-m	13,20 c
Lanceta Barão	69,05 q	5,17 p	5,10 u	1,01 g-l	601,14 a	33,31 p	1,96 i-o	14,19 a	0,72 i-m	19,99 c
Do Céu - 1	129,59 i-n	6,25 h-o	6,42 d-m	0,97 i-m	320,85 e-m	45,56 e-k	2,11 i-m	10,56 gh	0,47 no	24,33 c
Diva	142,33 d-k	6,53 e-o	6,59 b-j	0,99 h-m	292,52 i-q	46,12 d-j	2,11 i-m	11,13 e-h	1,25 d-k	9,78 c
Cametá	103,46 nop	6,03 mmo	5,89 o-t	1,02 f-j	401,11 bcd	39,33 no	1,69 op	10,55 gh	0,67 i-m	16,50 c
Seleta Branca	209,00 ab	7,31 abc	7,64 a	0,95 l-m	196,92 r-u	41,72 j-n	2,10 i-m	12,42 b-f	0,95 i-m	13,28 c
Seleta Vermelha	161,88 c-h	6,76 c-j	6,83 b-e	0,99 h-m	258,20 l-s	46,30 d-j	2,23 e-l	11,83 b-h	1,00 i-m	12,00 c
Imperial	155,36 c-i	6,79 c-i	6,73 b-f	1,01 g-l	264,45 k-s	47,53 b-h	2,19 g-m	11,36 c-h	1,25 d-k	9,28 c
Hamlin Reserva	209,66 ab	7,32 abc	7,79 a	0,93 m	196,00 stu	36,67 op	1,62 p	10,89 fgh	1,01 i-m	10,94 c
Hamlin	133,23 g-n	6,44 e-o	6,37 e-n	1,01 g-l	307,48 g-p	46,45 d-i	2,25 d-l	11,92 b-g	0,98 i-m	12,48 c
Hamlin Varieg.	129,77 i-n	6,46 e-o	6,37 e-o	1,01 g-l	315,49 e-o	45,38 e-k	2,12 i-m	11,48 c-h	1,02 h-m	11,64 c
Rubi Blood	142,47 d-k	6,36 f-o	6,62 b-i	0,96 klm	287,82 j-q	48,61 a-h	2,38 a-i	12,12 b-g	1,39 b-j	8,93 c
Blood Oval	128,40 i-o	6,75 c-j	6,14 i-r	1,09 a-d	319,88 e-n	49,31 a-g	2,23 e-l	11,13 e-h	1,37 b-j	8,43 c
Sang. Mombuca	137,51 e-m	6,70 d-k	6,42 d-m	1,04 d-h	297,62 i-p	45,98 e-j	2,12 i-m	11,32 c-h	0,66 mn	18,36 c
Cipó	167,32 cde	7,04 cde	6,92 bc	1,01 g-k	245,26 p-u	47,41 b-h	2,20 g-m	11,44 c-h	1,13 e-l	10,54 c
Sang. Piracicaba	127,70 i-p	6,20 i-o	6,42 d-m	0,96 j-m	329,75 e-k	45,20 f-l	2,31 b-k	12,54 b-e	1,25 d-k	10,51 c
Non Pareil	163,60 c-f	6,91 c-f	6,88 bcd	1,00 g-l	250,49 n-t	48,88 a-h	2,23 e-l	11,25 d-h	1,05 g-m	10,92 c
Westin	137,05 f-m	6,32 f-o	6,54 c-k	0,96 j-m	302,42 h-p	45,02 g-m	2,31 b-k	12,59 b-e	1,04 g-m	13,34 c
Caipira-DAC	109,41 1-p	5,93 o	6,04 l-s	0,98 i-m	379,12 b-f	38,05 no	1,78 nop	11,51 c-h	0,72 i-m	17,25 c
Caipira Comum	164,18 c-f	6,90 c-f	6,92 bc	1,00 h-l	250,38 o-t	47,09 c-h	2,22 f-m	11,59 c-h	1,08 f-m	11,19 c
Pele de Moça	120,14 j-p	6,17 j-o	6,12 j-s	1,00 g-l	348,67 d-j	40,48 mmo	2,07 j-n	12,52 b-e	1,06 g-m	12,72 c
Lamb's Summer	107,75 m-p	6,28 g-o	5,75 q-t	1,09 bcd	381,72 b-e	49,77 a-f	2,55 a-d	12,58 b-e	1,62 a-d	8,34 c
Pêra de Abril	169,89 cd	7,79 a	6,96 bc	1,11 abc	245,03 p-u	38,90 no	1,63 p	10,30 h	0,47 no	23,92 c
PêraSemSemente	182,12 bc	7,71 ab	6,84 b-e	1,12 ab	224,67 q-u	52,01 ab	2,37 a-j	11,12 e-h	1,61 a-d	8,59 c
Pêra	163,25 c-g	7,31 abc	6,66 b-h	1,09 bcd	251,69 m-t	51,73 abc	2,39 a-i	11,35 c-h	1,72 abc	6,83 c
Pêra Coroadá	99,05 opq	6,12 k-o	5,65 st	1,08 b-e	419,38 bc	49,28 a-g	2,53 a-e	12,63 a-e	1,40 b-j	9,70 c
Pêra Comprida	111,44 1-p	6,63 d-m	5,75 rst	1,15 a	373,39 b-g	49,85 a-f	2,46 a-h	12,11 b-g	1,43 a-i	9,00 c
Pêra Mel	121,36 i-p	6,54 d-o	6,07 k-s	1,08 b-f	338,66 d-j	50,68 a-d	2,49 a-g	12,07 b-g	1,21 d-k	10,64 c
Pêra Rio	135,49 f-m	6,87 c-g	6,28 f-p	1,09 bcd	304,21 g-p	48,95 a-g	2,37 a-j	11,91 b-g	1,27 c-k	10,07 c
Pêra CV	123,58 j-p	6,64 d-l	5,98 l-t	1,11 abc	335,39 d-j	49,92 a-e	2,54 a-d	12,52 b-e	1,30 c-k	10,41 c
Pêra Ovo	117,27 j-p	6,42 f-o	5,94 m-t	1,08 b-f	351,40 c-j	51,83 ab	2,66 a	12,61 b-e	1,49 a-g	9,05 c
Pêra Caire	132,99 h-n	6,67 d-l	6,20 h-r	1,07 b-f	310,51 f-p	52,23 a	2,57 abc	12,06 b-g	1,31 c-k	9,83 c
Pêra Ipiçua	98,02 pq	6,08 l-o	5,53 tu	1,09 a-d	432,43 b	49,14 a-g	2,64 a	13,18 ab	1,89 a	7,61 c
Valência Late	146,09 d-j	6,52 e-o	6,58 b-j	0,99 h-m	282,91 j-q	51,23 abc	2,52 a-f	12,04 b-g	1,47 a-h	8,71 c
Valência Varieg.	139,49 e-l	6,48 e-o	6,42 d-t	1,00 g-l	294,73 i-p	50,74 a-d	2,49 a-g	12,03 b-f	1,55 a-e	8,43 c
Natal	115,63 k-p	6,29 g-o	5,92 n-l	1,06 c-g	360,70 c-i	51,44 abc	2,59 ab	12,30 b-f	1,81 ab	7,45 c
Natal Bebedouro	128,64 i-o	6,44 e-o	6,15 i-r	1,04 d-h	321,80 e-l	52,43 a	2,61 ab	12,18 b-f	1,53 a-f	8,63 c
dms (Tukey, 5%)	30,11	0,61	0,48	0,06	69,42	4,69	0,31	1,575	0,46	21,48
C.V. (%)	6,45	2,77	2,26	1,70	6,72	3,06	4,12	3,95	12,77	27,69

¹ Médias obtidas de análises quinzenais com amostras de 18 frutos/tratamento no período de junho a dezembro de 1995 a 1997.

relação a 1997 (0,98%). Talvez isto se explique pelas chuvas mais intensas ocorridas em 1996 (Anexo B). Quanto à variação no ano, as curvas de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), acidez e “ratio” (relação $^{\circ}$ Brix/acidez), mostraram tendências distintas, dependendo do genótipo. As “Limas”, com frutos pouco ácidos, apresentaram no mês de junho de percentuais médios de acidez em torno de 0,08% e sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) médio em torno de 10,4 $^{\circ}$ Brix. As variedades tenderam a apresentar elevação dos sólidos solúveis no suco no período analisado e, curiosamente, também leve elevação da acidez, e estas elevações foram mais precoces para a ‘Lima’ e ‘Lima Lisa’ e mais tardias para a ‘Lima Verde’ e ‘Lima Tardia’. Além destas, as variedades Sangüínea de Mombuca, Do Céu-1, Pêra de Abril, Caipira-DAC, Lanceta Barão e Cametá apresentaram acidez inferior à unidade durante o período de análise e a maioria das variedades apresentou valores iniciais de acidez entre 1 e 1,7%. A acidez média de 1995 a 1997 variou de 0,12% na ‘Lima’ a 0,08% na ‘Lima Lisa’ até os índices maiores, observados na ‘Pêra Ipiguá’ (1,89%) e ‘Natal’ (1,81%). De um modo geral todas as variedades apresentavam entre 9 e 11 $^{\circ}$ Brix no início das análises; a média do período estudado permaneceu em torno de 12 $^{\circ}$ Brix, o menor valor foi observado na ‘Pêra de Abril’ (10,30 $^{\circ}$ Brix) e o maior na ‘Lanceta Barão’ (14,19 $^{\circ}$ Brix), ‘Washington Navel’ (13,30 $^{\circ}$ Brix), ‘Baianinha-23-4-60’ (13,24 $^{\circ}$ Brix) e ‘Pêra Ipiguá’ (13,18 $^{\circ}$ Brix). O “ratio” médio foi menor na ‘Perão’ (6,84) e ‘Natal’ (7,46); valores intermediários predominaram destes valores até 14,40, observado na ‘Baianinha Piracicaba’ e ‘Washington Navel’, alcançando valores maiores para variedades de frutos pouco ácidos, desde a ‘Pêra de Abril’ (23,92) e ‘Do Céu-1’ (24,33) até a ‘Lima’ (113,89), ‘Lima Verde’ (136,18), ‘Lima Tardia’ (148,15) e ‘Lima Lisa’ (153,70).

Como citado anteriormente, para o processamento, os frutos são colhidos normalmente com níveis de acidez entre 0,6 a 0,9% (Di Giorgi et al., 1994), e “ratio” entre 11 e 14 (Viégas, 1991). Muitas variedades do presente trabalho produzem frutos adequados ao processamento e seus teores de acidez, de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) e “ratio” médios se enquadram no exposto acima.

A altura, largura e peso do fruto apresentaram correlações médias significativas entre si (acima de +0,82). O percentual médio de acidez de suco observado de junho a dezembro (de 1995 a 1997) apresentou correlação significativa com o rendimento de suco (%) no fruto (+0,53), com sólidos solúveis por caixa (+0,56) e com “ratio” (-0,74). Assim como observado no experimento anterior, os valores de “ratio” apresentaram correlação negativa significativa apenas com a acidez, o que indica a maior importância da acidez, em detrimento dos sólidos solúveis (°Brix), na intensidade deste carácter (Tabela 11).

Tabela 11. Correlação produto-momento de Pearson, para percentual de acidez, sólidos solúveis (°Brix), “ratio”, peso, altura e largura de fruto, relação altura/ largura de fruto, rendimento de suco, quantidade de sólidos solúveis/ caixa e número de frutos/ caixa de 40,8 kg, avaliados para 44 variedades de laranja doce, de 1995 a 1997.

Caracteres	Acidez	°Brix	“Ratio”	Peso de fruto	Altura de fruto	Largura de fruto	Alt./larg de fruto	Rend. de suco	kgSS/ caixa	Frutos/ caixa
Acidez	1,00	0,18	-0,74*	0,01	0,08	-0,06	0,24	0,53*	0,56*	-0,04
°Brix	0,18	1,00	0,02	-0,22	-0,33	-0,30	-0,02	-0,07	0,48*	0,37*
“Ratio”	-0,74*	0,02	1,00	-0,20	-0,20	-0,20	0,02	-0,11	-0,08	0,17
Peso de fruto	0,01	-0,22	-0,20	1,00	0,89*	0,97*	-0,24	-0,15	-0,24	-0,93*
Altura fruto	0,08	-0,33	-0,20	0,89*	1,00	0,82*	0,19	0,04	-0,14	-0,88*
Largura fruto	-0,06	-0,30	-0,20	0,97*	0,82*	1,00	-0,41*	-0,21	-0,34*	-0,93*
Alt./larg fruto	0,24	-0,02	0,02	-0,24	0,19	-0,41*	1,00	0,42*	0,37*	0,20
Rend. de suco	0,53*	-0,07	-0,11	-0,15	0,04	-0,21	0,42*	1,00	0,83*	-0,07
kgSS/caixa	0,56*	0,48*	-0,08	-0,24	-0,14	-0,34*	0,37*	0,83*	1,00	0,13
Frutos/caixa	-0,04	0,37	0,17	-0,93*	-0,88*	-0,93*	0,20	-0,07	0,13	1,00

* Correlações marcadas foram significativas a 5% de probabilidade.

Os cinco primeiros componentes principais, com eigen-valores > 1, representaram 94,35% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (39,22% da variância total) foram peso, altura e largura de fruto e número de frutos por caixa. No segundo componente (26,02% da variância total) foram acidez, rendimento de suco e sólidos solúveis/caixa. No terceiro componente (12,32% da variância total) foi o “ratio” e no quarto (9,62% da variância total) o teor de sólidos solúveis (°Brix). Nas análises feitas para as safras individuais os resultados foram semelhantes (Tabela 12).

Tabela 12. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição de cada caracter de qualidade de fruto avaliado para 44 variedades de laranja doce, de 1995 a 1997, para a explicação da variância de cada componente.

Comp. princ.	Eigen valor	Variân. total %	Eigen-valor acumulado	Variância tot. acum. %	Caracteres	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4
1	11,77	39,22	11,77	39,22	Acidez, 95	0,10	0,91*	0,30	0,10
2	7,81	26,02	19,57	65,24	SS (°Brix), 95	0,30	0,12	0,18	-0,82*
3	3,69	12,32	23,27	77,56	“Ratio”, 95	0,21	-0,58	-0,68	-0,33
4	2,89	9,62	26,15	87,18	Peso fruto, 95	-0,94*	0,17	0,03	-0,16
5	2,15	7,18	28,31	94,35	Altura fruto, 95	-0,83*	0,34	-0,23	0,03
6	0,49	1,65	28,80	96,00	Larg. fruto, 95	-0,97*	0,06	0,10	-0,13
7	0,26	0,85	29,06	96,86	Alt/larg.fruto,95	0,42	0,42	-0,50	0,27
8	0,24	0,79	29,29	97,64	Rend.suco (%), 95	0,35	0,78*	-0,32	-0,04
9	0,19	0,64	29,49	98,29	SS/cx, 95	0,46	0,71*	-0,18	-0,43
10	0,13	0,44	29,62	98,72	Num. frutos, 95	0,91*	-0,32	0,11	0,09
11	0,08	0,27	29,70	98,99	Acidez, 96	0,03	0,86*	0,39	-0,03
12	0,07	0,25	29,77	99,24	SS (°Brix), 96	0,25	0,06	0,17	-0,71*
13	0,06	0,20	29,83	99,44	“Ratio”, 96	0,21	-0,59	-0,68	-0,32
14	0,05	0,16	29,88	99,60	Peso fruto, 96	-0,94*	0,15	-0,03	-0,16
15	0,04	0,14	29,92	99,74	Altura fruto, 96	-0,86*	0,29	-0,30	0,15
16	0,02	0,08	29,94	99,81	Larg. fruto, 96	-0,97*	0,01	0,04	-0,12
17	0,01	0,04	29,96	99,85	Alt/larg.fruto,96	0,31	0,44	-0,53	0,43
18	0,01	0,03	29,97	99,88	Rend.suco (%), 96	0,25	0,74*	-0,40	0,04
19	0,01	0,03	29,97	99,92	SS/cx, 96	0,40	0,72*	-0,25	-0,45
20	0,01	0,02	29,98	99,94	Num. frutos, 96	0,91*	-0,20	0,16	0,07
21	0,01	0,02	29,99	99,96	Acidez, 97	0,12	0,83*	0,42	0,20
22	0,00	0,01	29,99	99,97	SS (°Brix), 97	0,57	0,10	0,42	-0,47
23	0,00	0,01	30,00	99,98	“Ratio”, 97	0,19	-0,56	-0,71*	-0,33
24	0,00	0,01	30,00	99,99	Peso fruto, 97	-0,94*	0,11	-0,05	-0,22
25	0,00	0,00	30,00	100,00	Altura fruto, 97	-0,82*	0,29	-0,31	0,02
26	0,00	0,00	30,00	100,00	Larg. fruto, 97	-0,96*	0,03	0,03	-0,20
27	0,00	0,00	30,00	100,00	Alt/larg.fruto,97	0,24	0,45	-0,55	0,36
28	0,00	0,00	30,00	100,00	Rend.suco (%), 97	0,18	0,81*	-0,31	-0,11
29	0,00	0,00	30,00	100,00	SS/cx, 97	0,42	0,77*	-0,10	-0,31
30	0,00	0,00	30,00	100,00	Num. frutos, 97	0,92*	-0,20	0,18	0,16
Variância explic.						11,77	7,81	3,69	2,89
Proporção total						0,39	0,26	0,12	0,10

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

A partir destas análises deduz-se que 8 dos 10 caracteres avaliados foram mais importantes na explicação da maior parte da variância observada (3 primeiros componentes, 77,56%) entre os genótipos estudados. Dos 8 caracteres,

vários encontram-se fortemente correlacionados e poderiam ser excluídos em estudos taxonômicos envolvendo muitos genótipos.

Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para as médias originais padronizadas, foram separados 9 grupos distintos à distância Euclidiana igual a 5. Os quais foram em ordem crescente de similaridade: ‘Lanceta Barão’; ‘Pêra de Abril’; ‘Hamlin Reserva’; ‘Seleta Branca’, ‘Washington Navel’ e ‘Baiana Retiro’; ‘Lima Verde’, ‘Lima Lisa’, ‘Lima Tardia’ e ‘Lima’; ‘Caipira-DAC’, ‘Cametá’ e ‘Do Céu-1’; ‘Pêra sem Sementes’ e ‘Perão’; ‘Baianinha Piracicaba’, ‘Baiana 23-4-60’, ‘Diva’, ‘Hamlin’, ‘Hamlin Variegada’, ‘Sangüínea Mombuca’, ‘Seleta Vermelha’, ‘Caipira Comum’, ‘Cipó’, ‘Non Pareil’, ‘Imperial’, ‘Rubi Blood’, ‘Valência Late’, ‘Valência Variegada’, ‘Sangüínea Piracicaba’, ‘Westin’ e ‘Pele de Moça’; e o nono grupo formado pela ‘Blood Oval’, ‘Pêra Rio’, ‘Lamb’s Summer’, ‘Pêra Ovo’, ‘Natal’, ‘Pêra Mel’, ‘Pêra C.V.’, ‘Pêra Caire’, ‘Natal Bebedouro’, ‘Pêra Coroada’, ‘Pêra Comprida’ e ‘Pêra Ipiguá’ (Figura 3).

Pelos escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, as variedades ‘Lanceta Barão’, ‘Pêra de Abril’ e ‘Hamlin Reserva’ também estiveram entre as mais distantes, no entanto, pelos dados originais padronizados muitas variedades e clones de origem reconhecidamente comum por mutação somática apresentaram agrupadas conjuntamente, como o caso da ‘Hamlin’ e ‘Hamlin Variegada’; ‘Washington Navel’ e ‘Baiana Retiro’; ‘Valência Late’ e ‘Valência Variegada’, entre outros (Figura 3). Estes resultados mostraram boa eficiência e repetibilidade da análise multivariada na separação dos genótipos.

Quando envolvendo diferentes espécies este tipo de estudo possui grande importância taxonômica. Para a realização deste tipo de trabalho a taxonomia numérica e as análises multivariadas passaram a ocupar lugar de destaque, auxiliando nos estudos de relação de parentesco entre gêneros, espécies e variedades cultivadas, como ilustrado em diferentes trabalhos (Crisci & Armengol, 1983; Manly, 1994). Um dos trabalhos de maior destaque envolvendo citros, foi realizado por Barret & Rhodes

Médias padronizadas para 10 caracteres de qualidade de fruto (UPGMA)

Escores dos componentes principais de 10 caracteres de fruto (UPGMA)

Figura 3. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA, para 10 caracteres de qualidade de fruto de 44 variedades de laranja doce, de 1995 a 1997.

(1976); estes sugeriram apenas três espécies válidas dentro do gênero *Citrus*: tangerinas (*Citrus reticulata* Blanco), toranjas (*C. grandis* Osbeck) e cidras (*C. medica* L.) utilizando análise multivariada na análise de caracteres morfológicos de variedades representantes de diferentes grupos de citros. Além da importância taxonômica, no entanto, a presente pesquisa objetivou conhecer melhor os caracteres envolvidos com a variabilidade fenotípica em variedades de laranja doce, suas correlações e importância para programas seletivos e de melhoramento genético.

Pelas curvas de tendência da maturação de frutos, observou-se que a regressão linear apresentou melhores ajustes para acidez e “ratio” e a polinomial de segundo grau para o sólidos solúveis (°Brix). Estas confirmaram que muitas das variedades já apresentava os frutos em estágio de maturação avançada no final de julho e início de agosto. O período de safra, na região estudada, iniciou-se para algumas variedade em torno de maio e para outras em meados de setembro e estendeu-se até o final de dezembro, ou mais.

Foram obtidos dendrogramas pelos dados padronizados e pelos escores dos componentes principais para os valores estimados de sólidos solúveis (°Brix) e acidez, ao final de julho e início de agosto, de 1995 a 1997 (Tabela 13 e Figura 4). Assim como no experimento anterior, optou-se por adotar o agrupamento realizado pelos dados padronizados, apesar de aqui o dendrograma obtido pelos escores dos componentes principais ter sido coerente ao adotado. Adotando-se como separatriz o nível 3,5 de distância Euclidiana, obteve-se 9 grupos de maturação, os quais foram ordenados dos de menor acidez média aos de maior acidez média, ao início das análises, uma vez que de acordo com resultados prévios com clones da variedade Pêra e outras variedades de laranja doce, notou-se que maiores percentuais de acidez geralmente indicaram variedades mais tardias (Domingues et al., 1996c, 1997a e 1997b): o primeiro foi representado pela ‘Lima’, ‘Lima Verde’, ‘Lima Lisa’ e ‘Lima Tardia’; ‘Pêra de Abril’; ‘Cametá’ e ‘Do Céu-1’; ‘Lanceta Barão’, ‘Westin’, ‘Washington Navel’, ‘Baiana Retiro’ e ‘Baianinha 23-4-60’; ‘Baianinha Piracicaba’, ‘Seleta Branca’, ‘Seleta Vermelha’, ‘Hamlin’, ‘Pêra Mel’, ‘Imperial’, ‘Cipó’, ‘Hamlin

Variegada', 'Caipira Comum', 'Non Pareil', 'Hamlin Reserva', 'Sangüínea Mombuca' e 'Caipira-DAC'; 'Blood Oval'; 'Diva', 'Rubi Blood', 'Pêra Rio', 'Pêra Caire', 'Lamb's Summer', 'Pêra Comprida', 'Valência Late', 'Valência Variegada', 'Natal Bebedouro', 'Pêra sem Sementes', 'Perão', 'Sangüínea Piracicaba', 'Pele de Moça', 'Pêra Coroada', 'Pêra Ovo' e 'Pêra C.V.'; 'Pêra Ipiguá'; 'Natal' (Figura 4).

Tabela 13. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) no suco de frutos de 44 variedades de laranja doce, de 1995 a 1997, para a explicação da variância de cada componente.

Compon. princ.	Eigen valor	Variância total %	Eigen-valor acumulado	Variância total acumulada %	Caracteres	Comp.1	Comp.2
						1	2
1	9,35	51,92	9,35	51,92	Acidez - jul.95	0,86*	-0,45
2	6,06	33,69	15,41	85,62	Acidez - jul.95	0,86*	-0,45
3	1,35	7,47	16,76	93,09	Acidez - ago.95	0,86*	-0,45
4	0,34	1,87	17,09	94,96	Acidez - jul.96	0,87*	-0,38
5	0,20	1,10	17,29	96,06	Acidez - jul.96	0,87*	-0,38
6	0,12	0,67	17,41	96,74	Acidez - ago.96	0,87*	-0,38
7	0,06	0,31	17,47	97,05	Acidez - jul.97	0,82*	-0,50
8	0,05	0,29	17,52	97,34	Acidez - jul.97	0,82*	-0,50
9	0,05	0,27	17,57	97,61	Acidez - ago.97	0,82*	-0,50
10	0,05	0,27	17,62	97,88	°Brix - jul.95	0,57	0,74*
11	0,05	0,27	17,67	98,15	°Brix - jul.95	0,58	0,73*
12	0,05	0,27	17,71	98,41	°Brix - ago.95	0,59	0,73*
13	0,05	0,26	17,76	98,68	°Brix - jul.96	0,49	0,78*
14	0,05	0,26	17,81	98,94	°Brix - jul.96	0,48	0,79*
15	0,05	0,26	17,86	99,21	°Brix - ago.96	0,47	0,79*
16	0,05	0,26	17,90	99,47	°Brix - jul.97	0,62	0,51
17	0,05	0,26	17,95	99,74	°Brix - jul.97	0,62	0,52
18	0,05	0,26	18,00	100,00	°Brix - ago.97	0,60	0,53
Variância explic.						9,35	6,06
Proporção total						0,52	0,34

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

Foi observado que as variedades do grupo 1 apresentaram 0,08% de acidez de suco média em junho, de 1995-1997, enquanto ; o grupo 2 apresentou 0,48%; o terceiro 0,69%, o quarto 1,09%; o quinto 1,13%; o sexto 1,71%; o sétimo 1,86%; o oitavo 2,43% e o nono 2,49%. Os grupos com percentual de acidez

Médias padronizadas para percentual de acidez e sólidos solúveis (Brix) (UPGMA)

Escores dos componentes principais para acidez e sólidos solúveis (UPGMA)

Figura 4. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram percentual de acidez e sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) ao final de julho e início de agosto, de 1995 a 1997, em 44 variedades de laranja doce.

próximos, como aconteceu com o quarto e quinto e, oitavo e nono grupos, foram separados na análise de agrupamento pelos sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), enquanto o quarto e oitavo grupos apresentaram em torno de 11,20 $^{\circ}$ Brix o quinto e o nono apresentaram 10,20 $^{\circ}$ Brix.

Domingues et al. (1996c, 1997a e 1997b) definiram metodologia de seleção de clones de laranja Pêra e variedades assemelhadas quanto ao período de maturação, naquela metodologia o “ratio” 14, normalmente adotado comercialmente como ideal para colheita e processamento de frutos daquelas variedades, era utilizado nas equações de regressão das variedades para cálculo das datas em que estas atingiriam “ratio” 14 e definir as diferenças de maturação entre estas ou entre os grupos separados pela análise multivariada. No presente trabalho, no entanto, devido a envolver variedades com diferentes épocas de maturação e diferentes médias de acidez, sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) e “ratio”, tal separação não é possível. De um modo geral o índice de acidez inferior foi indicativo de maior precocidade também para estas, o que foi constatado ao comparar-se os resultados para algumas variedades com o indicado por Figueiredo (1991), mas existem exceções, como é o caso da Lima Verde, que possui safra mais tardia que a ‘Lima’ comum, colhida de março a julho; ambas dificilmente puderam ser separadas pelas curvas de acidez ou sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix).

Para muitas das variedades aqui estudadas não se dispõe em literatura os índices ideais de acidez, sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) e “ratio” para a colheita, o que facilitaria muito na determinação das diferentes épocas de maturação para cada uma. Os resultados confirmam que o método de agrupamento usado neste trabalho, facilita a seleção de variedades mais precoces e/ou mais tardios, mas não é totalmente eficiente quando inclui variedades muito distintas quanto às épocas de maturação e curvas de acidez e sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix). No entanto, por meio de acompanhamento em campo as 44 variedades estudadas foram ordenadas quanto ao limite aproximado da época de colheita: Lima, Lima Lisa, Lima Tardia, Cametá, Lanceta Barão, Hamlin Reserva, Do Céu-1 (agosto); Caipira-DAC, Baiana Retiro, Washington Navel,

Baianinha-23-4-60, Baianinha Piracicaba, Hamlin, Hamlin Variegada (setembro); Westin, Sangüínea Mombuca, Seleta Vermelha, Imperial, Cipó, Caipira Comum, Rubbi Blood, Sangüínea Piracicaba, Non Pareil, Pêra de Abril (outubro); Seleta Branca, Perão, Pêra sem Sementes, Blood Oval, Pêra Ipiгуá, Pêra Caire, Diva (novembro); Pêra Coroada, Lima Verde, Lamb's Summer, Pêra Ovo, Pêra Comprida, Pêra Mel, Pêra Rio, Valência Late, Pele de Moça, Pêra C.V., Valência Variegada, Natal, Natal Bebedouro (dezembro). O início do amarelecimento das cascas dos frutos deu-se em março nos “clones” de Hamlin e na Seleta Vermelha e as que mais demoraram a amarelecer foram a Lima Verde, Pêras, Valência e Natal, de um modo geral. A Figura 5 traz as fotos realizadas para os frutos das variedades e clones estudados na presente pesquisa, pelas quais pode-se ter uma noção das dimensões dos frutos, coloração de casca e de polpa e textura e brilho de casca.

Diversos trabalhos têm utilizado a análise multivariada para estudos de taxonomia em citros, dos quais, um dos primeiros e mais importantes foi realizado por Barret & Rhodes (1976). Outros mais recentes têm utilizado a análise de agrupamentos com a mesma finalidade, como Gogorcena & Ortiz (1993). Esta técnica mostrou ser, ainda, uma “ferramenta” importante para comparação de variedades de laranja doce, quanto aos caracteres agronômicos relacionados à morfologia e maturação de frutos. Os resultados observados para as safras de 1995, 1996 e 1997 indicaram boa repetibilidade de resultados usando esta técnica.

No presente trabalho, assim como para o experimento anterior, foram adotados valores como padrões para um fruto de laranja doce na região de Limeira. Aqui, os caracteres também foram definidos com base nos resultados apresentados por Coelho (1984) e Nonino (1994), no entanto, procurou-se cobrir, na medida do possível, os requisitos exigidos para frutos destinados tanto ao mercado *in natura* como à indústria, para processamento. Devido a maior variabilidade existente nos genótipos aqui avaliados, para se estabelecer um índice de seleção, ampliou-se os intervalos aceitáveis para dimensões de frutos e outros caracteres de qualidade de suco, basendo-se em Figueiredo (1991) e Viégas (1991) (Tabela 14). As variedades

que apresentaram médias dentro dos intervalos adotados como “ideais” para a laranja doce, receberam índice 10 e foram selecionadas como superiores para os caracteres estudados. E estas foram: ‘Westin’ (grupo de maturação 4); ‘Seleta Vermelha’, ‘Hamlin’, ‘Cipó’, ‘Non Pareil’, ‘Caipira Comum’ (grupo de maturação 5), ‘Rubi Blood’, ‘Perão’, ‘Pêra Rio’, ‘Pêra Caire’, ‘Valência Late’ e ‘Valência Variegada’ (grupo de maturação 7). Pode-se notar que entre as selecionadas encontram-se algumas das principais cultivares de laranja doce do país, o que demonstra boa eficiência do método adotado.

Merecem destaque, ainda, as variedades Blood Oval (grupo 6) e Pêra Mel (grupo 5), pois, embora tenham apresentado frutos menores que o ideal estes poderiam ser destinados ao processamento. Como mais tardias, as variedades Natal Bebedouro (grupo 7), Pêra Ipiguá (grupo 8) e Natal (grupo 9) poderiam ser destacadas, embora também tenham apresentado frutos menores ao ideal. Para os demais grupos de laranja doce, com características específicas de maturação, destacou-se a ‘Lima Lisa’, dentre as laranjas de baixa acidez, as Baianinhas Piracicaba e 23-4-60, dentre as laranjas de “umbigo”, e a sangüínea de Piracicaba.

Tabela 14. Valores médios, mínimos e máximos de peso, altura e largura de fruto, altura/ largura de fruto, número de frutos por caixa de 40,8 kg, rendimento de suco, quantidade de sólidos solúveis/caixa e em °Brix, percentual de acidez e “ratio” adotados para frutos “ideais” de laranja doce, considerada como de índice 10; e os índices obtidos para laranjas de 44 variedades, quando comparadas à ideal.¹

Variedade	Peso fruto	Altura fruto	Largura fruto	Alt./ largura	Frutos / caixa	Rend. suco	kgSS/ cx	°Brix	Acidez	“Ratio”	Índice
Laranja “ideal” - média	152,5	7	7	1,07	267	52	2,4	11,5	1,2	12,5	10
Laranja “ideal” -mínimo	130	6	6	0,95	313	45	2,2	11	0,7	5,8	10
Laranja “ideal” -máximo	190	8	8	1,13	233	> 45	> 2,2	> 11	1,9	16	10
Lima	<	1	1	1	>	<	<	1	<	>	4
Lima Tardia	<	<	1	1	>	1	1	1	<	>	5
Lima Verde	<	1	<	1	>	<	<	1	<	>	3
Lima Lisa	<	1	1	1	>	1	1	1	<	>	6
Baianinha Piracicaba	1	1	1	1	1	<	<	1	1	1	8
Washington Navel	>	1	1	1	<	<	<	1	1	1	6
Baiana Retiro	>	1	1	1	<	<	<	1	1	1	6
Baianinha 23-4-60	1	1	1	1	1	<	1	1	1	1	9
Lanceta Barão	<	<	<	1	>	<	<	1	1	>	3
Do Céu - 1	<	1	1	1	>	1	<	<	<	>	4
Diva	1	1	1	1	>	1	<	1	1	1	8
Cametá	<	1	<	1	>	<	<	<	<	>	2
Seleta Branca	>	1	1	1	<	<	<	1	1	1	6
Seleta Vermelha	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Imperial	1	1	1	1	1	1	<	1	1	1	9
Hamlin Reserva	>	1	1	<	<	<	<	<	1	1	4
Hamlin	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Hamlin Variegada	<	1	1	1	>	1	<	1	1	1	7
Rubi Blood	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Blood Oval	<	1	1	1	>	1	1	1	1	1	8
Sangüínea Mombuca	1	1	1	1	>	1	<	1	<	>	6
Cipó	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Sangüínea Piracicaba	<	1	1	1	>	1	1	1	1	1	8
Non Pareil	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Westin	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Caipira-DAC	<	<	1	1	>	<	<	1	1	>	4
Caipira Comum	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Pele de Moça	<	1	1	1	>	<	<	1	1	1	6
Lamb's Summer	<	1	<	1	>	1	1	1	1	1	7
Pêra de Abril	1	1	1	1	1	<	<	<	<	>	5
Pêra sem Sementes	1	1	1	1	>	1	1	1	1	1	9
Perão	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Pêra Coroada	<	1	<	1	>	1	1	1	1	1	7
Pêra Comprida	<	1	<	>	>	1	1	1	1	1	6
Pêra Mel	<	1	1	1	>	1	1	1	1	1	8
Pêra Rio	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Pêra C.V.	<	1	<	1	>	1	1	1	1	1	7
Pêra Ovo	<	1	<	1	>	1	1	1	1	1	7
Pêra Caire	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Pêra Ipiquá	<	1	<	1	>	1	1	1	1	1	7
Valência Late	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Valência Variegada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Natal	<	1	<	1	>	1	1	1	1	1	7
Natal Bebedouro	<	1	1	1	>	1	1	1	1	1	8

¹ O sinal < indica abaixo do ideal, 1 dentro e, > acima do intervalo desejado.

Figura 5. Fotos de frutos de variedades e clones estudados na presente pesquisa, realizadas em 1995 e 1996. No alto os clones de laranja 'Pêra' e variedades assemelhadas e em seguida 44 variedades do BAG-citros.

4.3 Poliembrionia em clones de laranja Pêra e variedades assemelhadas⁵⁹

Domingues et al. (1997c) apresentaram resumidamente alguns dos resultados aqui discutidos em detalhe. Na Tabela 15 estão apresentados os valores médios referentes ao número de sementes por fruto, peso de 30 sementes, número de embriões observados na semente, percentual de germinação das sementes e o número médio de embriões por semente germinada.

Tabela 15. Peso de 30 sementes e valores médios referentes ao número de sementes por fruto, número de embriões observados por semente e taxa de poliembrionia correspondente, percentual de germinação das sementes em telado (CCSM/IAC), número médio de embriões por semente germinada e taxa de poliembrionia correspondente, para 11 clones da variedade Pêra e 6 variedades assemelhadas.^{1,2}

Variedade ou clone	Peso de 30 sementes	Número de sementes por fruto	N. embriões observados por semente	Poliembrion. observada nas sementes	Percentual de germinação em telado	N. embriões por semente germinada	Poliembrionia observada em telado
	g			%	%		%
Pêra Vimusa	3,9	3,7 abc	2,7 bcd	66,7 bcd	70,8	1,8	58,8
Pêra EEL	3,0	2,9 bcd	1,4 d	41,6 d	4,2	1,0	0,0
Pêra GS-2000	4,2	2,9 bcd	3,4 bc	85,7 ab	12,5	2,3	66,6
Pêra Olímpia	4,3	5,7 ab	4,0 b	83,3 ab	45,8	1,7	54,5
Pêra Prem.-1212	3,1	4,0 abc	6,2 a	100,0 a	12,5	1,0	0,0
Pêra Bianchi	4,3	4,8 abc	4,3 ab	85,7 ab	45,8	1,7	36,4
Pêra R.G-1569	2,8	4,4 abc	2,0 cd	50,0 cd	41,7	1,6	60,0
Pêra Dibbern	2,7	2,6 cde	3,2 bc	80,0 abc	16,7	1,5	50,0
Pêra Pirangi	3,7	7,3 a	4,3 ab	83,3 ab	4,2	1,0	0,0
Pêra R.G-1570	2,8	4,7 abc	4,2 ab	80,0 abc	12,5	1,7	33,3
Pêra Prem.-1743	3,3	4,4 abc	3,2 bc	100,0 a	33,3	1,4	37,5
Redonda	4,2	5,0 abc	3,3 bc	66,7 bcd	16,7	1,3	25,0
Ovale	3,8	0,4 e	4,2 ab	60,0 bcd	33,3	2,0	75,0
Ovale Siracusa	3,1	5,9 ab	4,0 b	87,5 ab	4,2	2,0	100,0
Ovale San Lio	3,1	1,1 de	4,3 ab	100,0 a	37,5	1,4	44,4
Lamb's Summer	4,9	4,9 abc	3,4 bc	66,7 bcd	16,7	1,3	25,0
Corsa Tardia	3,6	1,1 de	3,3 bc	62,5 bcd	8,3	2,0	100,0
dms (Tukey, 5%)		0,77	0,41	28,67			
C.V. (%)		33,5	16,93	34,61			

¹ Semeadura em outubro de 1995. ² Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente entre si (sentido vertical) pelo teste de Tukey - 5%

⁵⁹ DOMINGUES, E.T.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; TULMANN NETO, A. Estudo da poliembrionia em diferentes clones de laranja Pêra e variedades assemelhadas. *Bragantia*, 1997. /No prelo/.

O menor número de sementes foi observado em frutos das variedades Ovale, Ovale San Lio, Corsa Tardia, com aproximadamente uma semente por fruto, e da variedade Pêra, clones: Dibbern, EEL e GS-2000, com aproximadamente 3 sementes. As variedades que apresentaram maior número de sementes por fruto foram ‘Pêra Pirangi’, ‘Ovale de Siracusa’ e ‘Pêra Olímpia’, com 6 a 7 sementes. Diferentemente das variedades de porta-enxertos, que normalmente apresentam muitas sementes poliembriônicas as quais produzem mudas vigorosas e homogêneas, em variedades copa é comum selecionar-se aquelas que produzam frutos com o menor número de sementes possível (Hodgson, 1967; Figueiredo, 1991). As variedades apresentaram diferenças nos valores médios para o peso das sementes, enquanto a ‘Pêra’, clones: Dibbern, R.Gullo-1569 e R.Gullo-1570, produziram sementes mais leves (2,7 e 2,8 g para 30 sementes) a variedade Lamb’s Summer apresentou sementes mais pesadas (4,9 g para 30 sementes) e as demais variedades estudadas apresentaram respostas intermediárias. O peso das sementes apresentou correlação significativa com o percentual de germinação de sementes (+0,65) e com o número de embriões por semente germinada (+0,61) (Tabela 16).

Tabela 16. Correlação produto-momento de Pearson, para número e peso de semente, número de embriões e percentual de poliembria na semente, percentual de germinação, número de embriões e percentual de poliembria em semente germinada, em telado, para 11 clones da variedade Pêra e 6 variedades assemelhadas.

Caracteres	N.semen/ fruto	Peso de sementes	N. embriões por semente	Poliembrión. nas sementes	Percentual germinação	N. embriões/ semen.germ.	Poliembr.em semen.germ.
Num. sem./ fruto	1,00	-0,19	0,13	0,19	-0,58*	-0,35	-0,35
Peso de sementes	-0,19	1,00	0,15	-0,01	0,65*	0,61*	0,22
N.embriões/ semen	0,13	0,15	1,00	0,73*	0,01	0,03	-0,13
Poliemb. semente	0,19	-0,01	0,73*	1,00	0,02	0,06	-0,07
Perc. germinação	-0,58*	0,65*	0,01	0,02	1,00	0,78*	0,30
N.embr/sem.germ.	-0,35	0,61*	0,03	0,06	0,78*	1,00	0,57*
Poliembr.semgerm	-0,35	0,22	-0,13	-0,07	0,30	0,57*	1,00

* Correlações marcadas foram significativas a 5% de probabilidade.

Quanto ao número de embriões observados diretamente nas sementes, verificou-se que a ‘Pêra EEL’ apresentou valores mais baixos, com 1,4 embriões por

semente. A maioria das variedades, no entanto, apresentou de 2 a 4 embriões por semente tendo a 'Pêra Premunizada-1212' apresentado o maior valor médio (6,2 embriões por semente). Com exceção da 'Pêra Vimusa', com 70,8% de germinação, as demais variedades apresentaram valores menores que 50%. As que apresentaram menores valores médios foram a 'Pêra EEL', 'Pêra Pirangi' e a variedade Ovale de Siracusa (4,2 %) e maiores valores a 'Pêra R.Gullo-1569', 'Pêra Bianchi' e 'Pêra Olímpia' (em torno de 45%).

Estes dados estão de acordo com o observado por Moreira & Gurgel (1941), os quais consideraram uma média de 50% de germinação boa para o estudo da poliembrião em citros e, obtiveram apenas 9,8% de germinação para sementes de laranja 'Pêra'. Talvez isso se deva a elevada taxa de infertilidade de pólen e a elevada formação de sementes vazias nestas variedades (Domingues⁶⁰ et al.). O reduzido número de sementes desenvolvidas nos frutos da variedade Pêra, associado às elevadas taxas de infertilidade do pólen podem estar relacionados com a embrião nucelar. Segundo Cameron & Frost (1968), a embrião nucelar deve ter favorecido o acúmulo de genes recessivos por mutação, incluindo aqueles que diminuem o vigor e a fertilidade, e esses genes quando numerosos, tendem a eliminar o sucesso da reprodução sexuada, especialmente por autofecundação e, embora existam exceções, a polinização é necessária para a formação dos embriões nucleares, não se sabe, no entanto, o quanto a fecundação é importante para isto.

Foi observado que as variedades estudadas apresentaram-se poliembriônicas pelos dois métodos utilizados. Com exceção da 'Pêra EEL', 'Pêra Pirangi' e 'Pêra Premunizada-1212', as demais apresentaram número médio de embriões por semente germinada superior a 1. A variedade Redonda com 1,3 embriões, a 'Pêra GS-2000' com 2,3 embriões por semente germinada e as outras com valores intermediários. De um modo geral as sementes que apresentaram apenas um embrião por semente germinada, foram mais comuns, seguidas das que

⁶⁰ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Estudo da viabilidade de pólen em clones de laranja Pêra e outras variedades assemelhadas. *Revista Ciência Rural*. Universidade Federal de Santa Maria. 1997. (encaminhado para publicação em Ago. 1997).

produziram dois e assim sucessivamente, o número máximo de embriões por semente germinada foi igual a quatro e ocorreu para a ‘Pêra Bianchi’.

Confrontando-se os resultados da contagem dos embriões com cotilédones visíveis na semente e os obtidos por semente germinada, observa-se que este último valor é sempre menor, indicando a maior eficiência na determinação da poliembria pelo primeiro método, uma vez que nas germinações a diferença de vigor entre os embriões e a competição entre os mesmos leva a essa diminuição observada. Não foram constatadas variedades monoembriônicas pela contagem dos embriões com cotilédones visíveis na semente.

Moreira et al. (1947) apresentaram sistema de classificação da poliembria em *Citrus*. Consideraram a poliembria baixa quando varia de 0 a 15% na sementeira e de 0 a 30% na contagem de embriões na semente; média quando varia de 15 a 30% na sementeira e de 30 a 60% na contagem de embriões na semente; e, alta quando superior a 30% na sementeira e superior a 60% na contagem de embriões na semente. De acordo com estes critérios as variedades analisadas apresentaram poliembria de média à elevada, seja pelos dados de observação direta como pela germinação na sementeira. Neste último caso, as exceções foram a ‘Pêra EEL’, ‘Pêra Premunizada-1212’ e ‘Pêra Pirangi’, que provavelmente devido à baixa taxa de germinação não permitiram a observação de mais de um embrião por semente germinada. As taxas de poliembria observadas, normalmente elevadas, foram concordantes com os resultados apresentados em trabalhos com laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, e exemplificados por Moreira et al. (1947) e Prates (1977), e não apresentaram correlação significativa com número, peso ou taxa de germinação, de sementes.

No presente trabalho observou-se que a maioria das variedades estudadas, com maior ou menor taxa de poliembria, apresentou sementes com apenas um embrião observado ou germinado. Não se pode afirmar se estes são de origem sexual ou somática. Como anteriormente citado, existem algumas variedades

de *Citrus*, para as quais ocorre a germinação de um único embrião, sendo este de origem nucelar.

A observação dessas variedades como poliembrionicas, como ocorre para a maioria das variedades de laranja doce, não é de todo negativa, pois como já foi mencionado esta característica permite a germinação de embriões somáticos, vigorosos, com genótipo idêntico ao da planta mãe e livre dos principais patógenos que se acumulam durante os sucessivos ciclos de propagação vegetativa. A principal desvantagem da poliembrionia se refere à dificuldade de obtenção e detecção de híbridos em programas de melhoramento via hibridação sexual, uma vez que os embriões somáticos, geralmente em maior número, competem com o embrião zigótico (Frost & Soost, 1968).

Em citros, os fatores climáticos podem produzir alterações em partes das plantas, como folhas e frutos. Luz, temperatura e vento são importantes nesse sentido. Tanto o ambiente como a “idade clonal” dos indivíduos (maior ou menor juvenilidade) podem modificar características como tamanho, forma, produção e paladar dos frutos. E avaliações adequadas de novas variedades exigem observações em diferentes ambientes, por um longo período (Cameron & Frost, 1968). Desse modo também a embrionia pode ser afetada pelo ambiente e se expressar com maior ou menor intensidade para diferentes condições nutricionais, variedades polinizadoras, anos e locais (Moreira & Gurgel, 1941; Frost & Soost, 1968). O presente trabalho não pretende fixar valores exatos de intensidade de poliembrionia para os genótipos estudados. Mais importante que isto, procurou estimar esta intensidade e constatar a inexistência de monoembriônicos, que caso contrário, seriam de grande auxílio para estudos genéticos básicos e de melhoramento via hibridação sexual envolvendo *Citrus sinensis* e, em especial, a variedade Pêra.

4.4 Estudo da poliembrionia em 44 variedades de laranja doce⁶¹

Domingues et al. (1996d) apresentaram resumidamente alguns dos resultados aqui discutidos em detalhe. A Tabela 17 traz o número médio de sementes, peso de 30 sementes, número médio de embriões observados por semente e percentual de poliembrionia para 44 variedades de laranja doce. Dos genótipos estudados os que produziram frutos com menor número de sementes foram ‘Cametá’, ‘Washington Navel’, ‘Perão’ e ‘Baiana Retiro’, com valores médios inferiores a 0,3 sementes por fruto. A maioria das variedades, no entanto, apresentou de 3 a 7 sementes, sendo que as principais variedades cultivadas, como ‘Pêra’, ‘Natal’, ‘Valência’ e ‘Hamlin’ estão nessa faixa. As que produziram maior número de sementes por fruto foram a ‘Rubi Blood’, ‘Cipó’, ‘Imperial’ e ‘Caipira Comum’, com mais de 15 sementes por fruto, sendo que para esta última foram observadas 24,49 sementes por fruto, em média. Em variedades ‘copa’, busca-se geralmente selecionar aquelas que produzam frutos com menor número de sementes possível (Hodgson, 1967; Figueiredo, 1991). O número de sementes por fruto apresentou correlação significativa com o percentual de poliembrionia observado diretamente nas sementes (+0,32) e com o percentual de germinação *in vitro* (+0,33), número de embriões germinados *in vitro* (+0,38) e taxa de poliembrionia observada *in vitro* (+0,41) (Tabela 18). Pode-se observar ainda, que as variedades apresentaram diferenças nos valores médios para o peso das sementes, enquanto para a ‘Lima Verde’ e ‘Lima Lisa’ este valor esteve em torno de 1,6 g para 30 sementes a variedade Caipira Comum apresentou sementes mais pesadas, atingindo o valor de 5,7 g para 30 sementes. Os demais genótipos estudados apresentaram respostas intermediárias. O peso de semente mostrou correlação significativa com o percentual de sementes germinadas em telado (+0,45) e número de embriões germinados por semente em telado (+0,31).

⁶¹ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; FINA, B.G. Study of polyembryony for sweet orange varieties. *Revista Brasileira de Genética*, 1997. (encaminhado para publicação em Jul. 1997).

Tabela 17. Número médio de sementes, peso de 30 sementes, número médio de embriões observados por semente, percentual de polimerbrionia na semente, percentual de germinação de sementes em telado e *in vitro*, número de embriões germinados por semente em telado e *in vitro* e respectivos percentuais de polimerbrionia para 44 variedades de laranjas doces.

Variedades	Número sementes/ fruto (1)	Peso de 30 sementes g	Embriões / semente	Poliembr. semente %	Germinação em telado %	Embriões/ semente em telado	Germinação <i>in vitro</i> %	Embriões/ semente <i>in vitro</i>	Poliembr. <i>in vitro</i> %
Lima	13,17	cd	3,7	b-e	92,9	a	0,0	-	81,8
Lima Tardia	13,25	cd	2,9	def	66,7	abc	33,3	2,7	76,2
Lima Verde	3,78	g-j	3,6	b-e	100,0	a	0,0	2,5	75,0
Lima Lisa	11,47	c-f	3,8	b-e	100,0	a	4,2	2,1	81,8
Baian, Piracicaba	1,10	k-o	3,2	b-f	68,5	abc	41,7	-	-
Washington Navel	0,12	op	3,0	bfg	33,3	cd	18,8	2,7	-
Baiana Retiro	0,26	nop	3,4	b-e	86,5	a	0,0	-	-
Baianinha 23-4-60	2,52	i-m	4,2	b-e	100,0	a	6,3	-	-
Lanceta Barão	1,91	j-n	3,1	c-f	66,7	abc	31,3	3,0	100,0
Do Céu - 1	14,01	bc	4,6	b-e	93,8	a	41,7	2,6	85,7
Diva	0,97	l-p	3,6	b-e	86,5	ab	0,0	1,3	33,3
Cametá	0,02	p	3,3	b-f	52,8	bc	41,7	2,0	83,3
Seleta Branca	12,68	cd	8,4	a	100,0	a	0,0	1,0	0,0
Seleta Vermelha	11,98	cde	4,5	b-e	92,3	a	8,3	2,1	86,7
Imperial	20,86	ab	4,5	b-e	100,0	a	12,5	2,7	83,3
Hamlin Reserva	3,99	g-j	4,3	b-e	100,0	a	0,0	2,6	95,5
Hamlin	6,43	gh	4,7	bcd	100,0	a	12,5	3,0	100,0
Hamlin Variegada	7,86	d-g	5,0	bc	100,0	a	20,8	1,7	66,7
Rubi Blood	15,57	bc	3,0	c-f	76,5	ab	50,0	2,6	100,0
Blood Oval	3,87	g-j	5,0	bc	100,0	a	54,2	3,0	85,7
Sangüi. Mombuca	14,16	bc	4,1	b-e	92,3	a	29,2	2,8	96,0
Cipó	17,64	abc	4,6	bcd	100,0	a	0,0	2,5	88,5
Sangüi. Piracicaba	12,05	cd	3,4	b-e	100,0	a	37,5	3,0	33,3
Non Pareil	11,19	c-f	3,9	b-e	76,5	ab	45,8	1,3	100,0
Westin	5,24	ghi	4,3	b-e	100,0	a	0,0	3,0	100,0
Caipira DAC	3,08	h-m	3,1	b-f	76,5	ab	12,5	2,5	25,0
Caipira Comum	24,49	a	3,6	b-e	93,8	a	75,0	3,0	93,8
Pele de Moça	3,97	g-j	4,6	b-e	90,9	ab	54,2	2,0	66,7
Lamb's Summer	5,61	ghi	3,1	b-f	75,0	ab	66,7	4,4	100,0
Pêra de Abril	3,35	h-l	1,0	g	0,0	d	58,3	1,0	0,0
Pêra Sem Semente	0,78	m-p	1,5	fg	33,0	cd	0,0	-	-
Perão	0,23	op	3,5	b-e	100,0	a	0,0	-	-
Pêra Coroada	6,50	fgh	3,7	b-e	61,5	abc	8,3	2,8	100,0
Pêra Comprida	3,39	h-l	3,5	b-e	75,0	ab	50,0	2,1	71,4
Pêra Mel	5,96	ghi	3,6	b-e	85,7	ab	79,2	2,0	82,4
Pêra Rio	3,04	h-m	5,1	b	100,0	a	62,5	2,9	100,0
Pêra-CV	3,93	g-j	4,0	b-e	100,0	a	58,3	2,5	75,0
Pêra Ovo	5,92	ghi	5,0	bc	100,0	a	66,7	3,1	91,7
Pêra Caire	4,63	g-j	4,7	bcd	95,8	a	54,2	3,0	80,0
Pêra Ipiçua	6,67	e-h	4,2	b-e	92,3	a	37,5	3,2	100,0
Valência Late	4,30	h-k	4,0	b-e	86,7	ab	45,8	2,0	57,1
Valência Varieg.	3,66	g-j	3,0	def	68,8	abc	37,5	3,0	100,0
Natal	4,36	g-j	3,4	b-e	92,3	a	37,5	3,0	100,0
Natal Bebedouro	5,86	ghi	3,3	b-f	71,4	abc	66,7	2,2	92,9
dms (Tukey, 5%)	0,59		0,51		34,26				
C.V. (%)	22,34		20,40		36,94				

1 Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente entre si (sentido vertical) pelo teste de Tukey - 5% * Valor estimado

- Dados não disponíveis devido a não germinação das sementes (em telado - CCSM/IAC) ou ausência das mesmas (*in vitro* - Radiogenética, CENA/USP).

Tabela 18. Correlação produto-momento de Pearson, para número e peso de semente, número de embriões e percentual de poliembrião na semente, percentual de germinação, número de embriões e percentual de poliembrião em semente germinada, em telado, para 44 variedades de laranja doce.

Caracteres	N.semen. por fruto	Peso de sementes	N.embr./ semente	Poliembr. semente	Perc. germ. telado	N.embr./ semente telado	Poliembr. telado	Perc. germ. <i>in vitro</i>	N.embr./ semente <i>in vitro</i>	Poliembr. <i>in vitro</i>
Num. sem./ fruto	1,00	0,21	0,28	0,32*	0,04	0,07	0,01	0,33*	0,38*	0,41*
Peso de sementes	0,21	1,00	-0,03	-0,12	0,45*	0,31*	0,26	0,03	0,06	0,11
N.embriões/semen	0,28	-0,03	1,00	0,71*	-0,12	-0,06	0,02	0,25	0,30	0,43*
Poliembr. semente	0,32*	-0,12	0,71*	1,00	-0,14	-0,08	0,04	0,29	0,46*	0,52*
Perc. germ. telado	0,04	0,45*	-0,12	-0,14	1,00	0,70*	0,55*	0,16	0,21	0,13
N.embr/ sem.telado	0,07	0,31*	-0,06	-0,08	0,70*	1,00	0,85*	0,35*	0,29	0,21
Poliembr. telado	0,01	0,26	0,02	0,04	0,55*	0,85*	1,00	0,38*	0,29	0,25
Perc. germ. <i>in vitro</i>	0,33*	0,03	0,25	0,29	0,16	0,35*	0,38*	1,00	0,71*	0,67*
N. embr/ sem. <i>in vitro</i>	0,38*	0,06	0,30	0,46*	0,21	0,29	0,29	0,71*	1,00	0,83*
Poliembr. <i>in vitro</i>	0,41*	0,11	0,43*	0,52*	0,13	0,21	0,25	0,67*	0,83*	1,00

* Correlações marcadas foram significativas a 5% de probabilidade.

Quanto ao número de embriões observados diretamente nas sementes, notou-se que a que apresentou valores mais baixos foi a ‘Pêra de Abril’, que mostrou-se monoembriônica, seguida da ‘Pêra sem Sementes’, com 1,5 embriões por semente, a maioria dos genótipos, no entanto, apresentou de 3 a 5 embriões por semente e a variedade Seleta Branca foi a que apresentou o maior valor médio (8,4 embriões observados por semente). Pelo sistema de classificação de Moreira et al. (1947), a poliembrião é considerada baixa, no sistema de contagem direta de embriões nas sementes, quando atinge valores de 0 a 30%. É média quando varia de 30 a 60% e é alta quando superior a 60%. Deste modo, excetuando-se a variedade ‘Pêra de Abril’, que mostrou-se monoembriônica, e as variedades Washington Navel, Pêra sem Sementes e Cametá, que apresentaram média poliembrião, todas as demais apresentaram alta poliembrião.

A Tabela 17, traz também, o percentual de germinação de sementes, número de embriões germinados por semente e percentual de poliembrião, em telado, para 44 variedades de laranja doce. Em telado observou-se que este valor

variou de 0,0 , para as variedades, até 75,0% e 79,2% para as variedades ‘Caipira Comum’ e ‘Pêra Mel’, respectivamente. Os demais genótipos apresentaram valores intermediários. Das variedades que apresentaram taxa de germinação superior a zero, as que apresentaram menor número de embriões germinados por semente em telado, foram a ‘Lima Lisa’, ‘Washington Navel’, ‘Sangüínea de Mombuca’ e ‘Pêra de Abril’, com apenas 1 embrião germinado por semente. A maioria dos genótipos apresentou de 1,2 a 1,8 embriões germinados por semente. Os maiores valores médios, para este caracter, foram observados para as variedades Pêra Rio e Lima Tardia, com 1,9 embriões por semente, e Baianinha-23-4-60, com 2 embriões germinados por semente em telado. Segundo o sistema de classificação desenvolvido por Moreira et al. (1947), a poliembrionia é considerada baixa quando atinge valores de 0 a 15% na germinação das sementes em sementeira. É média quando varia de 15 a 30% e alta quando é superior a 30%. Deste modo, excetuando-se as variedades que se apresentaram monoembriônicas, quando germinadas em telado, as variedades ‘Valência Late’, ‘Hamlin Variegada’, ‘Natal’ e ‘Pêra Caire’ apresentaram percentual médio de poliembrionia, já as demais apresentaram elevada poliembrionia.

A Tabela 17, apresenta ainda, o percentual de germinação de sementes, número de embriões germinados por semente e percentual de poliembrionia, *in vitro*, para 44 variedades de laranja doce. A taxa de germinação *in vitro*, variou de 37,5% para a variedade ‘Do Céu-1’ até 100% para a variedade ‘Cipó’ e a maioria dos genótipos apresentou valores superiores a 60%. De um modo geral esta apresentou-se superior a taxa de germinação em telado, não tendo ocorrido taxa de germinação nula para nenhuma variedade, o que traz maior confiabilidade na estimação da intensidade de poliembrionia. As variedades que apresentaram menor número de embriões germinados por semente *in vitro*, foram a ‘Cametá’ e ‘Pêra de Abril’, com apenas 1 embrião germinado por semente. A maioria dos genótipos apresentou de 1,3 a 3 embriões germinados por semente. O maior valor médio, para este caracter, foi observado para a variedade ‘Lamb’s Summer’, com 4,4 embriões por semente. Ao se aplicar o sistema de classificação desenvolvido por Moreira et al. (1947) para a taxa

de poliembria com base na germinação em sementeira, com exceção das duas variedades citadas, que se mostraram monoembriônicas e da 'Caipira-DAC' que apresentou média poliembria (25%), todas as variedades estudadas podem ser consideradas altamente poliembriônicas.

Confrontando-se os dados de número de embriões observados por semente e os germinados por semente, *in vitro* e em telado, observa-se, de um modo geral, uma diminuição tanto no número de embriões por semente como nas respectivas taxas de poliembria, do primeiro para o último método de avaliação, indicando que a diferença de vigor entre os embriões e a competição entre os mesmos durante a germinação leva a essa diminuição observada. Pode-se constatar ainda que a germinação *in vitro* permitiu uma melhor germinação e portanto diminuiu o efeito da competição entre os embriões, sendo portanto recomendado para a recuperação de um número máximo de embriões, em programas de melhoramento via hibridação sexual.

As variedades de laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, estudadas no presente trabalho, com exceção da 'Pêra de Abril' que se mostrou monoembriônica, apresentaram de média a elevada poliembria, para os diferentes métodos utilizados, o que é concordante com relatos de Moreira & Gurgel (1941), Moreira et al. (1947), Frost & Soost (1968), Chapot (1975) e Prates (1977).

No presente trabalho foi observado que para a maioria dos genótipos estudados, com maior ou menor taxa de poliembria, ocorreram sementes com apenas um embrião assim como sementes em que germinaram apenas um embrião por semente, indicando a elevada influência do ambiente na expressão desse carácter. A variabilidade herdável é a base da genética e do melhoramento, mas esta análise é grandemente complicada, pela dificuldade em distinguir os caracteres herdáveis dos não herdáveis. Em citros, os fatores climáticos são muito efetivos em produzir alterações em partes das plantas, como folhas e frutos. Luz, temperatura, e vento são importantes nesse sentido. Tanto o ambiente como a "idade clonal" dos indivíduos (maior ou menor juvenilidade) podem modificar características como tamanho, forma, produção e paladar dos frutos. E avaliações adequadas de novas variedades exigem

observações em diferentes ambientes, por um longo período (Cameron & Frost, 1968). Desse modo também a embrionia é afetada pelo ambiente podendo se expressar com maior ou menor intensidade para diferentes condições nutricionais, variedades polinizadoras, anos e locais (Moreira & Gurgel, 1941; Frost & Soost, 1968). Não se pretendeu, com o presente trabalho, fixar valores exatos de intensidade de poliembrionia para os genótipos estudados. Mais importante que isto, procurou-se estimar esta intensidade e encontrar possíveis variedades monoembriônicas, apesar das referências em contrário.

Muitos dos programas de melhoramento e estudos genéticos envolvendo citros, têm utilizado variedades monoembriônicas de tangerinas (Clementina e King) e de toranjas como parentais femininos, isto tem permitido que toda a progênie obtida seja de origem sexual, economizando-se tempo área disponível e dinheiro, que seriam necessários para separar embriões nucelares dos zigóticos, por meio de análises moleculares. No entanto, isto tem forçado que os novos híbridos de laranjas sejam em geral interespecíficos (normalmente híbridos de laranjas e tangerinas = tangores) devido a inexistência de variedades monoembriônicas de laranja doce, além da citada auto-incompatibilidade dentro da espécie, (Frost & Soost, 1968).

A variedade Pêra de Abril mostrou-se monoembriônica e poderá ser de grande auxílio para os estudos genéticos e para o melhoramento de *Citrus sinensis*, os quais são complicados pela embrionia nucelar. Esta seria, provavelmente, a primeira variedade de laranja doce monoembriônica relatada, originada espontaneamente.

4.4.1 Pêra de Abril, uma variedade de laranja doce monoembriônica.

Das sementes da variedade Pêra de Abril, germinadas em substrato, no CCSM/IAC e *in vitro* no Laboratório de Radiogenética-CENA/USP, todas originaram apenas uma plântula por semente, confirmando os resultados anteriores. Segundo Chapot (1975), podem ser encontrados os seguintes casos de embrionia nucelar em *Citrus*: 1. Variedades que apresentam sementes com um embrião zigótico e um ou mais embriões nucelares, é um caso comum onde o número de nucelares alcança de 1

a 20 ou mais. Pelo aborto dos embriões zigóticos pode-se encontrar os casos 2 e 3; 2. Que produzem sementes com embriões nucelares somente, é o caso do Tangelo Sampson; 3. Que produzem sementes contendo normalmente um único embrião nucelar e outras sementes poliembriônicas. É o caso normalmente encontrado nas cidras; 4. Variedades que produzem sementes com apenas embriões nucelares, e sementes mostrando ambos, um zigótico e um ou mais nucelares, é o caso mais comum nas variedades de laranja doce e limões; 5. Variedades que produzem sementes monoembriônicas, nunca apresentando embriões nucelares, é o caso das tangerinas Temple e Clementina e da maioria das variedades de toranjas.

No presente trabalho, das progênes obtidas, notou-se grande polimorfismo no desenvolvimento e na morfologia das plântulas, tanto em telado com *in vitro*, o que seria indicativo da origem zigótica destes “seedlings”. Deste modo foi realizada a avaliação da morfologia destes possíveis híbridos originados da ‘Pêra de Abril’, por polinização aberta, em banco de germoplasma.

A Tabela 19, traz os valores de comprimento e largura de folha e de pecíolo, e as relações comprimento de folha/ largura de folha, comprimento do pecíolo/ largura do pecíolo, comprimento de folha/ comprimento do pecíolo, largura de folha/ largura de pecíolo, presença ou ausência de folhas trifoliadas e de espinhos nas plântulas e número de brotos laterais, 5 meses após germinação, em maio de 1997. A altura de planta variou de 30 mm até 300 mm, o comprimento de folha variou de 12 mm a 84 mm, da mesma maneira ocorreu com os outros caracteres avaliados, foram ainda observadas plantas com folhas trifoliadas. Estes resultados confirmam a variabilidade entre os indivíduos da progênie, e a presença de plantas que apresentaram o caráter trifoliado nas folhas já seria confirmação da origem zigótica destas plantas. Optou-se, no entanto, por se avaliar o polimorfismo isoenzimático das plantas morfologicamente semelhantes o que foi realizado no Laboratório de Genética Ecológica da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, usando metodologias desenvolvidas e/ou adaptadas por Veasey (1998).

Tabela 19. Altura da planta, comprimento e largura de folha, relação comprimento de folha/ largura de folha, comprimento e largura de pecíolo, relação comprimento do pecíolo/ largura do pecíolo, comprimento de folha/ comprimento do pecíolo, largura de folha/ largura de pecíolo, presença do caracter trifoliado e de espinhos, e número de brotos, observados para a laranjeira 'Pêra de Abril' e plantas da progênie obtida desta variedade por polinização aberta no banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC^{1,2}.

Pêra de Abril e híbridos	Altura da planta	Comp. de folha	Largura de folha	Comp. folha/ larg. folha	Comp. de pecíolo	Largura de pecíolo	Comp. pec./ larg. pecíolo	Comp. folha/ comp.pec	Larg. folha/ larg.pec.	Caract. trifol.	Pres. de espinho	Núm. de brotos
	mm	mm	mm		mm	mm						
Pêra Abril	36000,	91,67	46,60	1,97	14,13	4,27	3,31	6,49	10,91	N	-	-
1	300,00	80,00	26,00	3,08	20,00	8,00	2,50	4,00	3,25	N	S	1
2	195,00	55,00	25,00	2,20	12,00	3,00	4,00	4,58	8,33	N	S	2
3	175,00	65,00	19,00	3,42	26,00	9,00	2,89	2,50	2,11	S	S	2
4	160,00	64,00	18,00	3,56	26,00	9,00	2,89	2,46	2,00	N	N	1
5	155,00	70,00	22,00	3,18	13,00	3,00	4,33	5,38	7,33	N	N	1
6	145,00	50,00	24,00	2,08	11,00	3,00	3,67	4,55	8,00	N	N	1
7	145,00	41,00	14,00	2,93	12,00	3,00	4,00	3,42	4,67	N	N	1
8	145,00	37,00	14,00	2,64	7,00	2,00	3,50	5,29	7,00	N	S	1
9	135,00	78,00	24,00	3,25	1,40	2,00	0,70	55,71	12,00	S	N	2
10	125,00	74,00	21,00	3,52	18,00	2,00	9,00	4,11	10,50	N	N	1
11	105,00	23,00	6,00	3,83	2,00	1,00	2,00	11,50	6,00	N	N	1
12	100,00	52,00	25,00	2,08	14,00	4,00	3,50	3,71	6,25	N	N	1
13	90,00	57,00	17,00	3,35	13,00	3,00	4,33	4,38	5,67	N	N	3
14	85,00	63,00	19,00	3,32	16,00	4,00	4,00	3,94	4,75	N	N	2
15	85,00	77,00	26,00	2,96	15,00	2,00	7,50	5,13	13,00	N	N	1
16	85,00	55,00	22,00	2,50	10,00	3,00	3,33	5,50	7,33	N	N	2
17	80,00	51,00	17,00	3,00	7,00	2,00	3,50	7,29	8,50	N	S	1
18	70,00	58,00	17,00	3,41	15,00	2,00	7,50	3,87	8,50	N	N	2
19	55,00	55,00	12,00	4,58	1,00	2,00	0,50	55,00	6,00	N	N	1
20	55,00	45,00	15,00	3,00	8,00	2,00	4,00	5,63	7,50	N	N	2
21	55,00	48,00	13,00	3,69	10,00	2,00	5,00	4,80	6,50	N	N	1
22	45,00	53,00	20,00	2,65	14,00	3,00	4,67	3,79	6,67	N	N	1
23	35,00	62,00	20,00	3,10	12,00	2,00	6,00	5,17	10,00	N	N	1
24	35,00	25,00	7,00	3,57	3,00	1,00	3,00	8,33	7,00	N	N	2
25	35,00	55,00	15,00	3,67	12,00	2,00	6,00	4,58	7,50	N	N	2
26	30,00	12,00	5,00	2,40	1,50	2,00	0,75	8,00	2,50	N	N	1
27	30,00	84,00	30,00	2,80	20,00	6,00	3,33	4,20	5,00	N	N	1
Média	102,04	55,15	18,26	3,10	11,85	3,22	3,94	8,77	6,81			1,41
Dpadão	62,87	17,40	6,32	0,58	6,79	2,21	2,00	13,56	2,72			0,57

¹ Semeadura em out. de 1996, avaliação em maio de 1997 ² S indica presença e N ausência.

Os zimogramas obtidos com o extrato das folhas dos "seedlings" apresentaram boa nitidez para a maioria dos sistemas isoenzimáticos testados. Como

exceção o sistema álcool-desidrogenase (ADH) utilizado não apresentou boa resolução de bandas para os genótipos testados e, a esterase (EST) que apresenta 2 locos para citros (Roose, 1988), apresentou muitas bandas de baixa resolução, tendo sido consideradas apenas as bandas nítidas.

A figura 6, traz os zimogramas obtidos pela peroxidase (PRX), fosfatase ácida (ACP), glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT), esterase (EST), e malato desidrogenase (MDH) para a variedade pêra de Abril e indivíduos de sua progênie, obtida sob polinização aberta, no banco de germoplasma do CCSM/IAC. Apesar da análise de isoenzimas em laranja doce normalmente detectar baixo polimorfismo entre variedades (Torres et al. (1982), no presente trabalho foi observado algum polimorfismo entre os “seedlings” testados, para todos os sistemas acima citados, o que confirma a origem zigótica das plântulas que diferiram da planta mãe. Isto é reforçado pelas distâncias observadas no dendrograma obtido pela morfologia de planta pelo método UPGMA (Figura 7), pela matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard pelos sistemas isoenzimáticos (Tabela 20) e pelo dendrograma correspondente (Figura 8). A Figura 9, traz fotos ilustrativas da avaliação da poliembrião, dos híbridos obtidos da variedade Pêra de Abril sob polinização aberta, e do polimorfismo morfológico e isoenzimático entre alguns destes híbridos .

Outra característica importante avaliada foi a presença de “seedlings” com deficiência de clorofila; observou-se que 14,8% das plântulas germinadas apresentaram desenvolvimento mais lento e apresentaram clorose do broto apical induzindo a morte ou o perfilhamento lateral da planta, esta tendência também foi observada *in vitro*, e em ambos os casos a ocorrência da morte da plântula foi mais comum que o perfilhamento. Allard (1971) cita esta característica como indício da ocorrência de depressão por endogamia em laranja doce, com o aparecimento de homozigotos recessivos degenerados com plantas sem clorofila, nanismo e deficiências parciais de clorofila.

Figura 6. Ilustração esquemática dos zimogramas dos sistemas PRX, ACP, GOT, EST (parcial) e MDH para a variedade Pêra de Abril e híbridos da mesma, obtidos por polinização aberta no banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC. Lab. de Genética Ecológica, ESALQ/USP, dez.1996.

Figura 7. Dendrograma obtido para a laranjeira ‘Pêra de Abril’ e 27 “seedlings” de progênie obtida desta variedade por polinização aberta no banco de germoplasma de citros do CCSM/IAC. A análise de agrupamento usou dados padronizados da relação comprimento de folha/ largura de folha, relação comprimento do pecíolo/ largura do pecíolo, comprimento de folha/ comprimento do pecíolo, largura de folha/ largura de pecíolo e presença do caracter trifoliado, pela distância Euclidiana (UPGMA).

Tabela 20. Matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard, para a variedade Pêra de Abril e indivíduos morfologicamente semelhantes de sua progênie (A a F) pela utilização de 5 sistemas isoenzimáticos. Avaliação da terceira folha da base para o ápice dos híbridos.

	Pêra de Abril	A	B	C	D	E	F
Pêra de Abril	1,00						
A	0,58	1,00					
B	1,00	0,58	1,00				
C	0,94	0,55	0,94	1,00			
D	0,76	0,43	0,76	0,72	1,00		
E	0,57	0,50	0,57	0,55	0,43	1,00	
F	0,94	0,55	0,94	1,00	0,72	0,55	1,00

Figura 8. Dendrograma de similaridade entre a variedade Pêra de Abril e híbridos da mesma, obtidos por polinização aberta, avaliados pelo estudo de isoenzimas em folhas de "seedlings". A matriz de similaridade foi realizada pelo coeficiente de Jaccard e método de agrupamento foi o UPGMA.

As variedades monoembriônicas de *Citrus*, como as tangerinas 'Clementina' e a 'King' e principalmente de toranjas, são úteis em programas de melhoramento por facilitarem o reconhecimento dos híbridos (Frost & Soost, 1968). Mesmo atualmente, com o auxílio de marcadores moleculares, a monoembrionia facilitaria o melhoramento de muitas espécies deste gênero, que apesar de heterozigotas, apresentam variedades bastante diversas fenotipicamente mas muito assemelhadas geneticamente, caso de *C. sinensis* (laranja doce) e *C. limon* Burm. f. (limões verdadeiros) (Cameron & Frost, 1968; Soost & Cameron, 1975) e técnicas atuais, envolvendo o estudo de isoenzimas, RFLP ou RAPD, nem sempre são capazes de detectar polimorfismo entre os indivíduos (Luro et al., 1992 e 1995).

Nas citações de Frost & Soost (1968), Chapot (1975) e Prates (1977), não existiam indicações de variedades monoembriônicas de laranja doce. A variedade Pêra de Abril, monoembriônica, poderá adquirir grande importância em programas de estudos genéticos básicos e de melhoramento envolvendo a espécie.

Figura 9. Avaliação da poliembria (1995 e 1996): semente (a), germinação em substrato (CCSM/IAC) (b), em areia (c) e *in vitro* na Radiogenética (CENA/USP) (d). "Seedlings" zigóticos da variedade Pêra de Abril (monoembriônica) germinados em substrato (e), em out. 1996 (CCSM/IAC), e polimorfismo de folhas destes híbridos (f) e pelos sistemas PRX (g) e MDH (h) de isoenzimas (Lab. Gen. Ecol., ESALQ/USP, dez. 1996). Avaliação da viabilidade do pólen na Radiogenética (CENA/USP), abr. 1996, grãos de pólen viáveis da variedade Natal (i) e viáveis e dois inviáveis na variedade Lanceta Barão (j), aumento (40x). Polinização (CCSM/IAC): Tangelo Minneola (k), Citrange Troyer (l), polinização protegida (m), polinização livre (n) (nov.1995), germinação *in vitro* das sementes obtidas (1996 - 1997) Radiogenética (CENA/USP).

4.5 Estudo da viabilidade de pólen em clones de laranja Pêra e outras variedades assemelhadas⁶²

O percentual de pólen funcional ou viável varia grandemente entre espécies e cultivares. Alguns dos cultivares mais amplamente utilizados são deficientes a esse respeito (Soost & Cameron, 1975). No presente trabalho foram observados, para os diferentes genótipos estudados, grãos de pólen: a) parcialmente coloridos e uniformes, considerados viáveis; b) meio coloridos que deixavam dúvida quanto à viabilidade; c) de tamanho normal mas vazios e d) grãos de pólen pequenos, aparentemente inviáveis e degenerados. Moreira & Gurgel (1941) também observaram esses tipos de pólen e após testes de germinação chegaram à conclusão de que apenas os grãos de pólen bem coloridos e circulares apresentavam-se viáveis. Deste modo, foram separados os grãos de pólen avaliados em duas categorias, a dos viáveis (a) e a dos não viáveis (b, c e d). De um modo geral os grãos de pólen viáveis apresentaram-se melhor desenvolvidos, mais circulares e coraram-se melhor na presença do carmim acético, já os inviáveis, apresentaram-se mal formados, normalmente elípticos e pouco corados pelo carmim. Moreira & Gurgel (1941) utilizaram carmim acético a 40% para coloração, no presente trabalho, esta concentração foi de aproximadamente 25%. Foi observado que mesmo concentrações mais baixas permitem boas análises da viabilidade do pólen e que as concentrações maiores do corante permitem a obtenção de fotos mais nítidas.

Observou-se que as variedades Corsa Tardia, Pêra Olímpia e Ovale San Lio apresentaram os maiores percentuais de pólen viável, com 65,5%, 57,3% e 53,6 %, respectivamente, a maioria dos genótipos estudados, apresentaram este valor variando de 30 a 50%, e as que apresentaram menores valores foram a Pêra Bianchi e Pêra Pirangi, com aproximadamente 28% de pólen viável além da variedade Ovale de Siracusa, na qual praticamente não se observou presença de pólen (Tabela 21).

⁶² DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Estudo da viabilidade de pólen em clones de laranja Pêra e outras variedades assemelhadas. *Revista Ciência Rural*. Universidade Federal de Santa Maria. 1997. (encaminhado para publicação em Ago. 1997).

Tabela 21. Número de grãos de pólen viáveis e não viáveis contados e respectivos percentuais, e produção média de 1984 a 1988, para onze clones de laranja 'Pêra' e cinco outras variedades com características morfológicas semelhantes à laranja 'Pêra'.¹

Variedade ou clone	Grãos de pólen viáveis	Percentual de pólen viável		Grãos de pólen não viáveis	Percentual de pólen não viável		Produção média de frutos de 1984-1988 ²
		%			%		kg/planta
Pêra Vimusa	478	43,6	cde	619	56,4	cde	58,4
Pêra EEL	1358	45,6	bcd	1619	54,4	def	64,3
Pêra GS-2000	638	43,7	cde	822	56,3	cde	80,0
Pêra Olímpia	493	57,3	ab	367	42,7	efg	41,4
Pêra Premuniz.-1212	301	43,4	cde	393	56,6	cde	44,3
Pêra Bianchi	283	28,1	fg	726	71,9	a	64,4
Pêra R.Gullo 1569	491	43,7	cde	632	56,3	cde	48,1
Pêra Dibbern	379	31,2	de	835	68,8	abc	53,4
Pêra Pirangi	93	28,4	efg	235	71,6	a	34,0
Pêra R.Gullo 1570	555	41,1	cde	797	58,9	bcd	41,1
Pêra Premuniz.-1743	1059	34,7	de	1997	65,3	bc	70,5
Ovale	260	30,4	def	596	69,6	abc	34,0
Ovale de Siracusa	1	-	h	0	-	h	33,0
Ovale San Lio	1162	53,6	abc	1007	46,4	ef	28,1
Lamb's Summer	124	30,2	def	286	69,8	abc	59,1
Corsa Tardia	437	65,5	a	230	34,5	g	57,7
dms (Tukey, 5%)	-	8,97		-	8,99		-
C.V. (%)	-	22,67		-	17,78		-

¹ Dados obtidos no Laboratório de Radiogenética - CENA/USP.

² Segundo Teófilo Sobrinho et al. (1992) e Domingues et al. (1997b).

Moreira & Gurgel (1941) observaram que embora existam diferenças de viabilidade de pólen para diferentes ramos da mesma planta, diferentes plantas da mesma variedade, plantas de diferentes origens, sobre diferentes porta-enxertos e em diferentes épocas, estas diferenças de um modo geral são pequenas. Estes autores notaram que entre genótipos é que são encontradas as maiores diferenças. Trabalharam com diferentes espécies de citros e encontraram grande variabilidade de resposta entre variedades, observaram por exemplo o nível de 10% de fertilidade para a variedade Perão e 96% para uma variedade de Cidra, encontraram nesse mesmo trabalho grande diferença de resposta entre variedades de laranja doce.

No presente trabalho notou-se que mesmo entre clones selecionados, de uma mesma variedade, mas que apresentam níveis diferenciados de produtividade (Teófilo Sobrinho et al. 1992) existiram diferenças no nível da fertilidade do pólen. Os clones estudados poderiam ser separados aproximadamente em três grupos quanto ao nível de fertilidade: O primeiro composto pela ‘Pêra Bianchi’, ‘Pêra Pirangi’, ‘Pêra Dibbern’ e ‘Pêra Premunizada-1743’, com valores crescentes, de 28,1% a 34,7% de pólen viável. O segundo pela ‘Pêra R.Gullo-1570’, ‘Pêra Premunizada-1212’, ‘Pêra Vimusa’, ‘Pêra R.Gullo-1569’, ‘Pêra GS-2000’ e ‘Pêra EEL’ com valores de 41,1% a 45,6% de pólen viável e o terceiro pela ‘Pêra Olímpia’, com 57% de pólen viável. Moreira & Gurgel (1941) obtiveram, para plantas de laranja Pêra de diferentes origens, níveis de fertilidade do pólen variando de 36 a 49%, sendo portanto concordante com a resposta da maioria dos clones aqui estudados.

Embora a diferença de viabilidade de pólen tenha sido perceptível mesmo entre clones de uma mesma variedade, as maiores amplitudes de variação realmente foram encontradas comparando-se variedades. A variedade Ovale de Siracusa praticamente não apresentou pólen nas anteras, enquanto que a ‘Ovale’ e ‘Lamb’s Summer’ apresentaram em torno de 30% de pólen viável, já a variedade Ovale San Lio apresentou 53,6% e a Corsa Tardia 65,5%.

Moreira & Gurgel (1941) citam que, de um modo geral, variedades com elevado percentual de poliembrião, apresentavam também elevado percentual de pólen viável. Encontraram, ainda, correlação significativa (+0,50) entre o número de sementes e o percentual de pólen viável. No presente trabalho, buscou-se estudar as correlações entre o percentual de pólen viável com a produção média de frutos por planta de 1984 a 1991 (utilizando dados obtidos por Teófilo Sobrinho et al., 1992, e Domingues et al., 1997b) (Tabela 21), com o número médio de sementes por fruto e com o percentual de poliembrião obtido pela contagem dos embriões nas sementes (utilizando dados obtidos por Domingues et al., 1997c) para os mesmos genótipos do mesmo experimento aqui estudado (Tabela 15); no entanto, as correlações encontradas foram pequenas e não significativas (Tabela 22). A ausência de

correlação significativa, entre o percentual de pólen viável com o número de sementes por fruto, seria compreensível, no caso do estímulo à embrionia nucelar e à formação de sementes ocorrerem, independentemente do grau de fertilidade do pólen, em variedades de elevada frequência de pólen inviável, e possivelmente, de elevada esterilidade gamética, como é o caso da 'Pêra'.

Tabela 22. Correlação produto-momento de Pearson, para número de grãos de pólen viáveis e percentual, não viáveis e percentual, produção média de 1984 a 1988, número e peso de sementes, número de embriões e percentual de poliembrionia na semente para onze clones de laranja 'Pêra' e variedades semelhantes à 'Pêra'.

Caracteres	Pólen viável	% Pólen viável	Pólen inviável	% Pólen inviáv.	Produção de frutos	N.sem/ fruto	Peso de sementes	N.embr./ semente	Poliembr. na sem.
Pólen viável	1,00	0,50*	0,85*	0,07	0,29	-0,42	-0,31	-0,44	-0,06
% Pólen viável	0,50*	1,00	0,18	0,13	0,17	-0,46	-0,03	-0,14	-0,16
Pólen inviável	0,85*	0,18	1,00	0,35	0,47	-0,27	-0,18	-0,42	0,02
% Pólen inviáv.	0,07	0,13	0,35	1,00	0,29	-0,04	0,15	-0,01	-0,08
Produção de frutos	0,29	0,17	0,47	0,29	1,00	-0,10	-0,13	-0,45	-0,15
N. sementes/fruto	-0,42	-0,46	-0,27	-0,04	-0,10	1,00	-0,16	0,14	0,22
Peso de sementes	-0,31	-0,03	-0,18	0,15	-0,13	-0,16	1,00	0,14	-0,05
N. embriões/ sem.	-0,44	-0,14	-0,42	-0,01	-0,45	0,14	0,14	1,00	0,73*
Poliembr. na sem.	-0,06	-0,16	0,02	-0,08	-0,15	0,22	-0,05	0,73*	1,00

* Correlações marcadas foram significativas a 5% de probabilidade.

As características morfológicas do pólen são geneticamente estáveis e portanto úteis ao estudo da taxonomia de plantas. Yin-Min et al. (1981) estudaram a taxonomia de 20 diferentes genótipos pertencentes a diferentes gêneros de citros e a diferentes espécies de *Citrus* utilizando o estudo da morfologia do pólen sob microscópio eletrônico. Esta técnica também tem sido utilizada para estudos mais detalhados da biologia floral destas espécies. Crescimmano et al. (1988a e 1988b) estudaram, com este intuito, diferentes genótipos de tangerinas e limões. No presente trabalho foram observadas algumas diferenças de formato para os grãos de pólen viáveis dos diferentes genótipos, no entanto, estas diferenças deverão ser quantificadas em estudos posteriores utilizando microscopia eletrônica. No entanto,

os resultados aqui apresentados contribuem para a caracterização de germoplasma dos citros como enfatizado nos descritores dos citros do IBPGR (1988).

Para utilização como parental masculino em programas de melhoramento a maioria dos genótipos estudados mostrou-se adequada, exceto a variedade Ovale de Siracusa a qual praticamente não produziu pólen. Já os clones Bianchi, Dibbern, Pirangi, Premunizado-1743, Ovale, e a variedade Lamb's Summer apresentaram em torno de 70 % de pólen não viável e obrigariam, portanto, um número de repetições maior, que as variedades com maior fertilidade de pólen, em programas de cruzamentos controlados. No entanto, existem referências indicando que a intensidade de pólen não funcional nos cultivares é em geral proporcional à intensidade de óvulos não funcionais, que abortam, sugerindo que as variedades com baixa fertilidade de pólen podem não ser bons parentais femininos. Algumas exceções ocorrem, como no caso das laranjas Bahia que, embora pólen-estéreis, produzem óvulos funcionais (Soost & Cameron, 1975). Já a comprovação destes dados e a quantificação da fertilidade feminina dos genótipos estudados no presente trabalho fica prejudicada pela elevada poliembrião observada nos mesmos.

4.6 Viabilidade do pólen em variedades de laranja doce⁶³

Alguns dos resultados, aqui discutidos em detalhe, foram apresentados resumidamente por Domingues et al. (1996b). Assim como no experimento anterior, aqui também foram observados, para os diferentes genótipos estudados, grãos de pólen bem coloridos e uniformes, considerados viáveis; parcialmente coloridos que deixavam dúvida quanto à viabilidade; de tamanho normal mas vazios e grãos de pólen pequenos, aparentemente inviáveis e degenerados. Segundo Moreira & Gurgel (1941), apenas os grãos de pólen bem coloridos e circulares apresentavam-se viáveis. Os grãos de pólen foram então classificados como viáveis ou não viáveis.

⁶³ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Estudo da viabilidade de pólen em 44 variedades de laranja doce (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck). *Scientia Agricola*, 1997. /No prelo/.

Foi observado para as variedades de laranja de baixa acidez, um percentual variável de pólen viável, tendo sido encontrado os menores valores para a variedade Lima (21,9%) e Lima Tardia (36,5%) e os maiores valores para a Lima Verde (74,8%) e Lima Lisa (74,1%). Para as variedades de laranjas de “umbigo” (Baianinha Piracicaba, Washington Navel, Baiana Retiro, Baianinha 23-4-60) notou-se a ausência de pólen e as anteras apresentavam a coloração creme clara, enquanto que para as outras variedades essa cor variou do amarelo pálido a amarelo gema devido a presença de pólen. Para a variedade Lanceta Barão a viabilidade foi de 26,9%, para a Cametá foi 50,0%, Do Céu-1 (82,1%), Diva (25,9%) e Imperial (85,7%). Para as Seletas este valor foi de 86,1% para a Branca e 70,1% para a Vermelha. A variedade Hamlin apresentou elevada fertilidade de pólen (78,6%) bem como seus clones Reserva (88,8%) e Variegada (85,3%). As variedades de laranjas sanguíneas, apresentaram um percentual variável de pólen viável, tendo sido encontrado o menor valor para a variedade Blood Oval (16,3%) e os maiores para a Rubi Blood (68,7%), Sanguínea de Mombuca (77,7%) e Sanguínea de Piracicaba (62,4%) (Tabela 23).

A laranjeira Cipó apresentou 67,2% de viabilidade do pólen, enquanto que a Non Pareil apresentou 40,6% e a Westin, 32,8%. As ‘Caipiras’ apresentaram de 23,7% para a DAC a 72,8% para a Comum. A variedade Pele de Moça apresentou 19,8% de pólen viável, enquanto que a Lamb’s Summer 31,0%. Para as laranjeiras Pêra o percentual observado foi de baixo a médio: os menores valores foram para a ‘Sem Semente’, 12,0% e para a ‘Perão’, 13,2%, seguidos pela ‘Pêra Rio’, com 20,5%; as “Pêras” que apresentaram maiores valores foram a ‘Pêra de Abril’, com 49,6%, e a Pêra Mel, com 53,3%, as demais apresentaram valores variando de 34,8 a 42,9%. A variedade Valência apresentou valores baixos, 20,9% para a Valência Late e 28,7% para a Variegada, a mesma tendência foi observada para a variedade Natal que apresentou 21,3% de pólen viável, sendo que este valor foi de 30,5% para o clone Natal Bebedouro (Tabela 23).

Tabela 23. Número de grãos de pólen viáveis e não viáveis contados e respectivos percentuais, avaliados para 44 variedades de laranja doce no Laboratório de Radiogenética, CENA/USP.^{1,2}

Variedades	Grãos de pólen viáveis	Percentual de pólen viável	Grãos de pólen não viáveis	Percentual de pólen não viável
		%		%
Lima	33	21,9 l-p	118	78,1 a-e
Lima Tardia	608	36,5 i-n	1056	63,5 c-h
Lima verde	767	74,8 b-e	258	25,2 m-p
Lima Lisa	430	74,1 b-e	150	25,9 m-p
Baianinha Piracicaba	0	0,0 q	0	0,0 r
Washington Navel	0	0,0 q	0	0,0 r
Baiana Retiro	0	0,0 q	0	0,0 r
Baianinha 23-4-60	0	0,0 q	0	0,0 r
Lanceta Barão	255	26,9 k-p	694	73,1 a-f
Do Céu-1	689	82,1 abc	150	17,9 n-q
Diva	199	25,9 k-p	569	74,1 a-f
Cametá	50	50,0 g-i	50	50,0 g-k
Seleta Branca	323	86,1 ab	52	13,9 opq
Seleta Vermelha	415	70,1 b-f	177	29,9 k-o
Imperial	954	85,7 ab	159	14,3 opq
Hamlin Reserva	758	88,8 a	96	11,2 pq
Hamlin	879	78,6 a-d	240	21,4 m-q
Hamlin Variegada	1018	85,3 ab	176	14,7 opq
Rubi Blood	974	68,7 c-f	444	31,3 i-n
Blood Oval	190	16,3 op	979	83,7 ab
Sanguínea de Mombuca	1648	77,7 a-d	474	22,3 n-q
Cipó	657	67,2 d-g	320	32,8 i-m
Sanguin. de Piracicaba	503	62,4 e-h	303	37,6 i-m
Non Pareil	1165	40,6 ijk	1703	59,4 fgh
Westin	501	32,8 i-o	1027	67,2 b-g
Caipira DAC	687	23,7 l-p	2217	76,3 a-e
Caipira Comum	816	72,8 b-e	305	27,2 m-p
Pele de Moça	143	19,8 nop	581	80,2 abc
Lamb's Summer	121	31,0 i-o	269	69,0 b-f
Pêra de Abril	566	49,6 g-i	574	50,4 g-i
Pêra Sem Semente	159	12,0 p	1161	88,0 a
Perão	65	13,2 p	428	86,8 a
Pêra Coroada	622	42,7 h-k	833	57,3 f-i
Pêra Comprida	402	42,9 h-k	535	57,1 f-i
Pêra Mel	622	53,3 f-i	545	46,7 h-l
Pêra Rio	46	20,5 nop	178	79,5 abc
Pêra-CV	120	38,8 i-l	189	61,2 e-h
Pêra Ovo	342	35,9 i-n	610	64,1 c-h
Pêra Caire	227	34,8 i-n	425	65,2 c-h
Pêra Ipiçã	467	36,9 i-m	797	63,1 d-h
Valência Late	249	20,9 m-p	944	79,1 a-d
Valência Variegada	398	28,7 k-p	988	71,3 b-f
Natal	258	21,3 m-p	954	78,7 a-d
Natal Bebedouro	430	30,5 k-o	979	69,5 b-f
dms (Tukey, 5%)	-	11,36	-	11,36
C.V. (%)	-	25,18	-	23,37

¹ Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente entre si, no sentido vertical (Tukey a 5%).

² Apresentado resumidamente no 13º Encontro de Genética e Melhor. na ESALQ/USP (Domingues et al., 1996a).

Moreira & Gurgel (1941) trabalharam com algumas das variedades aqui estudadas e, para a maioria delas, os resultados foram próximos. No presente trabalho a variedade Caipira Comum apresentou 72,8% de pólen viável, enquanto que Moreira & Gurgel (1941) encontraram o valor de 79%, a laranja Cipó apresentou 67,2% de pólen viável nesse e 64% naquele, a Hamlin apresentou 78,6% neste e 71% naquele, a Pêra sem Sementes 12,0% e 9,3% e a variedade Perão 13,2% e 10%, respectivamente. De uma maneira geral observa-se que, apesar de não exatamente iguais, os valores observados em muitas dessas variedades em 1940 e no ano de 1995 são bastante próximos, o que indica uma relativa estabilidade na expressão desse caracter nessas variedades. Não pode deixar de ser enfatizada a grande amplitude de variação dentro da espécie de laranja doce, a qual variou desde a ausência total de pólen nas variedades de laranjas de “umbigo”, a valores variando de 12,0% para a Pêra sem Sementes a 88,8% para a Hamlin Reserva.

Soost & Cameron (1975) relataram que o percentual de pólen funcional ou viável varia grandemente entre espécies e que alguns dos cultivares mais amplamente utilizados apresentam pouco pólen viável. Deste modo, das variedades aqui estudadas, a ‘Pêra Rio’, a ‘Valência’ e a ‘Natal’ são as mais cultivadas comercialmente na citricultura paulista e nacional e as três apresentaram baixo percentual de pólen viável.

A reprodução pela embrionia nucelar, condicionada pela presença de um gene dominante preserva qualquer heterozigosidade originada por hibridação ou mutação, o que é, portanto de interesse para o melhoramento de *Citrus*, por outro lado a poliembrionia dificulta o reconhecimento dos híbridos obtidos de cruzamentos. Moreira & Gurgel (1941) citam que, de um modo geral, variedades com elevado percentual de poliembrionia, apresentavam também elevado percentual de pólen viável. Encontraram, ainda, correlação significativa (+0,50) entre o número de sementes e o percentual de pólen viável. No presente trabalho, buscou-se estudar as correlações entre o percentual de pólen viável com o número médio de sementes por

fruto, peso de sementes, número de embriões por semente e percentual de poliembria, obtido pela contagem dos embriões nas sementes (utilizando dados obtidos e já discutidos por Domingues⁶⁴ et al., 1996b) para os mesmos genótipos aqui estudados (Tabela 17). As correlações encontradas entre o percentual de pólen viável e o número de embriões por semente e percentual de poliembria foram pequenas, mas significativas (+0,37 e +0,30, respectivamente) (Tabela 24).

Tabela 24. Correlação produto-momento de Pearson, para número de grãos de pólen viáveis e percentual, não viáveis e percentual, número de frutos estimados/ m², número e peso de sementes, número de embriões e percentual de poliembria na semente para 44 variedades de laranja doce.

Caracteres	Pólen viável	% Pólen viável	Pólen inviável	% Pólen inviável	Frutos est./m ²	N.sem./ fruto	Peso de sementes	N.embr./ semente	Poliembr. na sem.
Pólen viável	1,00	0,72*	0,21	-0,29	0,41*	0,60*	0,09	0,07	0,14
% Pólen viável	0,72*	1,00	-0,27	-0,44*	0,24	0,65*	-0,03	0,37*	0,30*
Pólen inviável	0,21	-0,27	1,00	0,62*	0,15	-0,12	0,14	-0,29	-0,22
% Pólen inviável	-0,29	-0,44*	0,62*	1,00	0,01	-0,29	0,20	-0,22	-0,11
Frutos estimados/m ²	0,41*	0,24	0,15	0,01	1,00	0,36*	0,22	0,28	0,38*
N. sementes/fruto	0,60*	0,65*	-0,12	-0,29	0,36*	1,00	0,21	0,28	0,32*
Peso de sementes	0,09	-0,03	0,14	0,20	0,22	0,21	1,00	-0,03	-0,12
N. embriões/ sem.	0,07	0,37*	-0,29	-0,22	0,28	0,28	-0,03	1,00	0,71*
Poliembr. na sem.	0,14	0,30*	-0,22	-0,11	0,38*	0,32*	-0,12	0,71*	1,00

* Correlações marcadas foram significativas a 5% de probabilidade.

O peso de sementes não apresentou correlação significativa com os outros caracteres estudados. Já a correlação encontrada entre o percentual de pólen viável e o número de sementes por fruto foi significativa e maior (+0,65). Desta forma estes dados confirmam as tendências observadas por aqueles autores, na década de 40. E, uma vez que estas variedades encontram-se em uma coleção de germoplasma onde existem muitos parentais polinizadores, este resultado é um importante indicativo da existência de correlação positiva entre o nível de fertilidade masculina com a fertilidade feminina.

⁶⁴ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; FINA, B.G. Study of polyembryony for sweet orange varieties. *Revista Brasileira de Genética*, 1997. (encaminhado para publicação em Jul. 1997).

Moreira & Gurgel (1941) definiram como baixa, uma viabilidade de pólen até 30%, média em torno de 31 a 69% e alta acima de 70%. Seguindo esta definição foi possível classificar as 44 variedades da seguinte maneira: 4 variedades sem pólen, todas produtoras de laranjas com “umbigo” (Baianinha Piracicaba, Washington Navel, Baiana Retiro, Baianinha 23-4-60); 13 variedades com baixa viabilidade de pólen, ou seja, menos de 31% de pólen viável (Lima, Lanceta Barão, Diva, Blood Oval, Caipira-DAC, Pele de Moça, Perão, Pêra sem Sementes, Pêra Rio, Valência Late, Valência Variegada, Natal e Natal Bebedouro); 16 variedades com média viabilidade de pólen (Lima Tardia, Cametá, Rubi Blood, Sangüínea de Piracicaba, Cipó, Non Pareil, Westin, Lamb's Summer, Pêra de Abril, Pêra Coroada, Pêra Comprida, Pêra Mel, Pêra C.V., Pêra Ovo, Pêra Caire e Pêra Ipigüá) e 11 variedades com elevado percentual de pólen viável (Lima Verde, Lima Lisa, Do Céu-1, Imperial, Seletas Branca e Vermelha, Hamlin, Hamlin Reserva e Variegada, Sangüínea de Mombuca e Caipira Comum). As diferenças de intensidade de fertilidade de pólen das 44 variedades foram avaliadas também estatisticamente (Tabela 10), porém para a discussão dos resultados preferiu-se adotar a metodologia usada por Moreira & Gurgel (1941)

Para utilização como parental masculino em programas de melhoramento a maioria dos genótipos estudados mostrou-se adequada, exceto as variedades que não produziram pólen e as que produziram baixa quantidade de pólen viável (70% de pólen não viável, ou mais). Estas últimas obrigariam, portanto, um número de repetições maior, que as variedades com maior fertilidade de pólen, em programas de cruzamentos controlados. No entanto, existem referências indicando que a intensidade de pólen não funcional nos cultivares é em geral proporcional à intensidade de óvulos não funcionais, que abortam, sugerindo que as variedades com baixa fertilidade de pólen podem não ser bons parentais femininos. Algumas exceções ocorrem, como no caso das laranjas Bahia que, embora pólen-estéreis, produzem óvulos funcionais (Soost & Cameron, 1975). Já a comprovação destes dados e a quantificação da fertilidade feminina dos genótipos estudados no presente trabalho

fica prejudicada pela elevada poliembriõnia observada nos mesmos, exceto para a Pêra de Abril, avaliada como monoembriônica e com boa fertilidade feminina (Tabelas 17 e 19).

4.7 Influência da polinização e da morfologia floral na frutificação de variedades de laranja doce⁶⁵

Alguns dos resultados, aqui discutidos em detalhe, foram apresentados resumidamente em Domingues et al. (1996a). Foi observado que as variedades Washington Navel, Lanceta Barão, Diva, Pele de Moça, Pêra sem Semente, Perão, Pêra Comprida e Pêra Mel não apresentaram “pegamento” de frutos para nenhum dos tratamentos utilizados. Já as variedades Cametá, Sangüínea de Mombuca, Valência Variegada, Natal Bebedouro, Cipó, Non Pareil e Blood Oval apresentaram “pegamento” de frutos somente sob polinização aberta, sendo as três últimas as que o fizeram em maior proporção (Tabela 25).

Para as variedades de laranjeira Lima somente se conseguiu a fixação de frutos por meio da polinização aberta e de cruzamento com o tangelo Minneola. Sendo que as que fixaram mais frutos, de um modo geral, foram as variedades Lima e Lima Lisa e a que fixou menos frutos foi a Lima Tardia. As variedades de laranjeira Bahia (Washington Navel) são citadas como pólen-estéreis mas que produzem óvulos funcionais (Soost & Cameron, 1975) e com habilidade para produzir frutos partenocárpicos, sem sementes, com ou sem polinização (Frost & Soost, 1968). No presente trabalho praticamente se conseguiu a fixação de frutos apenas por meio da polinização aberta, exceção feita à Baianinha de Piracicaba, a qual também permitiu a fixação de frutos por meio da auto-polinização e do cruzamento com o citrange Troyer.

Para os clones de laranjeira Hamlin se conseguiu a fixação de frutos por meio da polinização aberta, da auto-polinização e do cruzamento com o tangelo

⁶⁵ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A. Influência da polinização e da morfologia floral na frutificação de variedades de laranja doce.). *Scientia Agricola*, 1997. /No prelo/.

Tabela 25. Percentual de predimento de frutos em 34 variedades de laranja-doce¹. Os números 1 a 5 representam os tratamentos utilizados, sendo: 1- polinização aberta, 2- flores emasculadas e protegidas, 3- auto-polinizadas e protegidas, 4- cruzamento com o tangelo Mineola e 5- cruzamento com o citrange Troyer. E número de sementes/ plântulas germinadas *in vitro*, originados dos tratamentos 4 e 5. Posição relativa das anteras em relação ao estigma², distância das anteras ao estigma, comprimento do pistilo e percentual de pólen viável (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP).³

Variedades	1	2	3	4	5	Sem./ plântula (4)	Sem./ plântula (5)	Posição anteras/ estigma	Distância anteras - estigma mm	Compr. do pistilo mm	Perc. de pólen viável %	Núm. sem./ fruto	Perc. polemb rionia %
Lima	67	0	0	33	0	5/12	0	1,73	0,15	11,13	21,9	13,17	92,9
Lima Tardia	33	0	0	0	0	0	0	1,80	0,27	10,00	36,5	13,25	66,7
Lima Verde	33	0	0	33	0	0	0	1,80	0,48	10,60	74,8	3,78	100,0
Lima Lisa	67	0	0	67	0	0	0	2,46	0,27	11,00	74,1	11,47	100,0
Bainha Piracicaba	33	0	33	0	33	0	2/5	2,87	1,37	11,40	0,0	1,10	68,5
Washington Navel	0	0	0	0	0	0	0	1,93	0,67	10,87	0,0	0,12	33,3
Baiana Retiro	33	0	0	0	0	0	0	2,33	0,62	6,53	0,0	0,26	86,5
Baianinha 23-4-60	33	0	0	0	0	0	0	1,27	0,70	9,87	0,0	2,52	100,0
Lanceta Barão	0	0	0	0	0	0	0	2,27	0,18	10,80	26,9	1,91	66,7
Do Céu-1	100	0	0	33	0	10/26	0	2,60	0,43	10,33	82,1	14,01	93,8
Diva	0	0	0	0	0	0	0	1,13	0,99	10,00	25,9	0,97	86,5
Cametá	33	0	0	0	0	0	0	2,00	0,24	6,73	50,0	0,02	52,8
Seleta Branca	33	0	0	0	0	0	0	1,13	0,95	10,60	86,1	12,68	100,0
Seleta Vermelha	0	0	0	33	0	14/35	0	1,60	0,60	12,07	70,1	11,98	92,3
Imperial	33	0	0	33	0	0	0	2,00	0,07	9,60	85,7	20,86	100,0
Hamlin Reserva	33	0	33	33	33	6/11	0	2,40	0,34	9,93	88,8	3,99	100,0
Hamlin	67	0	33	33	33	2/3	2/5	...	...	...	78,6	6,43	100,0
Hamlin Variegada	0	0	33	0	0	0	0	1,53	0,54	10,40	85,3	7,86	100,0
Blood Oval	67	0	0	0	0	0	0	1,80	0,73	9,33	16,3	3,87	100,0
Sangüin. Mombuca	33	0	0	0	0	0	0	2,60	0,43	10,07	77,7	14,16	92,3
Cipo	100	0	0	0	0	0	0	2,73	0,62	10,87	67,2	17,64	100,0
Non Pareil	67	0	0	0	0	0	0	2,67	0,77	10,67	40,6	11,19	76,5
Pele de Moça	0	0	0	0	0	0	0	1,20	1,30	10,40	19,8	3,97	90,9
Pêra Sem Semente	0	0	0	0	0	0	0	1,80	0,04	9,07	12,0	0,78	33,0
Perão	0	0	0	0	0	0	0	1,73	0,07	9,47	13,2	0,23	100,0
Pêra Coroadá	33	0	0	33	0	8/27	0	1,00	1,48	7,87	42,7	6,50	61,5
Pêra Comprida	0	0	0	0	0	0	0	1,87	0,02	9,00	42,9	3,39	75,0
Pêra Mel	0	0	0	0	0	0	0	1,60	0,86	7,73	53,3	5,96	85,7
Pêra Rio	33	0	0	33	0	5/13	0	2,07	0,38	8,80	20,5	3,04	100,0
Pêra-CV	0	0	0	33	0	3/7	0	1,67	0,67	7,67	38,8	3,93	100,0
Pêra Ovo	67	33	0	33	0	6/9	0	1,60	0,39	8,73	35,9	5,92	100,0
Pêra Caire	67	0	0	33	0	9/21	0	1,47	1,18	5,60	34,8	4,63	95,8
Valência Variegada	33	0	0	0	0	0	0	2,07	0,08	9,47	28,7	3,66	68,8
Natal Bebedouro	33	0	0	0	0	0	0	1,87	0,02	8,87	30,5	5,86	71,4
dms (Tukey, 5%)								0,74	0,75	1,69	11,36	0,59	34,26
C.V. (%)								29,81	86,69	13,51	25,17	22,34	36,94

¹ Dados apresentados resumidamente (Domingues et al., 1996c). ² Anteras acima dos estigmas (1), na mesma altura (2), abaixo (3).

³ Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente entre si, no sentido vertical, pelo teste de Tukey a 5%. ... Dados não disponíveis.

Minneola. Sendo a Hamlin e a Hamlin Reserva as que apresentaram melhores respostas. As variedades Do Céu-1, Pêra Coroada, Pêra Rio e Pêra Caire fixaram frutos sob polinização aberta e cruzada com tangelo Minneola. Este polinizador também permitiu a fixação de frutos nas variedades Seleta Vermelha e Pêra C.V., as quais não fixaram frutos sob outro tipo de tratamento. A variedade Seleta Branca apresentou a fixação de frutos sob polinização aberta, quando auto-polinizada e sob polinização cruzada com os dois parentais. A variedade Imperial apresentou fixação de frutos sob polinização aberta e quando cruzada com o citrange Troyer. A Pêra Ovo fixou frutos sob polinização aberta, quando cruzada com citrange Troyer e foi a única variedade a apresentar fixação de fruto em flores emasculadas e protegidas; o que seria então explicado por possível contaminação com pólen desconhecido ou pela citada partenocarpia, a qual independe da polinização para a fixação de frutos (Frost & Soost, 1968). No entanto, levando em consideração o número médio de sementes apresentado pela variedade (Tabela 25), a primeira hipótese é mais provável.

Obteve-se maior “pegamento” ou fixação de frutos nas variedades de laranja doce estudadas quando as flores permaneceram sob polinização aberta (tratamento 1), para aproximadamente 68% das variedades. Apenas uma variedade apresentou “pegamento” de frutos quando as flores foram emasculadas e protegidas (tratamento 2). Cerca de 15% das variedades estudadas fixaram fruto após auto-polinização (tratamento 3). Já 35% das variedades fixaram frutos após cruzamento com o tangelo Minneola (tratamento 4) e 15% após o cruzamento com o citrange Troyer (tratamento 5). Deste modo pode-se concluir que as variedades se mostraram dependentes de polinização para “pegamento” de frutos e que isto ocorreu predominantemente quando a polinização foi aberta, ou cruzada, com o tangelo Minneola. Já a fixação de fruto sob auto-polinização foi semelhante ao obtido quando realizou-se cruzamento com o citrange Troyer. Foi encontrada, ainda, correlação significativa dos percentuais de polinização aberta observados com o número médio de sementes por fruto (+0,50) (Tabela 26).

Após 10 meses da realização dos cruzamentos (setembro de 1996) foi realizada a germinação *in vitro*, na Radiogenética do CENA/USP, de 86 sementes obtidas nos frutos polinizados com o tangelo Minneola e com o citrange Troyer. Destas sementes foram obtidas 206 plântulas, 155 do primeiro polinizador e 51 do segundo, as quais foram mantidas em trocas de meio até maio de 1997. Foram observados, já *in vitro*, possíveis híbridos de ambos polinizadores, devido ao maior vigor e desenvolvimento e semelhanças com as folhas do parental masculino. Um dos possíveis híbridos do citrange Troyer mostrou uma das folhas trifoliadas. Antes de se confirmar a origem híbrida dessas plântulas, todas deverão ser aclimatadas em solo para separação das plântulas nucelares das zigóticas, pelo polimorfismo isoenzimático.

O pouco conhecimento da base genética dos *Citrus* é citado frequentemente e se deve a diferentes fatores. Vardi & Spiegel-Roy (1978) citam que os estudos genéticos em *Citrus* são complicados devido à embrionia nucelar, longo período juvenil, heterozigosidade elevada, auto-incompatibilidade, esterilidade e longo ciclo da cultura, além da falta de conhecimento do modo de herança dos caracteres desejáveis. Poliembrionia elevada e fertilidade de pólen variável foram verificadas nas variedades estudadas no presente trabalho (Domingues et al., 1996b e 1996d); já aspectos do sistema de polinização e fecundação são ainda pouco claros, principalmente no que se refere à existência e quantificação da citada auto-incompatibilidade.

A alogamia tem sido demonstrada em laranja doce pelo aumento de produção de frutos com o uso de polinizadores eficientes, assim como pela existência de bons híbridos inter-específicos, principalmente com tangerinas, e praticamente pela inexistência de bons híbridos inter-varietais, dentro da espécie. Embora Allard (1971) tenha citado a espécie como autógama, este mesmo autor reconheceu indícios da ocorrência de depressão por endogamia, com o aparecimento de homozigotos recessivos degenerados com plantas sem clorofila, com flores anormais, sementes defeituosas, deficiências no sistema radicular, nanismo e deficiências parciais de

clorofila. Estes indícios foram observados também por Domingues et al. ao avaliar progênes da variedade de laranja doce ‘Pêra de Abril’, monoembriônica, sob polinização aberta. Os híbridos de maior desenvolvimento apresentaram maior polimorfismo morfológico, inclusive as plantas que portavam folhas trifoliadas, já os “seedlings” de menor desenvolvimento apresentaram em grande frequência clorose foliar e morte dos meristemas apicais, forçando o perfilhamento lateral nas sobreviventes.

As flores em *Citrus* possuem corola conspícua, forte perfume, néctar e pólen abundante e aderente, próprio para a polinização por meio de insetos; o vento é portanto, de menor importância, e a natural polinização cruzada é indubitavelmente acompanhada principalmente por abelhas (Frost & Soost, 1968). Estes autores citam que Toxopeus⁶⁶ encontrou certas espécies e variedades com protandria (onde os estames maturam antes do estigma) mas que para a maioria, esta maturação ocorreria simultaneamente. Durante a realização do presente trabalho foi notado que para as variedades estudadas a maturação do estigma e das anteras ocorreu praticamente ao mesmo tempo e, desta forma, as emasculações e polinizações das flores foram feitas nos botões em máximo desenvolvimento, antes da antese. Em nenhum caso foi observado a deiscência do pólen antes da abertura natural das flores. Outro aspecto importante observado em campo foi que o florescimento ocorreu na mesma época para todas as variedades estudadas permitindo a troca de genes entre as mesmas e não havendo, portanto, isolamento reprodutivo determinado pela época de florescimento. Frost & Soost (1968) citam ainda que existem outros fatores que podem prevenir a auto-fecundação, como a posição e distância das anteras em relação ao estigma.

No presente trabalho estes aspectos foram avaliados para as variedades de laranja doce estudadas. Quanto à posição relativa das anteras em relação ao estigma, pode-se concluir que estas podem ocupar tanto posição abaixo, igual ou acima à posição do estigma, dependendo da variedade de laranja doce estudada

⁶⁶ TOXOPEUS, H. J. Ervaring en resultaten van het in 1928, 1929 en 1930 uitgevoerde kruisingswerk in citrus. Vereen. Landbouw Nederl. *Indië Landbouw Tijdschr.* v.6, p.807-819. 1930.

(Tabela 25). As variedades Baianinha Piracicaba, Cipó, Non Pareil, Sangüínea de Mombuca, Do Céu-1, Lima Lisa e Hamlin Reserva apresentaram flores cujas anteras se encontram, em sua maioria, abaixo do estigma. Estas por sua vez diferiram, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, das variedades Pêra Mel, Pêra Ovo, Seleta Vermelha, Hamlin Variegada, Pêra Caire, Baianinha 23-4-60, Pele de Moça, Seleta Branca, Diva e Pêra Coroada, as quais apresentaram as anteras acima do estigma. As demais variedades ocuparam posições intermediárias com as anteras e os estigmas aproximadamente na mesma posição relativa. As anteras estiveram, em média, 1,37 mm abaixo do estigma para a ‘Baianinha Piracicaba’ e, em média, 1,48 mm acima para a Pêra Coroada, para os botões avaliados antes da antese. Os resultados obtidos quanto as posições das anteras em relação aos estames variaram para as variedades estudadas e as distâncias máximas entre ambos também pareceram ser bastante pequenas para serem indicativas da predominância de auto-polinização ou de polinização cruzada; no entanto, foi encontrada correlação significativa (+0,43) entre os percentuais de polinização aberta com a posição das anteras em relação ao estigma, isto é, quanto mais os estigmas estiveram expostos, acima das anteras, maior foi a fixação de frutos sob polinização aberta (Tabela 26).

Frost & Soost (1968) citaram trabalhos onde observou-se que o comprimento diferenciado do pistilo em algumas variedades pode dificultar o desenvolvimento do tubo polínico até o óvulo. No presente trabalho, o comprimento do pistilo variou, em média, de 5,6 mm na ‘Pêra Caire’ até 12,06 mm na ‘Seleta Branca’. As variedades que apresentaram menores comprimentos médios foram, em ordem crescente: Pêra Caire, Baiana Retiro, Cametá, Pêra C.V., Pêra Mel, Pêra Coroada, Natal Bebedouro, e as Pêras Ovo, Rio, Comprida e sem Sementes; as quais diferiram, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, das variedades Lanceta Barão, Cipó, Washington Navel, Lima Lisa, Lima, Baianinha Piracicaba e Seleta Vermelha. As demais variedades ocuparam posições intermediárias. Foi encontrada correlação pequena, mas significativa, do número de sementes/fruto com o comprimento do pistilo, o que indica uma tendência de maior fertilidade e/ou

compatibilidade quando ocorre um favorecimento da polinização cruzada (+0,37) (Tabela 26).

Os resultados obtidos no presente trabalho, onde a polinização aberta e cruzada e os estigmas mais expostos e acima das anteras determinaram maior “pegamento” de frutos; aliados à constante indicação na literatura de híbridos viáveis inter-específicos (tangores) e inter-genéricos (diversos citranges) e à restrita ou ausente indicação de boas variedades de híbridos inter-varietais de laranja doce, indicam que a auto-esterilidade seja mais comum em *Citrus sinensis*, que a esterilidade cruzada. Também, que a alogamia seja predominante em relação à autogamia.

Estes resultados, somados ao elevado polimorfismo morfológico e ao baixo polimorfismo de RAPD entre as variedades de laranja doce estudadas (Domingues et al., 1998c e 1998d) reforçam também a tese das mutações somáticas como principal fonte de variabilidade intra-específica; e concordam com Cameron & Frost (1968), os quais relataram que a reprodução por embriônia nucelar, em grupos homogêneos e poliembriônicos, como é o caso de laranja doce, preservou durante o processo evolutivo qualquer heterozigosidade originada por hibridação ou mutação. Isto deve ter favorecido o acúmulo de genes recessivos por mutação, incluindo aqueles prejudiciais ao vigor e à fertilidade; e esses genes, quando numerosos, tendem a eliminar o sucesso da reprodução sexuada, especialmente por auto-fecundação.

Tabela 26. Correlação produto-momento de Pearson, para percentual de prendimento de frutos em 34 variedades de laranja doce sob polinização aberta, flores emasculadas e protegidas, auto-polinizadas e protegidas, cruzamento com o tangelo Minneola, cruzamento com o citrange Troyer, com número de sementes originadas do cruzamento com o tangelo Minneola, número de sementes originadas do cruzamento com o citrange Troyer, posição relativa das anteras em relação ao estigma, distância das anteras ao estigma, percentual de pólen viável, número de sementes por fruto, número de embriões/ semente, percentual de polimbrionia na semente e comprimento do pistilo.

Caracteres	Poliniz aberta	Flor emasc.	Flor autopol.	Cruzam. Minneola	Cruzam. Troyer	S.cruz Minneo.	S.cruz Troyer	Pos. antera /estigma	Dist. antera estigma	% Pólen viável	Número sem/fruto	N.embriões semente	% Poli- embr.	Compr. pistilo
Polinização aberta	1,00	0,21	-0,10	0,25	0,09	0,18	0,09	0,43*	0,02	0,22	0,50*	0,27	0,32	0,02
Flor emasculada	0,21	1,00	-0,07	-0,12	0,34	-0,09	0,36*	-0,11	-0,07	-0,04	-0,02	0,16	0,14	-0,10
Flor autopolinizada	-0,10	-0,07	1,00	0,22	0,51*	-0,03	-0,02	0,07	0,24	0,30	-0,01	0,42*	0,15	0,26
Cruzam. c/Minneola	0,25	-0,12	0,22	1,00	0,24	0,50*	-0,17	-0,12	0,14	0,45*	0,26	0,49*	0,36*	0,10
Cruzam. c/Troyer	0,09	0,34	0,51*	0,24	1,00	-0,18	0,50*	-0,11	0,18	0,21	0,26	0,61*	0,17	0,15
Sem. cruz. c/Minneola	0,18	-0,09	-0,03	0,50*	-0,18	1,00	-0,13	-0,10	0,20	0,24	0,19	0,17	0,17	-0,03
Sem. cruz. c/Troyer	0,09	0,36*	-0,02	-0,17	0,50*	-0,13	1,00	0,04	-0,17	0,20	0,39*	0,12	0,17	-0,01
Pos. antera / estigma	0,43*	-0,11	0,07	-0,12	-0,11	-0,10	0,04	1,00	-0,30	0,13	0,21	-0,25	-0,06	0,24
Distân. antera-estigma	0,02	-0,07	0,24	0,14	0,18	0,20	-0,17	-0,30	1,00	-0,14	-0,12	0,31	0,07	-0,08
% Pólen viável	0,22	-0,04	0,30	0,45	0,21	0,24	0,20	0,13	-0,14	1,00	0,66*	0,45*	0,42*	0,21
Num. sementes/ fruto	0,50*	-0,02	-0,01	0,26	0,26	0,19	0,39*	0,21	-0,12	0,66*	1,00	0,38*	0,37*	0,37*
Num. embriões/sem.	0,27	0,16	0,42*	0,49*	0,61*	0,17	0,12	-0,25	0,31	0,45*	0,38*	1,00	0,65*	0,10
% Polimbrionia	0,32	0,14	0,15	0,36*	0,17	0,17	0,17	-0,06	0,07	0,42*	0,37*	0,65*	1,00	0,08
Comprimento pistilo	0,02	-0,10	0,26	0,10	0,15	-0,03	-0,01	0,24	-0,08	0,21	0,37*	0,10	0,08	1,00

* Correlações marcadas foram significativas a 5% de probabilidade.

4.8 Caracterização morfológica de 11 clones de laranja Pêra e 6 variedades assemelhadas⁶⁷

4.8.1 Caracterização morfológica das árvores

As copas dos genótipos estudados possuem formato arredondado ou esferóide. A ‘Pêra GS-2000’ foi a que apresentou maior altura de planta (3,73 m), seguido das variedades Ovale San Lio, Corsa Tardia, Redonda e Pêra Vimusa, os quais diferiram pelo teste de Tukey a 5%, da variedade Ovale de Siracusa, ‘Pêra R.Gullo-1569’, ‘Pêra R.Gullo-1570’, ‘Pêra Olímpia’, ‘Pêra Pirangi’, e ‘Pêra Premunizada-1212’, sendo esta última a que apresentou menor altura (2,67 m). Os demais genótipos apresentaram dimensões intermediárias (Tabela 27).

A variedade Redonda e a ‘Pêra GS-2000’ apresentaram maior volume de copa (em torno de 48 m³), seguidos da variedade Corsa Tardia, com 40,54 m³, já a ‘Pêra Premunizada-1212’ e ‘Pêra Pirangi’ foram os que apresentaram menor volume de copa, com 14,41 m³ e 10,58 m³, respectivamente. Quando se observou a circunferência de tronco, tanto acima como abaixo do ponto de enxertia, a ‘Pêra GS-2000’ e as variedades Redonda, Corsa Tardia e Ovale San Lio (acima de 0,65 m), foram os que apresentaram os maiores valores e a ‘Pêra Premunizada-1212’ e ‘Pêra Pirangi’ os menores valores (em torno de 0,45 m). Não se observou nenhum indício de incompatibilidade entre as variedades copa e o porta-enxerto.

A variedade Corsa Tardia e a ‘Pêra R.Gullo-1570’ foram os que apresentaram maior enfolhamento (aproximadamente 1200 folhas na projeção de 1m² até o centro da copa) e a ‘Pêra Vimusa’ e ‘Pêra Premunizada-1212’ foram os que apresentaram menor enfolhamento, com 740 e 725 folhas. Os demais genótipos apresentaram valores intermediários. A produção média em 8 anos destes genótipos apresentada por Teófilo Sobrinho et al. (1992) e Domingues et al. (1997b) indicaram a variedade Redonda como a mais produtiva (105,78 kg/planta), seguida da ‘Pêra GS-

⁶⁷ DOMINGUES, E.T.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; TULMANN NETO, A. Caracterização morfológica de 11 clones de laranja Pêra e 6 variedades assemelhadas. (encaminhado para publicação a partir de Dez. 1997 - PAB).

2000' (80,03 kg) e 'Pêra Premunizada-1743' (70,50 kg). As 'Ovais' e a 'Pêra Pirangi' foram os menos produtivos, com aproximadamente 30 kg/planta (Tabela 27).

Tabela 27. Valores médios obtidos para a altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas estimado/m² para onze clones de laranja 'Pêra' e seis outras variedades com características morfológicas semelhantes à mesma, avaliados de junho a julho de 1995¹. E dados de produção média de 1984 a 1991 e de percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) médios (CCSM, IAC).²

Variedade ou clone	Altura de planta	Dados referentes à copa			Circ.do tronco a 0,10 m		Número de folhas/m ²	Produção de frutos 1984-1991	Acidez média jun - dez	Sólidos Solúveis jun - dez
	m	altura m	largura m	volume m ³	acima m	abaixo m		kg/planta	%	°Brix
Pêra Vimusa	3,50	3,18	4,04	27,18	0,61	0,60	739,91	58,44	1,25	13,06
Pêra EEL	3,32	3,16	3,89	25,04	0,54	0,57	1018,33	64,27	1,18	12,99
Pêra GS-2000	3,73	3,28	5,27	47,70	0,73	0,76	791,21	80,03	1,23	12,44
Pêra Olímpia	2,77	2,63	3,35	15,45	0,48	0,49	1120,88	41,39	1,31	13,24
Pêra Prem.-1212	2,67	2,38	3,40	14,41	0,47	0,47	725,27	44,30	1,5	14,66
Pêra Bianchi	3,40	2,99	4,06	25,81	0,61	0,59	783,87	64,42	1,25	13,3
Pêra R.Gullo-1569	2,93	2,93	3,77	21,80	0,51	0,54	893,76	48,07	1,41	13,99
Pêra Dibbern	3,08	2,88	3,62	19,76	0,50	0,52	1091,56	53,41	1,35	12,78
Pêra Pirangi	2,68	2,20	3,03	10,58	0,44	0,42	967,03	33,97	1,55	13,67
Pêra R.Gullo-1570	2,92	2,65	3,51	17,09	0,49	0,49	1208,79	41,11	1,44	14,19
Redonda	3,62	3,62	5,03	47,96	0,67	0,78	1047,60	105,78	1,72	12,92
Pêra Prem.-1743	3,40	3,32	4,20	30,66	0,60	0,61	849,80	70,50	1,36	13,15
Ovale	3,22	3,22	3,98	26,71	0,64	0,65	945,05	34,00	1,12	11,49
Ovale Siracusa	2,93	2,65	3,57	17,68	0,53	0,54	937,71	32,97	1,16	13,23
Ovale San Lio	3,72	3,48	3,80	26,31	0,75	0,73	1054,95	28,81	1,07	12,14
Lamb's Summer	3,27	3,27	3,97	26,99	0,54	0,55	887,16	59,08	1,65	13,15
Corsa Tardia	3,70	3,55	4,67	40,54	0,74	0,74	1216,13	66,99	0,91	11,56
dms (Tukey, 5%)	0,51	0,47	0,94	13,66	0,13	0,12	592,61	-	-	-
C.V. (%)	7,65	7,62	11,62	24,72	10,68	9,59	32,61	-	-	-

¹ Resultados enviados como parte do relatório de atividades ao FUNDECITRUS em junho de 1997.

² Segundo Teófilo Sobrinho et al. (1992) e Domingues et al. (1996c, 1997a e 1997b).

A análise dos componentes principais revelou que os dois primeiros componentes, com eigen-valores acima da unidade, representaram 87,50% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (73,95% da variância total) foram altura de planta, largura, altura e volume de copa, circunferência do tronco 10 cm acima e abaixo do ponto de enxertia e produção média em 8 anos. O que mais contribuiu no segundo componente

Figura 10. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA, para altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas estimado/ m² e produção média de 1984 a 1991, avaliados em onze clones de laranja 'Pêra' e seis outras variedades.

(13,56% da variância total) foi o número estimado de folhas na projeção de 1 m² (Tabela 28).

Tabela 28. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição de altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas estimado/ m² e produção média de 1984 a 1991 para a explicação da variância de cada componente para onze clones de laranja ‘Pêra’ e seis outras variedades com características morfológicas semelhantes à mesma.

Componente principal	Eigen valor	Variância total	Eigen-valor acumulado	Variância acumulada	Caracteres	Comp.1	Comp.2
		%		%			
1	5,92	73,95	5,92	73,95	Altura de planta	-0,95*	-0,07
2	1,08	13,56	7,00	87,50	Altura de copa	-0,92*	-0,15
3	0,69	8,64	7,69	96,15	Largura de copa	-0,95*	0,16
4	0,19	2,38	7,88	98,53	Volume de copa	-0,97*	0,08
5	0,07	0,92	7,96	99,44	Circ. ac. enxert.	-0,91*	-0,16
6	0,03	0,42	7,99	99,87	Circ. ab. enxert.	-0,96*	-0,13
7	0,01	0,09	8,00	99,96	N. folhas est/ m ²	0,00	-0,94*
8	0,00	0,04	8,00	100,00	Produção	-0,74*	0,33
Variância explic.						5,92	1,08
Proporção total						0,74	0,14

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para os escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, 6 grupos distintos a distância igual a 4. Os quais são os seguintes em ordem crescente de similaridade: ‘Redonda’; ‘Pêra GS-2000’; ‘Pêra Pirangi’; ‘Ovale San Lio’; ‘Corsa Tardia’ e o último grupo formado pelos demais genótipos (Figura 10). No agrupamento pelos dados padronizados a variedade Redonda, Pêra GS-2000 e Corsa Tardia também estiveram entre as mais distantes.

4.8.2 Caracterização morfológica das folhas

De um modo geral, os 17 genótipos apresentaram folhas de ciclo persistente, tipo simples, cor verde escura, formato elíptico a oval, margem crenada,

ápice de agudo a acuminado e base de atenuada a cuneada, brevipetioladas com asas de estreitas a largas. Na ‘Pêra GS-2000’ as asas do pecíolo mostraram-se muitas vezes ausentes, quando presentes estas foram desde estreitas a largas, indicando grande variação para o carácter neste genótipo (Tabela 29).

Quanto ao comprimento, largura da lâmina foliar e comprimento de folha o clone Dibbern foi o que apresentou os maiores valores médios (83,22; 45,33 e 100,83 mm, respectivamente), enquanto que a variedade Redonda apresentou o menor comprimento de lâmina foliar (77,50 mm), a ‘Lamb’s Summer’ a menor largura da lâmina foliar (40,28) e a ‘Pêra Premunizada-1743’ o menor comprimento de folha (90,83 mm). De um modo geral a ‘Pêra GS-2000’, ‘Pêra Premunizada-1743’ e ‘Pêra Pirangi’ foram as que apresentaram maiores médias para o número de glândulas de óleo contados no ápice, no meio e na base da lâmina foliar, sendo que as maiores médias foram observadas no meio da lâmina foliar, depois no ápice e em seguida na base. Os menores valores para estes caracteres avaliados foram observados na ‘Pêra Premunizada-1212’. Os maiores comprimentos médios do pecíolo e da asa do pecíolo foram observados na ‘Pêra R.Gullo-1569’ (18,50 mm e 13,47 mm) e ‘Pêra Dibbern’ (18,22 mm e 13,37 mm). Os menores valores do comprimento e de asa de pecíolo foram observados na variedade Redonda (13,78 mm e 4,82 mm, respectivamente). Já a largura da asa foi maior na ‘Pêra Vimusa’ (4,82 mm) e menor na ‘Pêra R.G.-1570’ (2,93 mm). A relação comprimento de pecíolo sobre o comprimento da lâmina foliar foi maior, desta forma, na ‘Pêra R.Gullo-1569’ e ‘Pêra Dibbern’ (0,22) e menor na ‘Pêra GS-2000’ (0,17) (Tabela 29).

Os dois primeiros componentes principais, com eigen-valores acima da unidade, representaram 72,04% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (45,98% da variância total) foram comprimento da lâmina foliar e de folha, comprimento de pecíolo, relação comprimento de pecíolo / comprimento de lâmina foliar, comprimento e largura de asa do pecíolo. Os que mais contribuíram no segundo

Tabela 29. Valores avaliados qualitativamente obtidos para ciclo vegetativo, tipo, cor, formato (form) e margem da folha (mar), formato do ápice (fa) e da base da folha (fb), tipo de pecíolo (tp) e tipo e formato da asa do pecíolo (explicados no texto), e valores médios obtidos para o comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha (incluindo o pecíolo), número de glândulas de óleo no ápice, na porção mediana e na base da folha em área de 9,6 mm², comprimento do pecíolo e relação do comprimento do pecíolo/ comprimento da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pecíolo, para onze clones de laranja 'Pêra' e seis outras variedades com características morfológicas semelhantes à laranja 'Pêra', avaliados de março a abril de 1995. E dados médios de acidez e sólidos solúveis ("Brix) do suco, medidos de junho a dezembro de 1995, no CCSM/ IAC, Cordeirópolis, SP^{2,2}.

Variedade, clone	Dados referentes a folha				Tipo de pecíolo	Área do pecíolo		Número de glândulas de óleo				Acidez	SS											
	ciclo	tipo	cor	form		nar	ápice	base	pec.	compr.	lâmina foliar			Compr. da folha	9,6 mm² de folha		Pectíolo foliar		Área do pecíolo					
															compr.	mm	mm	mm	compr.	mm	compr.	mm	compr.	mm
Pêra Vímusa	1	1	3	2/3	3	1/2	2	2	3	2/3	82,50	44,28	99,44	22,11	25,83	19,11	16,67	0,20	12,4	4,82	1,25	13,06		
Pêra EEL	1	1	3	2	3	2	2	2	3/4	2	80,11	45,22	97,44	22,61	23,83	17,94	16,50	0,20	10,16	4,02	1,18	12,99		
Pêra GS-2000	1	1	3	2	3	2	2/1	2	0 ^{2/3}	2/3	81,50	44,78	94,44	23,61	25,33	20,22	13,94	0,17	11,18	4,09	1,23	12,44		
Pêra Olímpia	1	1	3	2	3	1	2	2	3	2	79,00	42,78	96,06	21,83	26,11	18,33	16,44	0,21	11,0	4,70	1,31	13,24		
Pêra Prem.-1212	1	1	3	2	3	2/1	2	2	3	2	79,50	41,67	94,17	15,67	19,28	14,11	14,55	0,18	10,53	4,10	1,50	14,66		
Pêra Bianchi	1	1	3	2	3	1/2	1/2	2	3	2	80,28	40,78	95,06	21,67	24,33	18,55	14,05	0,18	9,40	3,40	1,25	13,30		
Pêra R.G.-1569	1	1	3	2	3	1/2	1/2	2	3/4	2	81,61	44,89	99,56	22,83	25,94	19,83	18,50	0,22	13,47	4,70	1,41	13,99		
Pêra Dibbern	1	1	3	2/3	3	1/2	1/2	2	3	2	83,22	45,33	100,83	20,28	24,28	18,94	18,22	0,22	13,37	4,69	1,35	12,78		
Pêra Pirangi	1	1	3	2/3	3	2	1/2	2	2	2	78,44	41,05	94,22	22,89	27,83	21,17	15,72	0,20	11,4	3,86	1,55	13,67		
Pêra R.G.-1570	1	1	3	2	3	1	1/2	2	2	2	79,50	40,72	95,72	21,33	24,11	19,33	16,11	0,20	11,19	2,93	1,44	14,19		
Redonda	1	1	3	2	3	1	2	2	3	2	77,50	42,00	91,39	19,83	24,22	17,39	13,78	0,18	8,63	3,27	1,72	12,92		
Pêra Prem.-1743	1	1	3	2	3	1/2	2	2	2/3	2	80,78	40,89	90,83	23,33	26,33	21,17	14,94	0,19	10,86	4,13	1,36	13,15		
Ovale	1	1	3	2/3	3	1/2	2	2	3/4	3	78,28	43,89	93,17	21,17	23,05	18,33	14,50	0,18	11,64	4,43	1,12	11,49		
Ovale Siracusa	1	1	3	2	3	2	2	2	3	2	81,44	43,17	96,44	20,50	23,05	18,94	14,83	0,19	9,59	3,47	1,16	13,23		
Ovale San Lio	1	1	3	2	3	1	2/1	2	3	2	79,83	44,22	94,61	21,28	24,55	19,78	13,94	0,18	8,88	3,44	1,07	12,14		
Lamb's Summer	1	1	3	2/3	3	2/1	1	2	3	2	78,28	40,28	94,89	22,33	23,78	18,83	16,44	0,21	10,70	3,18	1,65	13,15		
Corsa Tardia	1	1	3	2	3	1	2	2	3	2	78,11	42,00	92,78	22,28	25,44	20,61	14,61	0,19	8,83	3,21	0,91	11,56		
dms (Tukey, 5%)											8,08	5,00	10,00	4,25	4,81	4,02	5,84	0,07	1,31	0,85	-	-		
C.V. (%)											15,47	17,90	16,03	17,44	17,27	18,69	33,17	31,06	40,31	44,12	-	-		

Resultados enviados como parte do relatório de atividades ao FUNDECITRUS em jun. de 1997.

² Segundo Domingues et al. (1996c, 1997a e 1997b).

componente (26,1% da variância total) foram número de glândulas de óleo no ápice, meio e base da lâmina foliar (Tabela 30).

Tabela 30. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha, número de glândulas de óleo no ápice, na porção mediana e na base da folha em área de 9,6 mm², comprimento do pecíolo e relação do comprimento do pecíolo/ largura da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pecíolo, para a explicação da variância de cada componente, para onze clones de laranja ‘Pêra’ e seis variedades semelhantes à mesma.

Componente principal	Eigen valor	Variância total %	Eigen-valor acumulado	Variância acumulada %	Caracteres	Comp.1	Comp.2
1	4,60	45,98	4,60	45,98	Comp. lâm. folha	0,71*	-0,19
2	2,61	26,06	7,20	72,04	Larg. lâm. folha	0,60	-0,25
3	1,22	12,22	8,43	84,26	Compr. folha	0,85*	-0,32
4	0,64	6,40	9,07	90,66	N.gl. óleo ápice	0,35	0,87*
5	0,45	4,52	9,52	95,18	N.gl. óleo meio	0,39	0,86*
6	0,20	2,05	9,72	97,23	N.gl. óleo base	0,28	0,91*
7	0,14	1,35	9,86	98,58	Compr. pecíolo	0,89*	-0,09
8	0,10	1,03	9,96	99,61	C. pec./ c. lâm.	0,77*	0,03
9	0,03	0,33	9,99	99,95	C. asa pecíolo	0,86*	-0,12
10	0,01	0,05	10,00	100,00	Larg. asa pecíolo	0,73*	-0,25
Variância explic.						4,60	2,61
Proporção total						0,46	0,26

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

Foram obtidos dendrogramas pelos dados padronizados e pelos escores da análise de componentes principais (Figura 11), este último pareceu mais apropriado na separação dos genótipos com maior polimorfismo na análise de folhas. Foram obtidos 5 grupos distintos a distância igual a 4,5. Os quais são os seguintes em ordem crescente de similaridade: ‘Pêra Premunizada-1743’; ‘Pêra Premunizada-1212’; ‘Redonda’; ‘Ovale’ e ‘Pêra GS-2000’, e o quinto grupo foi constituído pelos demais genótipos.

Figura 11. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha, número de glândulas de óleo no ápice, na porção mediana e na base da folha em área de 9,6 mm², comprimento do pecíolo e relação do comprimento do pecíolo/ largura da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pecíolo, avaliados em onze clones de laranja 'Pêra' e seis variedades semelhantes.

4.8.3 Caracterização morfológica das flores

O florescimento ocorreu em inflorescência, tipo racemo, com flores de 5 sépalas e pétalas, axilares e terminais, com botões e flores brancos e posição das anteras ocorrendo acima, na mesma altura e abaixo do estigma. Excetuando-se a variedade Redonda, que não floresceu conjuntamente com os demais genótipos estudados, todos estavam em estádios semelhantes de florescimento (Tabela 31).

O comprimento do pedicelo foi maior na ‘Pêra Premunizada-1212’ (6,13 mm) e menor na ‘Pêra Olímpia’ (3,27 mm). Os comprimentos de botão e de pétala foram maiores na variedade Ovale San Lio (12,62 e 13,47 mm, respectivamente) e menores na ‘Pêra R.Gullo-1570’ (9,56 e 10,67 mm, respectivamente). A largura de botão foi maior na ‘Pêra R.Gullo-1569’ (6,26 mm) e menor na ‘Pêra EEL’ (4,93 mm) e a largura de pétala foi maior na var. Ovale San Lio (5,47 mm) e menor na ‘Lamb’s Summer’ (4,27 mm), (Tabela 31).

A ‘Pêra Pirangi’ apresentou o maior número médio de estames (21,00) e a ‘Pêra R.Gullo-1569’ o menor (17,40), quanto ao comprimento de estames a variedade Ovale San Lio apresentou o maior valor médio (10,47 mm) e a ‘Pêra R.Gullo-1570’ o menor (7,06 mm). O comprimento médio do gineceu foi maior na variedade Corsa Tardia (9,13 mm) e menor na variedade Lamb’s Summer (4,80 mm). Quanto à posição das anteras nos botões, estas se mostraram mais acima do estigma nas variedades Ovale e Ovale San Lio (valor médio de 1,47), e mais abaixo na variedade Lamb’s Summer e Pêra Vimusa (2,67 e 2,27, respectivamente), sendo que para os demais genótipos as anteras estavam praticamente na mesma altura em relação ao estigma nos botões florais. Já a distância média das anteras ao estigma medida nos botões foi maior na ‘Pêra Pirangi’ e ‘Pêra Premunizada-1743’ (igual ou acima de 3,00 mm) e menor na ‘Pêra Olímpia’ e ‘Pêra R.Gullo-1569’ (1,00 mm).

Em estudo prévio, foi observado que as variedades Corsa Tardia, Pêra Olímpia e Ovale San Lio apresentaram os maiores percentuais de pólen viável, com 65,5%, 57,3% e 53,6%, respectivamente. A maioria dos genótipos estudados

Tabela 31. Valores avaliados qualitativamente para o arranjo, posição e tipo de inflorescência, cor dos botões e das flores abertas, posição das anteras em relação ao estigma, estágio de floração, número de sépalas e de pétalas (explicados no texto), e valores médios obtidos para o comprimento do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da antera até o estigma e o percentual de pólen viável para onze clones de laranja 'Pêra' e cinco outras variedades semelhantes à 'Pêra'^{1,2}.
Florada de setembro de 1995 (CCSM/IAC).

Variedade ou clone	Inflorescência		Cor de botões	floresestágio	Posição anteras	Número sépalas	Número pétalas	Compr. pedicelo	Botão		Pétala		Estames		Compr. gineceu	Posição anteras	Distância ant/estig	Pólen viável	
	Arranjo	Posição							Compr.	largura	Compr.	largura	número	compr.					
	1x4/9/95																		
Pêra Vimusa	2	1/2	2	2	1	2/3	4/5	5	4,40	10,61	5,69	11,67	4,40	19,73	7,73	7,73	2,27	1,16	43,6
Pêra EEL	2	1/2	2	2	1	1/2	5	5	5,60	10,05	4,93	11,47	5,27	18,27	10,00	9,00	1,80	1,28	45,6
Pêra GS-2000	2	1/2	2	2	1	2	5	5	4,20	11,77	6,19	12,87	4,67	17,73	9,40	8,67	2,00	1,5	43,7
Pêra Olímpia	2	1/2	2	2	1	2	4/5	5	3,27	10,64	6,13	11,67	4,47	20,00	8,87	7,87	1,80	1,0	57,3
Pêra Prem.-1212	2	1/2	2	2	1	2	4/5	5	6,13	10,14	5,48	11,87	4,87	18,60	9,00	8,60	2,13	1,5	43,4
Pêra Bianchi	2	1/2	2	2	1	2	5	5	4,13	10,12	5,65	10,93	4,40	18,53	7,93	7,33	2,00	1,5	28,1
Pêra R.G.-1569	2	1/2	2	2	1	2	5	5	3,87	11,05	6,26	12,00	4,87	17,40	9,33	8,27	2,00	1,00	43,7
Pêra Dibbern	2	1/2	2	2	1	2	5	5	5,40	10,42	5,20	11,80	4,60	17,80	8,67	8,20	2,00	1,5	31,2
Pêra Pirangi	2	1/2	2	2	1	1/2	5	5	4,87	11,17	5,71	12,00	4,87	21,00	8,80	7,53	1,73	3,6	28,4
Pêra R.G.-1570	2	1/2	2	2	1	2	5	5	4,47	9,56	5,39	10,67	4,33	19,53	7,06	6,60	1,80	2,31	41,1
Pêra Prem.-1743	2	1/2	2	2	1	2	5	5	4,13	11,37	5,72	12,40	4,80	19,27	9,33	8,00	1,80	3,0	34,7
Ovale	2	1/2	2	2	1	1	5	5	4,80	11,00	5,00	11,73	4,47	19,13	8,93	7,47	1,47	1,73	30,4
Ovale Siracusa	2	1/2	2	2	1	1/2	5	5	5,87	10,00	5,00	10,27	4,73	18,27	8,27	6,80	1,87	2,13	1,0
Ovale San Lio	2	1/2	2	2	1	1/2	5	5	4,53	12,62	5,73	13,47	5,47	19,67	10,47	8,20	1,47	1,86	53,6
Lamb's Summer	2	1/2	2	2	1	2/3	5	5	4,27	10,66	5,86	10,67	4,27	19,40	8,13	4,80	2,67	2,33	30,2
Corsa Tardia	2	1/2	2	2	1	2	5	5	4,60	11,93	5,00	12,87	5,13	18,27	10,27	9,13	2,00	2,6	65,5
dms (Tukey, 5%)									1,05	0,95	0,76	1,67	0,93	1,80	1,81	2,38	0,66	-	8,97
C.V. (%)									18,21	28,51	33,19	11,31	15,67	7,59	16,28	24,47	27,27	-	22,67

¹ A variedade Redonda não foi avaliada por não ter produzido flores na mesma época.

² Resultados enviados como parte de relatório ao FUNDECITRUS em Jun. de 1997.

³ Média das distâncias diferentes de zero.

apresentou este valor variando de 30% a 50%, e as que apresentaram menores valores foram a ‘Pêra Bianchi’ e ‘Pêra Pirangi’, com aproximadamente 28% de pólen viável além da variedade Ovale de Siracusa, na qual praticamente não se observou presença de pólen (Tabela 21 e 31).

Os três primeiros componentes principais, com eigen-valores acima da unidade, representaram 76,47% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (39,60% da variância total) foram comprimento do botão, largura e comprimento de pétala e comprimento de estames e de gineceu. Os caracteres que mais contribuíram no segundo componente (20,97% da variância total) foi o comprimento do pedicelo e largura de botão. O terceiro componente (15,90% da variância) recebeu maior contribuição do número de estames e da distância da antera ao estigma (Tabela 32).

Tabela 32. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do comprimento do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da antera até o estigma e do percentual de pólen viável para a explicação da variância de cada componente em onze clones de laranja ‘Pêra’ e cinco outras variedades semelhantes à ‘Pêra’.

Compon princ.	Eigen valor	Variância total %	Eigen-valor acumulado	Variância acumulada %	Caracteres	Comp.1	Comp.2	Comp.3
1	4,36	39,60	4,36	39,60	Compr. pedicelo	0,09	-0,91*	0,03
2	2,31	20,97	6,66	60,57	Compr. botão	-0,80*	0,33	0,27
3	1,75	15,90	8,41	76,47	Largura botão	-0,08	0,86*	-0,17
4	0,86	7,83	9,27	84,30	Comp. pétala	-0,93*	0,20	0,07
5	0,64	5,78	9,91	90,08	Largura pétala	-0,82*	-0,39	0,12
6	0,38	3,46	10,29	93,54	Núm. estames	0,14	0,36	0,76*
7	0,31	2,80	10,60	96,34	Comp. estames	-0,92*	-0,16	-0,01
8	0,24	2,21	10,84	98,55	Comp. gineceu	-0,80*	-0,27	-0,32
9	0,09	0,84	10,93	99,39	Pos.ant./estigma	0,46	0,26	-0,38
10	0,06	0,53	10,99	99,92	Dist. ant.-estig.	0,03	-0,06	0,87*
11	0,01	0,08	11,00	100,00	% Pólen viável	-0,67	0,38	-0,23
Variância explic.						4,36	2,31	1,75
Proporção total						0,40	0,21	0,16

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

Figura 12. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram comprimento do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da antera até o estigma e do percentual de pólen viável, avaliados em onze clones de laranja 'Pêra' e seis variedades semelhantes.

Foram obtidos dendrogramas pelos dados padronizados e pelos escores dos componentes principais (Figura 12). E assim como citado anteriormente, optou-se pelo segundo por facilitar a separação dos genótipos mais polimórficos. Pelo método UPGMA de agrupamento, para os escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, foram obtidos 5 grupos distintos a distância igual a 5. Os quais foram os seguintes em ordem crescente de similaridade: ‘Lamb’s Summer’; ‘Corsa Tardia’; ‘Pêra R.Gullo-1570’; ‘Ovale San Lio’; e o último grupo constituído pelos demais genótipos.

4.8.4 Caracterização morfológica dos frutos

Os frutos apresentaram formato largamente obovado com exceção da variedade Redonda cujos frutos, se apresentaram largamente elípticos. O formato predominante do ápice e da base foi convexo. A coloração dos frutos variou de verde amarelados a amarelados (D2 a F3) e da polpa também (D3 a F3) (Anexo C). A Figura 5 traz as fotos realizadas para os frutos das variedades e clones estudados na presente pesquisa, pelas quais pode-se ter uma noção da coloração de casca e de polpa, textura e brilho de casca. O formato da columela variou de circular ao radial e as sementes, de coloração creme, predominantemente deltóides, com o tegmem avermelhado e cotilédones creme, às vezes branco gelo (Tabela 33).

O diâmetro do pedúnculo foi maior na ‘Pêra Vimusa’, ‘Pêra EEL’ e ‘Pêra GS-2000’, com valores acima de 4 mm, e a ‘Pêra Premunizada-1212’, ‘Pêra Pirangi’ e a variedade Lamb’s Summer apresentaram os menores valores (abaixo de 3,30 mm). O diâmetro da cicatriz do estilete foi maior na ‘Pêra EEL’ e ‘Pêra R.Gullo-1570’, com valores acima de 2,60 mm, e menor na ‘Pêra Pirangi’ e var. Lamb’s Summer, com valores médios de 1,17 mm e 1,00 mm, respectivamente (Tabela 33).

Os genótipos com frutos de maior altura e peso foram a ‘Pêra GS-2000’ e as variedades Ovale San Lio e Ovale, com valores acima de 73 mm e de 169 g, respectivamente, e as variedades Lamb’s Summer e Redonda apresentaram os

Tabela 33. Valores avaliados qualitativamente para: formato do fruto (ff), formato do ápice (fa) e da base do fruto (fb), cor da casca ou epicarpo, cor da polpa, formato da columela ou axis (fc), formato e cor das sementes (f) e (c), cor do tegmen (t) e do cotilédone (cc) (explicados no texto), e valores médios obtidos para os caracteres avaliados quantitativamente: espessura do pedúnculo, diâmetro do umbigo ou da cicatriz estilar, altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm² de epicarpo, espessura do flavedo ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes por fruto, comprimento e largura de semente para onze clones de laranja e seis outras variedades^{1,2}. Avaliação de frutos em julho de 1995 (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP.)

Variedade, clone	Fruto			Cor		axi	Semente			Diâmetro	Fruto			Glândulas de óleo/			Espessuras ou diâmetros			Número de gomos	Semente				
	Fruto			Cor			Semente				Fruto			Glândulas de óleo/			Espessuras ou diâmetros				Semente				
	ff	fã	fb	casca	polpa		fc	f	c		t	cc	pedic.	umbigo	altura	largura	peso	10mm	9,6mm ²		flavedo	albedo	endoc.	axis	mm
Pêra Vimusa	12	3	2	E2/F2	F3/E3	1	6	2	1	2/3	4,78	2,55	68,05	60,83	134,74	11,50	9,72	1,00	3,11	51,05	6,00	10,94	3,75	12,39	7,39
Pêra EEL	12	3	2	D3/F3	D3/F3	3	6	2	1	2	4,42	2,72	72,05	64,11	163,15	10,50	12,17	1,22	3,44	55,11	7,83	11,39	2,86	11,39	7,50
Pêra GS-2000	12	3	2	F2/D3	D3/F3	1/3	6	2	1	2	4,33	2,39	74,55	66,39	171,20	11,11	12,22	1,05	3,67	54,94	7,94	10,44	2,92	12,44	6,78
Pêra Olímpia	12	3	2	E3	E3/F3	3	7	2	1	3	3,39	1,50	65,67	60,11	140,92	9,00	12,94	1,00	2,22	51,94	7,00	11,61	5,73	10,89	6,78
Pêra Pr-1212	12	3	2	E3	F3	1	6	2	1	2/3	3,22	1,67	68,78	62,50	147,90	11,11	13,17	1,00	3,50	51,55	5,83	10,61	4,03	11,78	7,56
Pêra Bianchi	12	3	2	E3	E3	3	6	2	1	3	3,89	1,44	69,50	61,89	153,57	9,05	13,28	1,00	3,22	52,89	7,05	11,22	4,79	11,50	7,11
Pêra R.G.-1569	12	3/4	2	E3	F3	2	7	2	1	3	3,75	1,78	68,89	62,72	164,46	9,39	13,28	1,00	2,50	54,78	8,05	11,55	4,36	10,28	6,17
Pêra Dibbam	12	3	2	E3	E3	3	7	2	1	3	3,33	1,72	64,78	59,28	139,09	9,00	13,05	1,00	2,39	51,72	4,50	10,78	2,55	11,00	7,33
Pêra Pirangi	12	3	2	E3	F3/E3	3	7	2	1	3	3,14	1,17	67,39	61,44	146,89	9,50	12,22	1,00	3,50	52,05	6,44	10,83	7,26	11,22	6,17
Pêra R.G.-1570	12	3	2	E2/F3	F3/E3	1	6	2	1	3/2	3,67	2,67	68,67	60,78	134,78	9,72	8,94	1,33	3,55	51,17	6,94	10,83	4,71	12,61	7,56
Redonda	2	3	2	E3	D3/F3	2/3	6	2	1	2/3	3,50	2,00	61,55	60,39	123,15	11,11	12,55	1,00	3,16	49,61	7,50	11,33	4,99	12,72	7,89
Pêra Pr-1743	12	3	2	E3	E3	2	2	2	1	3	3,53	1,30	68,33	60,94	143,46	9,33	13,05	1,00	3,05	52,00	6,94	10,78	4,40	11,33	6,28
Ovale	12	3	2	F3/E3	E3	3/2	6	2	1	3	3,78	1,86	73,72	63,33	169,56	8,94	11,61	1,00	2,61	54,94	5,89	10,50	0,94	9,50	5,22
Ovale Siracusa	12	3	2	E2	D3/F3	3	6	2	1	3	3,61	2,55	72,39	65,00	162,59	9,89	9,22	1,11	3,50	53,39	6,28	10,39	5,87	14,06	6,94
Ovale San Lio	12	3	2	F3/E3	E3	2/3	6	2	1	3	3,83	1,39	74,00	63,11	172,45	8,78	9,83	1,00	2,72	54,55	5,94	10,33	1,08	10,89	6,83
Lamb'sSummer	12	3	2	D2/F3	E2/D3	1	6	2	1	3	3,00	1,00	62,94	55,28	108,85	10,17	10,67	1,00	3,22	47,00	5,55	10,17	4,87	13,94	7,67
Corsa Tardia	12	4	2	E3	E3/F3	3/2	7	2	1	3	3,36	1,47	72,44	63,39	165,58	9,50	11,78	1,00	3,00	53,72	6,78	10,39	1,13	10,22	6,89
dm (Tukcy,5%)											0,76	0,70	5,17	4,58	29,45	1,32	1,84	0,23	0,79	4,38	1,83	1,20	0,77	1,75	1,42
C.V.(%)											18,11	33,69	6,59	6,53	17,35	11,76	13,81	19,41	22,55	7,35	24,33	9,73	33,54	13,22	18,02

¹ Resultados enviados como parte do relatório de atividades ao FUNDECITRUS em jun. de 1997.

² Parte destes resultados foram apresentados em Domingues et al., 1996c, 1997a e 1997b.

menores valores, abaixo de 63 mm e de 125g, respectivamente. Os frutos da ‘Pêra GS-2000’ e ‘Pêra EEL’ e da var. Ovale de Siracusa foram os mais largos, com valores acima de 64 mm, e a ‘Pêra Dibbern’ e a variedade Lamb’s Summer apresentaram os menores valores médios, abaixo de 60 mm de largura.

A ‘Pêra Vimusa’ foi a que apresentou maior número médio de glândulas de óleo/ 10 mm de casca (11,50) e a variedade Ovale San Lio os menores valores (8,78). O número de glândulas de óleo/ 9,6 mm² foi maior na ‘Pêra Bianchi’ e ‘Pêra R.Gullo-1569’ (13,28) e menor na ‘Pêra R.Gullo-1570’ (8,94). A espessura do flavedo, camada mais externa da casca, foi maior na ‘Pêra R.Gullo-1570’ e ‘Pêra EEL’ (acima de 1,20 mm), no entanto a maioria dos genótipos apresentou este valor em torno de 1 mm. O albedo, outro componente que determina a espessura da casca do fruto, foi mais espesso na ‘Pêra GS-2000’ e ‘Pêra R.Gullo-1570’, com valores acima de 3,5 mm e menos espesso na ‘Pêra Dibbern’ e ‘Pêra Olímpia’ (abaixo de 2,50 mm).

O diâmetro do endocarpo foi maior na ‘Pêra EEL’ (55,11 mm) e menor na variedade Lamb’s Summer (47,00 mm). A espessura do eixo central do fruto (columela ou axi) foi maior na ‘Pêra R.Gullo-1569’ (8,05 mm) e menor na ‘Pêra Dibbern’ (4,50 mm). O número médio de gomos foi maior na ‘Pêra Olímpia’ (11,61) e menor na var. Lamb’s Summer (10,17). O número médio de sementes foi superior na ‘Pêra Pirangi’, ‘Pêra Olímpia’ e var. Ovale de Siracusa, com valores entre 5 e 8 sementes por fruto, e as variedades Corsa Tardia, Ovale San Lio e Ovale apresentaram os menores valores, aproximadamente uma semente por fruto. O comprimento das sementes foi maior nas var. Ovale de Siracusa, Lamb’s Summer e Redonda, com valores superiores a 12,70 mm, e menor nas variedades Corsa Tardia e Ovale, com 10,22 mm e 9,50 mm, respectivamente. Já a largura média das sementes foi maior nas variedades Redonda e Lamb’s Summer, com 7,89 mm e 7,67 mm, respectivamente, e menor na ‘Ovale’ (5,22 mm).

Segundo Domingues et al. (1997c) a maioria das variedades e clones de laranja ‘Pêra’, aqui estudadas, apresentou de média (30 a 60%) a elevada

poliembrionia (acima de 60%) quando se quantificou os embriões nas sementes (Tabela 27). Já a Tabela 12 traz ainda, os valores médios de percentual de acidez e de sólidos solúveis (°Brix), obtidos de junho a dezembro por Domingues et al. (1996c, 1997a e 1997b) mostrando variação destes caracteres em clones de uma mesma variedade.

Tabela 34. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do diâmetro do pedúnculo e do umbigo ou da cicatriz estilar, da altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm² de epicarpo, espessura do flavedo ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes por fruto, comprimento e largura de semente, para a explicação da variância de cada componente em onze clones de laranja e seis variedades assemelhadas à Pêra.

Comp. princ.	Eigen valor	Variância total %	Eigen-valor acumulado	Variância total acumulada %	Caracteres	Comp.1	Comp.2	Comp.3
1	5,78	32,11	5,78	32,11	Diâm. pedúnculo	0,49	0,56	0,03
2	3,77	20,96	9,55	53,07	Diâm. umbigo	0,25	0,83*	-0,10
3	2,45	13,59	12,00	66,66	Altura de fruto	0,89*	0,22	0,23
4	1,62	8,99	13,62	75,64	Largura de fruto	0,80*	0,37	-0,09
5	1,13	6,25	14,74	81,89	Peso de fruto	0,93*	0,02	-0,04
6	0,73	4,07	15,47	85,96	N. glând.óleo/ cm	-0,28	0,68	-0,03
7	0,62	3,43	16,09	89,39	N. gl.óleo/ 9,6mm ²	-0,02	-0,47	-0,63
8	0,49	2,71	16,58	92,10	Espessura flavedo	0,05	0,70*	-0,01
9	0,33	1,81	16,91	93,92	Espessura albedo	-0,15	0,73*	0,21
10	0,28	1,54	17,18	95,46	Diâm. endocarpo	0,93*	0,05	-0,21
11	0,24	1,31	17,42	96,77	Diâm. columela	0,24	0,40	-0,67
12	0,17	0,96	17,59	97,74	Núm. de gomos	-0,10	0,03	-0,92*
13	0,14	0,75	17,73	98,49	Núm. de sementes	-0,65	0,16	-0,31
14	0,07	0,38	17,80	98,86	Comp. semente	-0,58	0,59	0,34
15	0,06	0,33	17,85	99,19	Largura semente	-0,57	0,47	0,10
16	0,05	0,28	17,90	99,47	Acidez jun. - dez.	-0,85*	0,02	-0,25
17	0,05	0,26	17,95	99,74	Brix jun. - dez.	-0,57	0,28	-0,33
18	0,05	0,26	18,00	100,00	% Poliembrionia	-0,14	-0,15	0,42
Variância explic.						5,78	3,77	2,45
Proporção total						0,32	0,21	0,14

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

Os três primeiros componentes principais, com eigen-valores acima da unidade, representaram 66,67% da variância total. Os caracteres que mais

Figura 13. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA, para diâmetro do pedúnculo e do “umbigo” ou da cicatriz estilar, da altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm² de epicarpo, espessura do flavedo ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes por fruto, comprimento e largura de semente, avaliados em onze clones de laranja ‘Pêra’ e seis variedades semelhantes.

contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (32,11% da variância total) foram altura, largura e peso de fruto, diâmetro do endocarpo e o percentual de acidez observado de junho a dezembro. Os caracteres que mais contribuíram no segundo componente (20,96% da variância total) foram o diâmetro da cicatriz do estilete ou do “umbigo” e a espessura do flavedo e do albedo. O terceiro componente (13,59% da variância) recebeu maior contribuição do número de gomos (Tabela 34).

O dendrograma obtido pelos escores dos componentes principais tornou mais fácil a separação dos genótipos mais polimórficos pela morfologia de fruto (Figura 13). Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para os escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, foram obtidos 7 grupos distintos à distância igual a 5. Os quais foram, em ordem crescente de similaridade: ‘Pêra Vimusa’; ‘Lamb’s Summer’; ‘Ovale de Siracusa’; ‘Pêra R.Gullo-1570’; ‘Pêra Premunizada-1212’; ‘Corsa Tardia’ e ‘Ovale San Lio’; e o sétimo e último grupo constituído pelos demais genótipos.

4.8.5 Avaliação conjunta dos dados

Quanto aos estudos de correlação produto-momento de Pearson, para $p < 0,05$, são aqui apresentados alguns resultados, aparentemente, mais importantes e de interesse agrônomo a Tabela 36 apresenta a correlação entre os 47 caracteres avaliados quantitativamente. A altura de planta, e altura, largura e volume de copa mostraram elevadas correlações positivas e significativas entre si e com a circunferência do tronco, 10 cm acima e abaixo do ponto de enxertia, produção média em 8 anos e comprimento de botão e, correlação negativa significativa com o número de sementes, acidez e sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) médios, medidos de junho a dezembro.

O comprimento e largura da lâmina foliar e o comprimento total de folha, apresentaram correlações positivas significativas entre si. A largura da lâmina foliar apresentou correlação positiva com a largura de asa e comprimento do gineceu,

diâmetro do pedúnculo, peso do fruto e diâmetro do endocarpo e negativa com distância da antera ao estigma. Já o comprimento de folha apresentou correlação positiva com o comprimento do pecíolo, comprimento do pecíolo/ comprimento da lâmina foliar e comprimento da asa do pecíolo e negativa com a distância da antera ao estigma.

A altura, largura e peso do fruto apresentaram correções positivas entre si, com a largura de pétala, com o comprimento do gineceu e com o diâmetro do endocarpo. A altura e peso de fruto apresentaram correlações positivas com a circunferência acima e abaixo do ponto de enxertia. A altura do fruto apresentou correlação negativa com o comprimento do pecíolo, com a relação comprimento do pecíolo / comprimento da lâmina foliar e com o número de sementes. O peso de fruto apresentou correlação positiva com a largura da lâmina, comprimento de estames e largura de sementes. A altura e largura de fruto apresentaram correlações negativas com a posição da antera em relação ao estigma e com a acidez enquanto que o peso apresentou correlação positiva com estes caracteres. A largura de fruto apresentou correlação positiva com diâmetro do “umbigo” e de columela. A espessura do flavedo apresentou correlação negativa com o comprimento do botão e positiva com o diâmetro do “umbigo”. A espessura do albedo apresentou correlação positiva com o número de glândulas de óleo/ 10 mm e com o comprimento de sementes e negativa com a largura de asa.

O número de sementes apresentou correlação positiva com o percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) médios de suco observados de junho a dezembro e negativa com a altura de planta, altura, largura e volume de copa e circunferência acima e abaixo do ponto de enxertia, com comprimento de pétala e de estames e com altura de fruto. O comprimento de sementes apresentou correlação positiva com a posição da antera em relação aos estigmas, com o número de glândulas de óleo/ 10 mm, com espessura do albedo, com largura de sementes e negativa com o comprimento de pétala, de estames e de gineceu, com percentual de pólen viável, com o número de glândulas de óleo/ 9,6 mm², e diâmetro do endocarpo. Já a largura da

semente apresentou correlação positiva com a posição da antera em relação ao estigma, comprimento de sementes, e negativa com o peso de fruto e diâmetro de endocarpo.

O percentual médio de acidez de suco observado de junho a dezembro apresentou correlação positiva com o número de sementes e sólidos solúveis (°Brix), e negativa com a altura de planta, altura e volume de copa e circunferência acima e abaixo do ponto de enxertia, com comprimento de estigma e de gineceu, altura, largura e peso de fruto e diâmetro de endocarpo. Os °Brix médio de suco observado de junho a dezembro, apresentou correlação positiva com o número de sementes e com o percentual médio de acidez observado de junho a dezembro, e negativa com a altura de planta, altura, largura e volume de copa e circunferência acima e abaixo do ponto de enxertia e com comprimento de botão.

A partir destes dados pode-se concluir para os genótipos estudados que, de um modo geral, as plantas de maior desenvolvimento vegetativo e com folhas mais largas de pecíolos menores, com asas mais largas, são as que produzem flores maiores, e mais e maiores frutos, de menor espessura de casca, e com menores percentuais de acidez e sólidos solúveis (°Brix), com menor número de sementes, menores e mais estreitas. Estes dados são coerentes para estes genótipos selecionados pelo padrão de qualidade da variedade Pêra, cultivar elite da citricultura nacional. Em contraste se encontrariam os genótipos menos evoluídos de laranja doce, com plantas menores e menos produtivas, de folhas mais estreitas e de pecíolos maiores e menos alados, com frutos menores, de casca mais espessa, com maiores percentuais de acidez e sólidos solúveis (°Brix) e com mais sementes, maiores e mais largas.

Como citado anteriormente, a importância do estudo das correlações encontra-se, principalmente no fato de que os caracteres medidos quantitativamente estão na maioria das vezes, sob controle de poligenes e, o grande número de locos envolvidos, aumenta a probabilidade de formação de blocos gênicos, incluindo fatores que controlam outros caracteres considerados no estudo, e de manifestação dos efeitos pleiotrópicos, de tal forma que as correlações podem ser elevadas (Cruz,

1990). No entanto cabe ressaltar que, na presente pesquisa, muitas correlações encontradas significativas carecem de maiores estudos para comprovação de seu significado biológico.

Os quatro primeiros componentes principais, com eigen-valores > 1 , representaram 62,20% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (26,24% da variância total) foram altura de planta, largura, altura e volume de copa, circunferência do tronco 10 cm acima e abaixo do ponto de enxertia, comprimento do botão e da pétala, comprimento dos estames, peso de fruto, diâmetro de endocarpo, número de sementes, percentual de acidez e sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) médios de junho a dezembro. Os que mais contribuíram no segundo componente (13,15% da variância total) foram a largura da lâmina foliar, comprimento de folha, comprimento do pecíolo, largura da asa do pecíolo e número de gomos. O que mais contribuiu no terceiro componente (12,10% da variância total) foi o diâmetro do “umbigo”. O que mais contribuiu no quarto componente (10,72% da variância total) foram a produção média em 8 anos, a posição das anteras em relação ao estigma (Tabela 35).

A partir desta análise conjunta vê-se que 23 dos 47 caracteres avaliados quantitativamente foram mais importantes na explicação da variância total, encontrada nos primeiros componentes principais. Os caracteres que mais explicaram a variabilidade nem sempre foram os de maior interesse agrônomo, portanto, normalmente preteridos em programas de melhoramento. Desses 23 caracteres, muitos encontram-se fortemente correlacionados os quais, não fosse o interesse agrônomo de caracterização, poderiam ser excluídos em estudos taxonômicos envolvendo muitos genótipos.

Os genótipos foram agrupados pelos dados padronizados e pelos escores da análise dos componentes principais (Figura 14). Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, pelos escores dos componentes principais, foram separados 7 grupos distintos à distância euclidiana igual a 5,65. Os quais são os seguintes em ordem crescente de similaridade: ‘Pêra Premunizada-1212’;

Tabela 35. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente, valores acumulados, e a contribuição de cada um dos 47 caracteres avaliados para a explicação da variância de cada componente em 11 clones de laranja 'Pêra' e 6 variedades assemblhadas.

Comp. princ.	Eigen valor	Variância total %	Eigen-valor acumulado	Variância total acum. %	Caracteres	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4
1	12,33	26,24	12,33	26,24	Altura de planta	-0,77*	-0,17	0,01	-0,49
2	6,18	13,15	18,51	39,38	Altura de copa	-0,72*	-0,07	0,12	-0,46
3	5,69	12,10	24,20	51,48	Largura de copa	-0,71*	-0,09	-0,09	-0,59
4	5,04	10,72	29,23	62,20	Volume de copa	-0,76*	-0,12	-0,01	-0,56
5	3,40	7,23	32,63	69,43	Circ. ac. enxertia	-0,88*	-0,24	0,04	-0,25
6	3,12	6,65	35,75	76,07	Circ. ab. enxertia	-0,90*	-0,15	0,00	-0,29
7	2,25	4,79	38,01	80,86	N. folhas est./ m ²	-0,08	0,01	0,26	0,32
8	1,74	3,69	39,74	84,56	Produção	-0,31	0,07	-0,06	-0,72*
9	1,62	3,46	41,37	88,01	Comp. lâmina folha	0,00	0,53	-0,36	-0,30
10	1,17	2,49	42,54	90,51	Larg. lâmina folha	-0,43	0,70*	-0,31	0,05
11	0,95	2,03	43,49	92,54	Comprim. folha	0,31	0,71*	-0,29	-0,15
12	0,82	1,74	44,31	94,28	N.glând.óleo ápice	-0,32	0,15	0,42	-0,47
13	0,52	1,10	44,83	95,38	N.glând.óleo meio	-0,15	0,25	0,63	-0,26
14	0,37	0,79	45,20	96,17	N.glând.óleo base	-0,32	-0,02	0,53	-0,27
15	0,28	0,59	45,48	96,76	Comprim. pecíolo	0,49	0,71*	0,13	-0,16
16	0,05	0,10	45,52	96,86	C. pecio/ c.lâmina	0,55	0,55	0,30	-0,12
17	0,05	0,10	45,57	96,96	Compr.asa pecíolo	0,36	0,69	0,10	-0,17
18	0,05	0,10	45,62	97,06	Larg.asa pecíolo	0,01	0,79*	0,07	0,03
19	0,05	0,10	45,67	97,16	Compr. pedicelo	0,11	-0,19	-0,65	0,42
20	0,05	0,10	45,71	97,26	Compr. botão	-0,71*	-0,09	0,52	-0,01
21	0,05	0,10	45,76	97,37	Largura botão	0,10	0,23	0,43	-0,38
22	0,05	0,10	45,81	97,47	Comp. pétala	-0,72*	0,11	0,35	0,11
23	0,05	0,10	45,86	97,57	Largura pétala	-0,56	0,03	-0,03	0,44
24	0,05	0,10	45,90	97,67	Núm. estames	0,32	-0,36	0,45	0,17
25	0,05	0,10	45,95	97,77	Comp. estames	-0,71*	0,12	0,19	0,30
26	0,05	0,10	46,00	97,87	Comp. gineceu	-0,60	0,43	-0,14	0,30
27	0,05	0,10	46,05	97,97	Pos.antera/estigma	0,41	-0,06	-0,09	-0,71*
28	0,05	0,10	46,10	98,07	Dist. ant. - estigma	0,08	-0,64	0,39	0,12
29	0,05	0,10	46,14	98,18	% Pólen viável	-0,42	0,23	0,28	-0,05
30	0,05	0,10	46,19	98,28	Diâm. pedúnculo	-0,43	0,35	-0,49	-0,34
31	0,05	0,10	46,24	98,38	Diâm. umbigo	-0,08	0,25	-0,80*	-0,11
32	0,05	0,10	46,29	98,48	Altura de fruto	-0,80*	-0,14	-0,39	0,26
33	0,05	0,10	46,33	98,58	Largura de fruto	-0,65	0,08	-0,48	0,31
34	0,05	0,10	46,38	98,68	Peso de fruto	-0,77*	0,15	-0,23	0,44
35	0,05	0,10	46,43	98,78	N. glând.óleo/ cm	0,08	-0,03	-0,60	-0,45
36	0,05	0,10	46,48	98,89	N. gl.óleo/9,6mm ²	-0,05	0,42	0,29	0,12
37	0,05	0,10	46,52	98,99	Espessura flavedo	0,16	-0,08	-0,52	0,03
38	0,05	0,10	46,57	99,09	Espessura albedo	0,08	-0,55	-0,53	-0,19
39	0,05	0,10	46,62	99,19	Diâm. endocarpo	-0,72*	0,34	-0,23	0,41
40	0,05	0,10	46,67	99,29	Diâm. columela	-0,32	0,23	-0,09	-0,14
41	0,05	0,10	46,71	99,39	Núm. de gomos	0,21	0,73*	0,06	0,09
42	0,05	0,10	46,76	99,49	Núm. de sementes	0,73*	-0,07	0,10	-0,03
43	0,05	0,10	46,81	99,59	Comp. semente	0,44	-0,43	-0,41	-0,47
44	0,05	0,10	46,86	99,70	Largura semente	0,36	-0,14	-0,43	-0,37
45	0,05	0,10	46,90	99,80	Acidez jun. - dez.	0,80*	-0,02	0,17	-0,17
46	0,05	0,10	46,95	99,90	Brix jun. - dez.	0,74*	0,09	-0,21	0,06
47	0,05	0,10	47,00	100,00	% Poliembrionia	0,09	-0,47	0,10	0,19
Variância explic.						12,33	6,18	5,69	5,04
Proporção total						0,26	0,13	0,12	0,11

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

var. Ovale; var. Lamb's Summer; Redonda; var. Ovale San Lio; 'Pêra R.Gullo-1570' e o sétimo grupo formado pela 'Pêra', clones: 'Vimusa', 'GS-2000', 'Olímpia', 'R.Gullo-1569', 'Pirangi', 'Premunizada-1743', 'Bianchi', 'EEL', 'Dibbern' e variedades Ovale de Siracusa e Corsa Tardia. A análise multivariada permitiu boa discriminação dos genótipos estudados, excetuando-se a 'Pêra Premunizada-1212' e 'Pêra R.Gullo-1570' que se apresentaram distintos dos demais clones de laranja 'Pêra', os demais foram mantidos conjuntamente à distância 5,65. Já as variedades Ovale, Lamb's Summer e Redonda e a Ovale San Lio, foram agrupadas separadamente, o que reforça o menor parentesco com a laranja 'Pêra', apesar de muitas semelhanças morfológicas. Análise conjunta dos caracteres estudados não permitiram, no entanto, separar as variedades Ovale de Siracusa e Corsa Tardia dos clones de laranja 'Pêra', embora isto tenha ocorrido pelo estudo dos caracteres referentes às árvores, flores e frutos, individualmente.

Zubrzycki (1997), relata que a utilização adequada de descritores morfológicos permite, muitas vezes, a separação não somente de cultivares, como também de híbridos e mesmo mutantes somáticos em citros. Além da importância agrônômica e taxonômica, a presente pesquisa objetivou conhecer melhor os caracteres mais determinantes da variabilidade fenotípica em diferentes clones da cultivar Pêra e em outras variedades de laranja doce, suas correlações e importância para programas seletivos e de melhoramento genético.

Figura 14. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Foram considerados 47 caracteres avaliados quantitativamente, envolvendo planta, folha, flor e fruto, em onze clones de laranja 'Pêra' e seis variedades semelhantes.

Tabela 36. Correlação produto-momento de Pearson para 47 caracteres de planta, folha, flor e fruto de onze clones de laranja 'Pêra' e seis variedades com características morfológicas semelhantes à mesma.¹

Variaáveis	Altura planta	Largura copa	Volume copa	Circ. acima	Circ. abaixo	Circ. Nfolha	Produg 8 anos	Compr. lâmina	Largura lâmina	Compr. folha	Compr. gl.óleo ápice	Compr. gl.óleo meio	Compr. gl.óleo base	Compr. Peciolo	Compr. asa	Largura asa	Compr. botão	Compr. Lâmina	Largura Lâmina	Compr. Pétala	Número estame
Altura planta	1.00	.92*	.88*	.93*	.92*	.95*	.56*	.12	.23	.21	.45	.19	.39	.40	.44	.36	.19	.24	.59*	.50*	.26
Altura copa	.92*	1.00	.77*	.85*	.86*	.84	.50*	.03	.25	.19	.44	.14	.35	.22	.24	.26	.11	.29	.57*	.46	.44
Largura copa	.83*	.77*	1.00	.99*	.80*	.86*	.12	.77*	.14	.20	.43	.11	.31	.37	.37	.46	.18	.08	.25	.46	.09
Volume copa	.88*	.85*	.99*	1.00	.85*	.90*	.19	.73*	.08	.21	.30	.46	.17	.37	.38	.45	.22	.11	.28	.55*	.08
Circ.tronco ac.	.93*	.85*	.80*	.85*	.90*	.90*	.01	.95*	.02	.23	.36	.31	.11	.34	.58*	.61*	.45	.20	.22	.72*	.03
Circ.tronco ab.	.92*	.86*	.80*	.93*	.93*	.93*	.00	.42	.03	.32	.32	.31	.34	.09	.33	.51*	.56*	.37	.14	.21	.70*
Folhas/ m ²	-.05	.04	-.19	-.12	-.01	1.00	1.00	-.28	.31	.02	.03	.15	.22	.29	.20	.34	.16	.30	.08	.07	.35
Produção (8 anos)	.56*	.50	.77*	.73*	.35	.42	-.28	1.00	.01	.58*	.67*	.02	.07	.19	.04	.11	.01	.03	.22	.09	.15
Compr.lâmina folha	.12	.03	.14	.08	-.02	.03	.31	.25	1.00	.58*	.60*	.02	.03	.15	.08	.12	.38	.61*	.15	.13	.01
Larg.lâmina folha	.23	.25	.20	.21	.23	.32	.02	.01	.58*	1.00	.60*	.08	.03	.15	.08	.12	.38	.61*	.15	.13	.01
Compr.folha	-.21	-.19	-.26	-.30	-.36	-.31	.03	-.09	.67*	.60*	1.00	.06	.03	.15	.08	.12	.38	.61*	.15	.13	.01
GL.óleo.ápice	.45	.44	.43	.46	.31	.34	.15	.40	.02	.08	.06	1.00	.85*	1.00	.87*	.25	.32	.22	.16	.66*	
GL.óleo.meio	.19	.14	.11	.17	.11	.09	.22	.18	.07	.02	.03	.85*	1.00	.87*	1.00	.04	.12	.04	.14	.49	
GL.óleo.base	.39	.35	.31	.37	.34	.33	.29	.19	.06	.03	.15	.85*	.87*	1.00	.04	.12	.04	.14	.49	.53*	
Compr.pedículo	-.40	-.22	-.37	-.38	-.58*	-.51*	.20	-.04	.38	.31	.12	.65*	.13	.25	.04	1.00	.95*	.76*	.11	.34	
C.pedículo/C.lâmina	-.44	-.24	-.45	-.45	-.61*	-.56*	.34	-.11	.21	.12	.65*	.13	.25	.04	1.00	.95*	.76*	.11	.34	.15	
Compr.asa pec.	-.36	-.26	-.18	-.22	-.45	-.37	.16	.01	.50	.38	.60*	.09	.22	.04	.76*	1.00	.60*	.32	.14	.21	
Larg.asa pec.	-.19	-.11	-.08	-.11	-.20	-.14	.30	.03	.49	.61*	.46	.01	.16	.14	.47	.32	.72*	1.00	.12	.02	
Compr.pedículo	.24	.29	.25	.28	.22	.21	.08	.22	.11	.15	.10	.64*	.49	.31	.30	.21	.02	.34	1.00	.30	
Compr.botão	.53*	.57*	.46	.55*	.72*	.70*	.07	.09	.15	.13	.13	.10	.63*	.73*	.47	.17	.20	.39	.29	.41	
Larg.botão	-.03	-.06	.09	.08	-.03	.03	.35	.15	.13	.06	.05	.31	.42	.20	.15	.14	.30	.26	.71*	.30	
Compr.pétala	.50*	.44	.41	.48	.61*	.60*	.06	.17	.01	.33	.27	.17	.29	.31	.26	.31	.08	.21	.20	.88*	
Larg.pétala	.26	.23	.05	.13	.33	.33	.21	.09	.07	.34	.14	-.01	.02	.10	.20	.20	.40	.09	.31	.53*	
Número estame	-.23	-.28	-.48	-.42	-.21	.33	.12	.44	-.49	-.49	.32	.09	.33	.17	.14	.01	.13	.12	.23	.07	
Compr.estame	.40	.45	.31	.39	.49	.53*	.18	.12	.16	.40	.26	.13	.09	.15	.22	.22	.31	.10	.06	.72*	
Compr.gineceu	.23	.14	.27	.28	.30	.34	.07	.24	.23	.54*	.03	.06	.06	.10	.23	.02	.40	.15	.35	.10	
Pos. antera/estigma	.02	.04	.18	.14	.18	.15	.38	.48	.14	.25	.25	.06	.14	.20	.31	.32	.17	.06	.04	.27	
Dist. antera-estigm	-.05	-.10	-.10	-.05	-.03	-.09	.20	-.09	-.44	.63*	.61*	.21	.30	.52*	.29	.23	.12	.09	.11	.40	
Pólen viável (%)	.33	.36	.27	.33	.35	.36	.33	.24	.23	.15	.08	.11	.19	.02	.10	.06	.05	.26	.09	.08	
Diâm.pedículo	.51*	.37	.44	.40	.41	.43	.30	.32	.48	.57*	.48	.41	.01	.19	.15	.10	.09	.13	.09	.31	
Diâm.umbigo	.04	.14	.08	.01	.06	.01	.07	.44	.48	.41	.01	.19	.15	.10	.06	.03	.29	.09	.13	.44	
Altura fruto	.49	.37	.48	.48	.67*	.68*	.00	.01	.48	.38	.31	.07	.13	.10	.63*	.73*	.47	.17	.20	.39	
Largura fruto	.24	.08	.36	.34	.42	.45	.08	.03	.16	.46	.14	.01	.09	.03	.47	.61*	.27	.04	.27	.23	
Peso fruto	.31	.24	.33	.34	.52*	.55*	.05	.08	.05	.52*	.05	.16	.06	.11	.43	.52*	.27	.07	.15	.44	
GL.óleo/10mm	.08	-.05	.28	.22	.02	.01	-.54*	.39	.24	.11	.15	.16	.28	.34	.03	.19	.09	.11	.30	.22	
GL.óleo/9,5mm ²	-.17	-.12	.06	.03	.17	-.13	.23	.36	.04	.05	.06	.03	.14	.14	.10	.24	.47	.14	.07	.26	
Epissura flavelado	.03	-.20	.17	.11	-.02	-.04	-.22	.24	-.09	.35	.29	.05	.22	.04	.16	.05	.09	.04	.10	.41	
Epissura albedo	.27	.22	.29	.29	.43	.47	.09	.03	.14	.61*	.61*	.16	.07	.13	.25	.08	.47	.35	.54*	.42	
Diâmetro endocarpo	.13	.09	.35	.31	.13	.19	.05	.37	.04	.08	.13	.51*	.33	.25	.08	.46	.36	.50*	.34	.17	
Número gomos	-.35	-.31	-.31	-.35	-.45	-.41	.03	.05	.21	.21	.44	.18	.31	.08	.22	.32	.14	.45	.36	.56*	
Número semente	-.67*	-.74*	-.53*	-.59*	-.73*	-.76*	.20	.16	-.01	.49	.07	.06	.24	.04	.22	.32	.14	.45	.36	.56*	
Compr.semente	-.07	.17	.01	.06	-.20	-.20	.27	.10	.19	.29	.13	.34	.01	.06	.21	.10	.04	.01	.16	.41	
Larg.semente	.02	.07	.05	.08	-.18	-.19	.02	.26	.20	.13	.34	.01	.06	.21	.10	.04	.01	.16	.41	.20	
Acidez jun-dez.	.61*	.57*	.47	.51*	.74*	.73*	.30	.08	-.03	.44	.12	.14	.03	.18	.42	.43	.46	.05	.40	.44	
Brix jun-dez.	-.71*	-.74*	-.57*	-.64*	-.78*	-.79*	.28	-.15	.15	.34	.24	.37	.20	.18	.34	.31	.27	.02	.13	.61*	
Pollenbrionia (%)	-.08	-.25	-.13	-.14	.04	-.04	-.18	.18	.06	-.38	-.40	-.36	-.13	-.06	-.51*	-.43	-.29	.19	.05	.16	

¹ Os caracteres avaliados foram: altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas estimados/ m² e produção média de 1984 a 1991, comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha, número de glândulas de óleo no ápice, no meio e na base da folha em 9,6 mm², comprimento do pedicelo e relação do comprimento do pedicelo/ largura da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da antera até o estigma e do percentual de pólen viável, diâmetro do pedicelo e do "umbigo" ou da cicatriz estilar, da altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm² de epicarpo, espessura do flavelado ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes por fruto, comprimento e largura de semente.

4.9 Caracterização morfológica de 44 variedades de laranja doce⁶⁸

4.9.1 Caracterização morfológica das árvores

A Tabela 37 traz os valores médios obtidos para os caracteres medidos quantitativamente: altura de planta; altura, largura e volume de copa; circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia; número de folhas e, de frutos adultos e jovens estimados na projeção de 1 m², até o centro da copa, para 44 variedades de laranja doce, avaliadas de junho a julho de 1995. As copas dos genótipos estudados possuem formato variado, porém predominando o arredondado ou esferóide. Exceção principal foi notada na variedade Diva que apresentou formato elipsóide e hábito de crescimento mais ereto. As variedades Rubi Blood, Sangüínea de Piracicaba, Diva e Hamlin foram as que apresentaram maior altura de planta (igual ou acima a 4,00 m), sendo que as que apresentaram menor altura de planta foram ‘Pêra Coroada’, ‘Pêra C.V.’, ‘Lanceta Barão’ e ‘Cipó’, com valores variando em sequência de 2,90 m a 1,60 m. Esta última apresenta ramos recurvados e tende a permanecer na altura da enxertia, podendo ser conduzida como planta “trepadeira”. As demais variedades apresentaram dimensões intermediárias.

A variedade Baiana Retiro apresentou o maior volume de copa (48,70 m³), já as variedades Cametá, Pêra Coroada e Lanceta Barão foram as que apresentaram menor volume de copa (valores inferiores a 10,00 m³). Os demais acessos apresentaram respostas intermediárias, entre 10 e 36 m³. Quando se observou a circunferência de tronco, acima e abaixo do ponto de enxertia, a variedade Perão foi a que apresentou os maiores valores (em torno de 0,60 m) e a variedade Lanceta Barão a que apresentou os menores diâmetros (em torno de 0,30 m). Normalmente valores de circunferência do tronco acima e abaixo do ponto de enxertia semelhantes, indicam boa compatibilidade de copa e porta-enxerto. Embora as variedades

⁶⁸ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A. Caracterização morfológica de 44 variedades de laranja doce. (encaminhado para publicação a partir de Jan. 1998).

estudadas tenham apresentado respostas diferentes para estes caracteres não se observou região de estrangulamento, de rejeição entre os tecidos ou qualquer outro indício de incompatibilidade entre as variedades copa e o porta-enxerto.

As variedades Washington Navel e Baianinha Piracicaba foram as que apresentaram maior enfolhamento (acima de 2200 folhas contadas na projeção de 1m^2 até o centro da copa) e a variedade Pêra sem Sementes foi a que apresentou menor enfolhamento, com menos de 1200 folhas/ m^2 . As demais variedades apresentaram valores intermediários. A produção de frutos total estimada/ m^2 , somatória dos frutos de uma ou mais floradas presentes nas plantas, em julho de 1995, foi observada superior nas variedades Westin, Natal, Non Pareil, Hamlin e Valência Variegada, com valores variando de 86,30 a 58,46 frutos/ m^2 e as variedades Perão, Lanceta Barão, Cametá e Pêra sem Sementes, com valores médios variando de 3,92 a 2,19 frutos/ m^2 . As demais variedades apresentaram produções intermediárias. Embora estes dados permitam comparar a capacidade produtiva das variedades estudadas, seria necessário ensaio detalhado com um número maior de repetições para obter dados mais exatos de produtividade.

A análise dos componentes principais revelou que os três primeiros componentes, com eigen-valores acima da unidade, representaram 84,65% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (43,31% da variância total) foram altura de planta e altura, largura e volume de copa. O que mais contribuiu no segundo componente (27,05% da variância total) foi a circunferência do tronco 10 cm acima e abaixo do ponto de enxertia e o que mais contribuiu no terceiro componente (14,28% da variância total) foi o número médio de frutos estimados na projeção de 1m^2 , na porção mediana da copa (Tabela 38).

Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para os dados quantitativos padronizados foram obtidos 4 grupos à distância Euclidiana igual a 4, representados por uma ou mais variedades, em ordem crescente de similaridade: 'Baiana Retiro'; 'Cipó', 'Cametá' e 'Lanceta Barão'; 'Westin' e o

Tabela 37. Valores médios obtidos para os caracteres medidos quantitativamente: altura de planta; altura, largura e volume de copa; circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia; acidez e °Brix do suco (avaliados de 30/05 a 25/08) e número de folhas est./ m²; número de frutos adultos, jovens e total estimados/ m² para 44 variedades de laranjas doces, avaliadas de jun. a jul. de 1995 (CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP).¹

Variedades	Altura de planta m	Dados referentes à copa			Circunferência do tronco a 0,10m		Acidez 30/5-25/8	°Brix 30/5-25/8	Número folhas/m ²	Número de frutos estim./ m ²	
		altura m	largura m	volume m ³	acima m	abaixo m				adultos	jovens total
Lima	3,43	3,28	3,12	16,72	0,38	0,53	0,08	11,10	2029,30	37,40	4,76
Lima Tardia	3,50	3,33	3,08	16,54	0,44	0,57	0,08	12,01	1787,54	36,21	4,16
Lima Verde	2,97	2,97	3,38	17,71	0,40	0,46	0,08	11,34	1912,09	16,64	16,60
Lima Lisa	3,27	3,09	2,83	12,96	0,41	0,48	0,09	11,97	1758,24	26,11	3,84
Bananinha Piracicaba	3,57	3,57	4,04	30,51	0,45	0,56	1,00	11,71	2293,05	29,32	8,14
Washington Navel	3,80	3,80	3,85	29,49	0,47	0,65	1,07	12,77	2344,33	4,91	2,69
Baiana Rctiro	3,93	3,93	4,87	48,70	0,50	0,61	1,11	12,60	2007,32	9,05	3,66
Baianinha 23-4-60	3,63	3,63	4,03	30,79	0,43	0,51	1,14	12,49	1860,79	16,99	10,35
Lanceta Barão	2,40	1,96	2,07	4,40	0,27	0,33	0,79	13,31	1750,92	1,58	3,16
Do Céu - I	3,03	3,03	3,15	15,74	0,40	0,51	0,56	10,03	1912,09	35,56	3,28
Diva	4,00	3,52	3,45	21,87	0,49	0,55	1,45	10,90	1824,18	13,87	17,86
Cametá	3,10	2,41	2,77	9,68	0,39	0,46	0,67	9,81	1846,15	0,27	1,93
Seleta Branca	3,37	3,37	3,75	24,81	0,45	0,52	1,04	11,07	1238,09	24,04	4,66
Seleta Vermelha	3,53	3,53	2,93	15,81	0,41	0,48	1,15	11,11	1545,78	40,21	2,85
Imperial	3,60	3,60	3,37	21,34	0,47	0,56	1,43	10,81	1890,11	41,77	0,00
Hamlin Reserva	3,80	3,80	3,78	28,43	0,52	0,57	1,09	10,44	1304,02	17,97	5,09
Hamlin Variiegada	3,43	3,43	3,63	27,52	0,49	0,56	1,12	11,39	1699,63	52,99	5,60
Rubi Blood	4,00	4,00	3,84	26,41	0,52	0,58	1,15	10,99	1538,46	46,19	9,34
Blood Oval	3,10	3,10	4,15	35,98	0,56	0,63	1,48	11,70	1846,15	55,61	0,87
Sanguinea Mombuca	3,53	3,53	2,80	12,73	0,39	0,42	1,81	11,14	1912,09	38,64	14,31
Cipó	1,60	1,60	3,35	20,68	0,48	0,57	0,67	10,66	1641,03	14,99	32,78
Sanguinea Piracicaba	4,03	4,03	3,63	13,07	0,38	0,46	1,29	10,69	1890,11	23,44	3,38
Non Pareil	3,23	3,14	3,54	26,44	0,51	0,59	1,37	11,69	1882,77	0,50	33,11
Westin	3,93	3,93	3,62	21,54	0,47	0,54	1,19	10,80	1531,14	61,79	0,00
Capira DAC	3,20	2,94	4,00	32,92	0,51	0,58	1,18	12,09	2065,93	61,18	23,27
Capira Comum	3,93	3,93	2,67	10,93	0,35	0,43	0,72	10,80	1289,36	4,63	1,57
Pele de Moça	3,83	3,83	4,19	36,04	0,52	0,61	1,31	10,81	1721,60	36,34	1,66
Lamb's Summer	3,84	3,84	3,96	31,45	0,55	0,60	1,38	11,77	1516,48	0,89	40,66
Pêra de Abril	3,60	3,60	3,54	23,62	0,45	0,55	2,07	11,56	1794,88	4,47	21,61
Pêra Sem Sementes	3,77	3,30	3,58	22,08	0,54	0,58	0,58	9,86	1289,36	17,31	5,60
Perão	3,83	3,30	3,18	17,42	0,60	0,64	1,94	10,70	1186,81	2,19	0,00
Pêra Coroada	2,90	2,53	2,04	5,51	0,36	0,36	1,87	11,83	1626,37	0,27	27,57
Pêra Comprida	3,30	2,77	2,82	11,53	0,43	0,46	1,82	11,39	1548,00	6,61	24,76
Pêra Mel	3,27	3,10	3,14	16,00	0,45	0,51	1,69	11,29	1509,14	3,06	27,75
Pêra Rio	3,27	3,27	3,58	21,88	0,47	0,54	1,69	11,41	1663,01	11,42	22,66
Pêra CV	2,83	2,83	3,11	14,33	0,50	0,48	1,79	11,90	1824,18	6,18	32,20
Pêra Ovo	3,17	3,17	3,15	16,42	0,47	0,50	2,07	11,91	1992,68	7,58	37,48
Pêra Caire	3,03	2,93	3,07	14,41	0,43	0,49	1,66	11,34	1238,09	8,66	20,21
Pêra Ipiquá	3,17	2,83	2,63	10,25	0,42	0,42	2,33	12,17	1985,34	12,74	25,23
Valência Late	3,27	3,27	2,86	14,00	0,44	0,52	1,80	11,06	1560,44	21,05	10,62
Valência Variiegada	3,30	3,30	3,38	19,68	0,45	0,50	2,04	11,37	2000,00	47,69	10,65
Natal	3,47	3,47	3,23	18,90	0,46	0,51	2,37	11,41	1663,01	33,41	32,22
Natal Bebedouro	3,10	3,10	3,24	16,99	0,42	0,51	2,09	11,40	2065,93	25,68	24,86
dms (Tukey, 5%)	0,89	0,85	1,30	15,09	0,13	0,16	0,79	2,73	932,12	3,28	2,37
C.V. (%)	7,90	7,72	11,56	20,76	8,73	9,55	12,70	3,90	27,01	23,30	22,05
											16,75

¹ Domingues et al. (1998d).

Médias padronizadas para caracteres de plantas (UPGMA)

Escores dos componentes principais dos caracteres de planta (UPGMA)

Figura 15. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas e de frutos estimados/ m², em 44 variedades de laranja doce.

último grupo formado pelas demais variedades. Foram obtidos, pelos escores da análise dos componentes principais, 6 grupos distintos à distância Euclidiana igual a 4, os quais são, em ordem crescente de similaridade: ‘Cipó’; ‘Baiana Retiro’; ‘Pêra Coroada’ e ‘Lanceta Barão’; ‘Washington Navel’; ‘Perão’, ‘Pêra sem Sementes’, ‘Cametá’ e ‘Diva’ e o sexto e último grupo formado pelas demais variedades (Figura 15).

Tabela 38. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição de altura de planta (árvore), altura de copa, largura de copa, volume de copa, circunferência de tronco da planta, tomada 0,10 m acima e abaixo da enxertia, número de folhas e de frutos estimados/ m² para a explicação da variância de cada componente em 44 acessos de laranja doce.

Comp. princ.	Eigen valor	Variância total %	Eigen-valor acumulado	Variância acumulada %	Caracteres	Comp.1	Comp.2	Comp.3
1	3,46	43,31	3,46	43,31	Altura de planta	-0,87*	-0,12	0,22
2	2,16	27,05	5,63	70,37	Altura de copa	-0,95*	-0,06	0,04
3	1,14	14,28	6,77	84,65	Largura de copa	-0,88*	0,11	0,06
4	0,68	8,48	7,45	93,12	Volume de copa	-0,95*	0,09	0,09
5	0,49	6,07	7,94	99,19	Circ. ac. enxert.	-0,03	-0,97*	-0,14
6	0,04	0,47	7,97	99,66	Circ. ab. enxert.	-0,05	-0,97*	-0,14
7	0,02	0,30	8,00	99,96	N. folhas est/ m ²	-0,16	0,48	-0,63
8	0,00	0,04	8,00	100,00	N. frutos est/ m ²	-0,31	-0,05	-0,80*
Variância explic.						3,46	2,16	1,14
Proporção total						0,43	0,27	0,14

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

4.9.2 Caracterização morfológica das folhas

De um modo geral, as variedades apresentaram folhas de ciclo persistente, tipo simples, cor verde escura (com exceção da variedade Lanceta Barão que apresentou folhas verde médio, das variedades Hamlin Variegada e Valência Variegada, com folhas de cor verde escura e manchas verde médio e da variedade Imperial, com folhas variegadas em tons de verde médio e branco). O formato de folha predominante foi o elíptico, porém também se observaram variedades em que

predominaram as folhas de formato oval e as variedades Lanceta Barão e Cametá, de folhas lanceoladas. As folhas apresentaram predominantemente margem crenada, as vezes serrilhada, de ápice de agudo a acuminado e base de atenuada a cuneada, brevipetioladas com asas de muito estreitas a muito largas, mas com predomínio das medianas (Tabela 39).

Quanto ao comprimento de folha e de lâmina foliar as variedades Lima Tardia e Washington Navel apresentaram os maiores valores médios, acima de 110 mm, para o primeiro caracter e 100,60 mm e 96,60 mm, para o segundo, respectivamente. As variedades Blood Oval e Pele de Moça apresentaram os menores valores (77,40 mm e 74,13 mm, para o primeiro caracter e 67,93 e 64,40 mm, para o segundo). As folhas de largura maior foram observadas nas variedades Cipó e Lima Tardia, com 55,60 e 53,73 mm, respectivamente, e as de largura menor nas variedades Lanceta Barão e Cametá (24,53 e 23,33 mm, respectivamente). As demais variedades apresentaram folhas de dimensões intermediárias. As variedades Pêra Ovo, Pêra Ipiguá, Pêra C.V., Natal e Valência Late foram as que apresentaram maiores médias para o número de glândulas de óleo contados no ápice, no meio e na base da lâmina foliar, sendo que as maiores médias foram observadas no meio da lâmina foliar, depois no ápice e em seguida na base. Os menores valores para estes caracteres avaliados foram observados na variedade Cipó. O maior comprimento médio de pecíolo, de asa do pecíolo e largura da asa do pecíolo foram observados na ‘Hamlin Reserva’ (18,07; 12,07 e 5,40 mm, respectivamente); o menor comprimento do pecíolo foi observado na ‘Sangüínea de Piracicaba’ (8,53 mm), o menor comprimento da asa do pecíolo na ‘Blood Oval’ (5,33 mm) e a menor largura da asa do pecíolo foi apresentado na ‘Seleta Branca’ (1,86 mm). A relação comprimento do pecíolo sobre o comprimento da lâmina foliar foi maior, nas variedades Pêra Ovo e Lima (0,21) e menor na ‘Seleta Vermelha’ (0,11). Já as demais variedades apresentaram dimensões intermediárias para estes caracteres (Tabela 39).

Os três primeiros componentes principais, com eigen-valores acima da unidade, representaram 88,40% da variância total. Os caracteres que mais

Tabela 39. Valores qualitativos obtidos para ciclo vegetativo, tipo, cor, formato, margem, formato do ápice e da base da folha; tipo de pecíolo; tipo e formato da asa do pecíolo (explicados no texto), e valores médios obtidos para o comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha; número de glândulas de óleo no ápice, meio e base da lâmina foliar/ 9,6 mm²; comprimento do pecíolo e relação pecíolo/ lâmina foliar e comprimento e largura da asa do pecíolo para 44 variedades de laranjas doces no mês de abril de 1995(CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP.)¹.

Variedades	Dados referentes a folha				Tipos Asa pecíolo				Lâmina foliar		Compr. da folha	glândulas de óleo/9,6 mm ²			Pecíolo foliar		Asa do pecíolo				
	ciclo	tipo	cor	formt	marg.	ápice	base	pecíolo	tipo	formt		compr.	mm	mm	mm	base	compr.	mm	compr.	largura	
Lima	1	1	1	3	2	5	1	1/2	2	2/3	3	83,13	47,33	100,33	17,27	10,93	17,27	17,13	0,21	10,40	2,80
Lima Tardia	1	1	1	3	2	5	2	2	2	2	2/4	100,60	53,73	116,53	13,13	14,67	13,13	16,13	0,16	8,73	2,93
Lima Verde	1	1	1	3	2	5	1	1/2	2	3/2	2	72,33	37,67	85,40	15,87	20,27	15,87	13,07	0,18	7,67	3,47
Lima Lisa	1	1	1	3	2	5	1	1/2	2	2	2/4	83,40	38,13	84,40	15,13	15,20	15,13	11,33	0,14	5,67	1,87
Bainan. Piracicaba	1	1	1	3	2	5	1	1/2	2	2	2	73,47	44,67	94,87	16,33	17,67	16,33	12,40	0,13	6,80	2,53
Washington Navel	1	1	1	3	2	1/5	1	2	2	2/0	2	96,60	51,00	110,47	16,53	17,07	16,53	13,87	0,14	8,67	3,60
Baiana Retiro	1	1	1	3	2	5	1	1/2	2	4/2	2	80,13	41,13	95,40	10,07	17,73	14,06	15,27	0,18	8,53	3,73
Baianinha 23-4-60	1	1	1	3	2	5	1	1/2	2	2/3	2	69,87	38,87	79,40	14,00	15,73	14,00	11,87	0,16	6,33	2,87
Lanceta Barão	1	1	1	3	2	2	2	2	2	9	2	82,27	24,53	99,67	9,27	12,27	9,27	14,06	0,17	9,40	3,00
Do Céu - 1	1	1	1	3	2	2	2	2	2	0/2	2	71,87	41,47	82,40	15,93	20,93	15,93	10,60	0,15	6,93	2,73
Diva	1	1	1	3	2	2	2	1/2	2	0/2	2	74,20	43,87	82,27	19,60	24,20	18,73	10,73	0,14	6,93	2,93
Cametá	1	1	1	3	2	3	2	1	2	0/2	4	90,20	23,33	103,07	7,73	10,27	7,73	12,80	0,14	8,07	2,40
Seleta Branca	1	1	1	3	2	3	2	2	2	2	4	80,20	45,13	93,75	8,80	12,53	8,80	11,20	0,14	6,40	1,86
Seleta Vermelha	1	1	1	3	2	3	1/2	1	2	0/2	4	82,33	45,00	92,40	8,53	11,67	8,53	9,27	0,11	6,20	2,33
Imperial	1	1	1	4	2	3	2	2	2	0/2	4	78,20	43,60	90,80	7,40	11,47	7,40	11,20	0,14	7,20	2,87
Hamlin Reserva	1	1	1	3	2	3	1/2	2	2	5	3	96,60	51,00	108,20	8,93	12,07	8,93	18,07	0,19	12,07	5,40
Hamlin	1	1	1	3	2	3	2	2	2	2/3	2	75,00	39,07	88,40	17,27	20,87	17,27	13,27	0,18	8,87	2,87
Hamlin Variegada	1	1	1	4	3	3/5	2	1/2	2	2/3	2	79,87	39,73	91,40	17,27	12,87	9,73	10,73	0,13	6,73	2,20
Rubi Blood	1	1	1	3	2	3	1/2	2	2	0/2	2	76,80	40,80	88,87	20,07	24,13	20,00	12,07	0,16	7,53	2,87
Blood Oval	1	1	1	3	2	2	2	2	2	0/2	2	67,93	36,87	77,40	19,73	24,60	13,87	9,46	0,14	5,33	2,13
Sang. Mombuca	1	1	1	3	2	2	2	1	2	3	2	92,53	48,93	108,60	13,87	17,47	13,87	15,47	0,17	10,40	3,53
Cipo	1	1	1	3	2	2	2	2	2	0/3	3	94,13	55,60	109,00	7,00	9,47	7,00	14,40	0,16	9,13	3,60
Sang. Piracicaba	1	1	1	3	2	2	1/2	1	2	0/2	3	70,27	37,40	78,27	19,27	22,67	19,60	8,53	0,12	5,67	3,13
Non Pareil	1	1	1	3	2	3	2	2	2	0/2	3	71,73	40,07	81,60	10,93	14,00	10,93	8,60	0,12	5,87	2,73
Westin	1	1	1	3	2	3	2	1	2	3	4	71,53	38,53	82,13	18,33	21,00	11,67	10,47	0,15	6,13	2,40
Caipira DAC	1	1	1	3	2/3	2	1/2	1/2	2	2/3	2	71,53	37,47	83,87	18,26	19,40	16,20	13,00	0,18	8,20	3,27
Caipira Comum	1	1	1	3	2	3	2	1/2	2	2/3	2	82,26	43,47	94,60	19,13	24,87	18,00	12,40	0,14	7,60	2,47
Pele de Moça	1	1	1	3	2	3	2	1	2	2/3	2/4	64,40	37,47	74,13	18,06	21,87	17,27	9,40	0,14	5,40	2,27
Lamb's Summer	1	1	1	3	2	3	2	1	2	2/3	2	78,20	41,33	91,67	22,20	29,87	21,67	13,80	0,18	8,67	3,93
Pêra de Abril	1	1	1	3	2	3	1	1	2	2/5	1/2	77,33	46,60	91,67	19,93	18,07	14,93	14,13	0,18	8,20	4,27
Pêra Sem Sementes	1	1	1	3	2	3	1/2	1	2	0/2	2/4	81,13	44,67	93,07	16,80	20,33	18,47	11,13	0,13	5,93	2,47
Perão	1	1	1	3	2	3	1/2	1	2	0/3	2	81,93	46,13	94,07	16,13	21,60	16,13	12,07	0,14	6,67	3,20
Pêra Coroada	1	1	1	3	2	3	1/2	1	2	2/3	2	70,00	34,53	83,93	17,67	21,00	16,80	13,27	0,20	8,20	2,67
Pêra Comprida	1	1	1	3	2	3	2	1	2	2/3	2	73,47	32,93	87,20	21,33	24,40	20,47	13,33	0,18	8,20	2,93
Pêra Mel	1	1	1	3	2	3	1	2	2	3/5	4/2	83,47	44,07	101,47	19,80	22,33	18,47	16,80	0,20	10,73	4,00
Pêra Rio	1	1	1	3	2	3	1/2	1	2	0/2	2	73,60	38,87	85,33	19,73	21,87	18,00	11,00	0,15	7,00	3,33
Pêra CV	1	1	1	3	2/3	3	1/2	1/2	2	3	2	69,27	36,40	86,33	26,73	29,40	23,13	13,80	0,19	7,33	2,80
Pêra Ovo	1	1	1	3	2	3	1/2	1/2	2	2	2	72,33	39,73	87,73	27,27	31,33	22,93	15,47	0,21	10,60	4,13
Pêra Caire	1	1	1	3	2/3	3	1/2	1/2	2	3	2	76,87	40,80	90,53	23,87	29,00	22,00	13,73	0,18	8,60	3,27
Pêra Ipiquá	1	1	1	3	2/3	3	1/2	1/2	2	2	25	71,33	36,07	85,13	27,20	29,73	24,20	13,80	0,19	8,87	2,80
Valência Late	1	1	1	3	2/3	3	1/2	2	2	2	2	72,67	38,13	84,67	25,00	33,47	26,80	11,33	0,16	7,40	2,73
Valência Variegada	1	1	1	4	2/3	3	1/2	2	2	0/2	2	70,20	40,87	80,53	21,07	26,00	20,60	10,53	0,15	6,93	2,80
Natal	1	1	1	3	2	3	1/2	1/2	2	0/2	2	71,87	42,93	83,60	25,87	29,20	25,13	12,60	0,18	8,13	3,00
Natal Bebedouro	1	1	1	3	3	3	2	2	2	0/2	2	72,73	41,53	85,40	20,47	28,20	21,20	12,80	0,18	7,87	3,53
dms (Tukey, 5%)							19,01	11,78	22,90	4,41	5,08	4,80	6,07	0,07	4,19	2,04					
C.V. (%)							18,94	22,21	19,60	20,24	19,56	22,50	37,28	34,61	41,86	52,67					

¹ Domingues et al., 1998d.

contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (43,6% da variância total) foram o comprimento da folha e da lâmina foliar, comprimento de pecíolo e da asa do pecíolo. Os que mais contribuíram no segundo componente (34,60% da variância total) foi o número de glândulas de óleo no ápice, meio e base da lâmina foliar, relação comprimento do pecíolo / comprimento da lâmina foliar. O que mais contribuiu no terceiro componente (10,16% da variância total) foi a largura da lâmina foliar (Tabela 40).

Tabela 40. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha, número de glândulas de óleo no ápice, na porção mediana e na base da folha em área de 9,6 mm², comprimento do pecíolo e relação do comprimento do pecíolo/ largura da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pecíolo, para a explicação da variância de cada componente, para 44 variedades de laranja doce.

Comp. princ.	Eigen valor	Variância total %	Eigen-valor acumulado	Variância acumulada %	Caracteres	Comp.1	Comp.2	Comp.3
1	4,36	43,64	4,36	43,64	Comp. lâm. folha	0,90*	-0,19	-0,23
2	3,46	34,60	7,82	78,24	Larg. lâm. folha	0,54	-0,02	-0,75*
3	1,02	10,16	8,84	88,40	Compr. folha	0,93*	-0,06	-0,14
4	0,56	5,61	9,40	94,01	N.gl. óleo ápice	-0,53	0,77*	-0,22
5	0,35	3,49	9,75	97,50	N.gl. óleo meio	-0,56	0,74*	-0,24
6	0,08	0,82	9,83	98,31	N.gl. óleo base	-0,47	0,79*	-0,27
7	0,08	0,76	9,91	99,07	Compr. pecíolo	0,78*	0,56	0,16
8	0,07	0,69	9,98	99,76	C. pec./ c. lâm.	0,30	0,83*	0,37
9	0,02	0,17	9,99	99,93	C. asa pecíolo	0,75*	0,59	0,20
10	0,01	0,07	10,00	100,00	Larg. asa pecíolo	0,57	0,55	-0,03
Variância explic.						4,36	3,46	1,02
Proporção total						0,44	0,35	0,10

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para os dados quantitativos padronizados foram obtidos 3 grupos à distância Euclidiana igual a 5, representados por uma ou mais variedades, em ordem crescente de similaridade: 'Hamlin Reserva', 'Cipó', 'Sangüínea Mombuca', 'Washington Navel' e 'Lima Tardia'; 'Cametá' e 'Lanceta Barão'; e o terceiro grupo formado pelas

Figura 16. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da folha, número de glândulas de óleo no ápice, na porção mediana e na base da folha em área de 9,6 mm², comprimento do pecíolo e relação do comprimento do pecíolo/ largura da lâmina foliar, comprimento e largura da asa do pecíolo, avaliados em 44 variedades de laranja doce.

demaís variedades. Para os escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, foram obtidos 4 grupos distintos a distância igual a 5. Os quais foram os seguintes em ordem crescente de similaridade: ‘Hamlin Reserva’; ‘Lima’; ‘Cametá’ e ‘Lanceta Barão’ e o quarto grupo formado pelas demais variedades (Figura 16).

4.9.3 Caracterização morfológica das flores

O florescimento ocorreu em inflorescência, tipo racemo, com flores de 5 sépalas e pétalas, axilares e terminais, com botões e flores predominantemente brancos e posição das anteras ocorrendo acima, na mesma altura e abaixo do estigma. Excetuando-se as variedades Hamlin e Westin, que não floresceram conjuntamente com as demais variedades estudadas, todas estavam em florescimento, na mesma época, embora para algumas variedades predominassem os botões e para outras os ‘chumbinhos’ (frutinhos jovens, após a queda das pétalas) (Tabela 41).

O comprimento do pedicelo foi maior na variedade Pêra Rio (6,93 mm) e menor na ‘Seleta Branca’ (2,73 mm). Os comprimentos de botão e de pétala foram maiores na variedade Pêra de Abril, com valores em torno de 20 mm, e menores na variedade Cametá (9,80 mm e 9,93 mm, respectivamente). A largura de botão foi maior na variedade Baiana Retiro (9,40 mm), e menor na ‘Cametá’ e ‘Pêra C.V.’ (5,53 mm e 5,20 mm, respectivamente). A largura de pétala foi maior na var. Pêra de Abril (7,13 mm) e menor na ‘Pêra Coroada’ (3,80 mm). As demais variedades apresentaram dimensões intermediárias.

A variedade Lima apresentou o maior número médio de estames (25,60) e a ‘Cametá’, o menor (17,20), quanto ao comprimento de estames a variedade Pêra de Abril apresentou o maior valor médio (14,13 mm) e a ‘Cametá’ o menor (7,47 mm). O comprimento médio do gineceu, desde a base do ovário ao estigma, também foi maior na variedade Pêra de Abril (12,87 mm) e menor na ‘Pêra Caire’ (5,60 mm). Quanto à posição das anteras nos botões, estas se mostraram mais acima do estigma na variedade Pêra Ipiguá (1,07) com valores médios em torno da nota 1, e mais

Tabela 41. Valores qualitativos obtidos para o arranjo, posição e tipo de inflorescência; cor dos botões e das flores abertas; posição das anteras em relação ao estigma; estágio de floração; número de sépalos e de pétalas (explicados no texto), e valores médios obtidos para o comprimento do pedicelo; comprimento e largura do botão floral e da pétala; número e comprimento de estames; comprimento do gineceu; posição das anteras em relação ao estigma; distância da antera até o estigma e o percentual de pólen viável para 44 variedades de laranjas doces em setembro de 1995 (CCSM/AC, Corderópolis, SP).^{1,2}

Variedades	Inflorescência		Cor de botões		Número floral		Botão		Pétala		Estames		Compr. gineceu		Posição anteras		Pólen	
	Arranjo	Posição	Tipos	Tipos	Tipos	Tipos	Compr.	Largura	Compr.	Largura	número	Compr.	Compr.	Compr.	Anteras	Distância ant/estig	viável	%
Lima	2	1/2	2	2	1	2	1	2	1	2	25,60	11,80	11,13	11,13	1,73	1,50	21,90	
Lima Tardia	2	1/2	2	2	1	2	1	2	1	2	21,60	10,53	10,00	10,00	1,80	1,28	36,50	
Lima Verde	2	1/2	2	2	1	2	1	2	1	2	21,00	10,67	10,60	10,60	1,80	1,11	74,60	
Lima Lisa	2	1/2	2	2	1	3/2	1	3/2	1	3/2	22,93	10,33	11,00	11,00	2,46	1,29	74,10	
Banan. Piracicaba	2	1/2	2	2	1	3	1	3	1	3	23,00	9,87	11,40	11,40	2,87	1,85	0,00	
Washington Navel	2	1/2	2	2	1	1/3	3	1/3	3	1/3	24,00	10,67	10,87	10,87	1,93	1,87	0,00	
Baiana Retiro	2	1/2	2	2	1	3	2	3	2	3	23,40	9,80	6,53	6,53	2,33	1,18	0,00	
Baianinha 23-4-60	2	1/2	2	2	1	1	2	1	2	1	24,07	11,00	9,87	9,87	1,27	1,36	0,00	
Lanceta Barão	2	1/2	2	2	1	3/2	2	3/2	2	3/2	24,40	11,33	10,80	10,80	2,27	1,17	26,90	
Do Céu - 1	2	1/2	2	2	1	3	2	3	2	3	24,27	10,53	10,33	10,33	2,60	1,22	82,10	
Diva	2	1/2	2	2	1	1	3	1	3	1	21,67	11,73	10,00	10,00	1,13	1,38	25,90	
Cametá	2	1/2	2	2	1	2	1	2	1	2	17,20	7,47	6,73	6,73	2,00	2,33	50,00	
Seleta Branca	2	1/2	2	2	1	1	2	1	2	1	22,07	12,07	10,60	10,60	1,13	1,33	85,70	
Seleta Vermelha	2	1/2	2	2	1	2	3	2	3	2	22,47	12,73	12,07	12,07	1,60	1,40	86,10	
Imperial	2	1/2	2	2	1	2	1	2	1	2	23,33	10,47	9,60	9,60	2,00	1,00	70,10	
Hamlin Reserva	2	1/2	2	2	1	3	4	3	4	3	23,27	10,80	9,93	9,93	2,40	1,25	88,80	
Hamlin ²	2	1/2	2	2	1	--	5	--	5	--	--	--	--	--	--	--	78,60	
Hamlin Variegada	2	1/2	2	2	1	1	3	1	3	1	22,60	11,20	10,40	10,40	1,53	1,56	85,30	
Rubi Blood	2	1/2	2	2	1	3	3/4	3	3/4	3	22,67	9,33	9,53	9,53	2,73	0,83	68,70	
Blood Oval	2	1/2	2	2	2	3/1	4	3	3/1	4	18,07	10,33	9,33	9,33	1,80	1,45	16,30	
Sang. Mombuca	2	1/2	2	2	1	2	2/1	2	2/1	2	23,47	9,87	10,07	10,07	2,60	1,11	77,70	
Cipó	2	1/2	2	2	1	3/2	2	3/2	2	3/2	23,20	10,60	10,87	10,87	2,73	1,09	62,40	
Sang. Piracicaba	2	1/2	2	2	1	3	3	3	3	3	19,47	9,73	10,40	10,40	2,80	1,18	67,20	
Non Pareil	2	1/2	2	2	1	3	4	3	4	3	21,07	10,13	10,67	10,67	2,67	1,21	40,60	
Westin ²	2	1/2	2	2	1	--	5	--	5	--	--	--	--	--	--	--	32,80	
Caipira DAC	1	1/2	2	2	1	2	1	2	1	2	21,33	10,46	9,13	9,13	1,80	1,20	23,70	
Caipira Comum	2	1/2	2	2	1	3	2	3	2	3	24,27	10,40	10,67	10,67	2,60	1,20	72,80	
Pele de Moça	2	1/2	2	2	1	1	4	1	4	1	23,07	11,93	10,40	10,40	1,20	1,33	19,80	
Lamb's Summer	2	1/2	2	2	1	2	4	2	4	2	19,60	11,20	11,33	11,33	2,13	0,75	31,00	
Pêra de Abril	2	1/2	2	2	1	1	3	1	3	1	22,33	14,13	12,87	12,87	1,33	1,08	49,70	
Pêra Sem Sementes	2	1/2	2	2	1	2	4/5	2	4/5	2	19,60	10,47	9,07	9,07	1,80	1,00	12,10	
Perão	2	1/2	2	2	1	2	4/5	2	4/5	2	20,13	10,73	9,47	9,47	1,73	1,00	13,20	
Pêra Coroada	2	1/2	2	2	1	1	4/5	2	4/5	2	21,60	9,93	7,87	7,87	1,00	1,48	42,90	
Pêra Comprida	2	1/2	2	2	1	2	4/5	2	4/5	2	19,07	10,07	9,00	9,00	1,87	1,00	42,90	
Pêra Mel	2	1/2	2	2	1	1	4/5	2	4/5	2	19,73	8,73	7,73	7,73	1,60	2,20	53,30	
Pêra Rio	2	1/2	2	2	1	2	4/5	2	4/5	2	19,33	10,20	8,80	8,80	2,07	3,25	20,50	
Pêra CV	2	1/2	2	2	1	1/2	4/5	2	4/5	2	19,47	8,20	7,67	7,67	1,67	2,00	38,80	
Pêra Ovo	2	1/2	2	2	1	2	4/5	2	4/5	2	18,40	10,27	8,73	8,73	1,60	2,67	35,90	
Pêra Caire	2	1/2	2	2	1	2/1	4/5	2	4/5	2	17,40	8,40	5,60	5,60	1,47	4,25	34,80	
Pêra Ipiquá	2	1/2	2	2	1	1	4/5	2	4/5	2	20,47	9,53	7,47	7,47	1,07	1,48	36,90	
Valência Late	2	1/2	2	2	1	1/2	4	2	4	2	22,67	10,93	9,53	9,53	1,73	1,88	20,90	
Valência Variegada	2	1/2	2	2	1	2	4	2	4	2	22,00	10,07	9,47	9,47	2,07	2,33	28,70	
Natal	2	1/2	2	2	1	2/1	3/4	2	3/4	2	19,93	10,47	9,13	9,13	1,73	1,00	21,30	
Natal Bebedouro	2	1/2	2	2	1	2	4/5	2	4/5	2	21,07	9,80	8,87	8,87	1,87	1,00	30,50	
dns (Tukey, 5%)							1,31	1,61	1,70	0,94	2,49	1,45	1,69	1,45	0,74	0,75	11,36	
C.V. (%)							20,25	8,95	9,67	8,98	13,19	8,89	10,71	13,51	29,81	86,69	25,18	

¹ Domingues et al., 1998d. ² As variedades Hamlin e Westin não foram avaliadas por não apresentarem flores nas datas de coleta.

abaixo na variedade Baianinha de Piracicaba (2,87), com valores em torno da nota 3, sendo que os demais acessos apresentaram respostas intermediárias, com as anteras mais próximas ao estigma nos botões florais. Já a distância média das anteras ao estigma, para os casos em que esta distância foi diferente de zero, foi maior na ‘Pêra Caire’ (4,25 mm) e menor na ‘Lamb’s Summer’ (0,75 mm). As demais variedades apresentaram respostas intermediárias.

Domingues⁶⁹ et al. (1996b) avaliaram o percentual de pólen viável por meio da coloração com carmim acético a 25% e contagem sob microscópio ótico e observaram valores que variaram desde 12,1% na ‘Pêra sem Sementes’ até 88,8% na variedade ‘Hamlin Reserva’. Os clones de laranja Hamlin mostraram maior percentual de pólen viável. Não foi observada presença de pólen nas variedades produtoras de laranjas de “umbigo”, originadas da variedade Bahia. As variedades Pêra, Valência e Natal, as quais são as principais cultivares da citricultura paulista e nacional, apresentaram baixos percentuais de pólen viável (Tabela 23 e 41).

Os dois primeiros componentes principais, com eigen-valores acima da unidade, representaram 65,85% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (51,18% da variância total) foram comprimento e largura, de botão e de pétala, número e comprimento de estames, e comprimento de gineceu. O caracter que mais contribuiu no segundo componente (14,67% da variância total) foi a posição da antera em relação ao estigma (Tabela 42).

Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para os dados quantitativos padronizados foram obtidos 4 grupos à distância Euclidiana igual a 4,5, representados por uma ou mais variedades, em ordem crescente de similaridade: ‘Pêra Caire e Cametá’; ‘Pêra de Abril’ e ‘Seleta Vermelha’; ‘Baiana Retiro’; e o quarto grupo formado pelos demais acessos. Para os escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, foram obtidos 7 grupos distintos a

⁶⁹ DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Estudo da viabilidade de pólen em 44 variedades de laranja doce (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck). *Scientia Agrícola*, 1997. /No prelo/.

Médias padronizadas para caracteres de flores (UPGMA)

Escores dos componentes principais dos caracteres de flor (UPGMA)

Figura 17. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram comprimento do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da antera até o estigma e do percentual de pólen viável, avaliados em 44 variedades de laranja doce.

distância igual a 4,5. Os quais, representados por uma ou mais variedades, foram, em ordem crescente de similaridade: ‘Lima’; ‘Baiana Retiro’; ‘Pêra C.V.’; ‘Pêra Caire’; ‘Washington Navel’ e ‘Baianinha Piracicaba’; o sexto grupo formado pela ‘Seleta Branca’, ‘Pêra de Abril’ e ‘Seleta vermelha’; e último grupo formado pelas demais variedades (Figura 17).

Tabela 42. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do comprimento do pedicelo, comprimento e largura do botão floral, comprimento e largura da pétala, número e comprimento de estames, comprimento do gineceu, posição das anteras em relação ao estigma, distância da antera até o estigma e do percentual de pólen viável para a explicação da variância de cada componente para 44 variedades de laranja doce.

Componente principal	Eigen valor	Variância total	Eigen-valor acumulado	Variância acumulada	Caracteres	Comp.1	Comp.2
		%		%			
1	5,63	51,18	5,63	51,18	Compr. pedicelo	0,06	-0,68
2	1,61	14,67	7,24	65,85	Compr. botão	-0,95*	-0,08
3	0,95	8,63	8,19	74,48	Largura botão	-0,81*	0,17
4	0,87	7,94	9,07	82,42	Comp. pétala	-0,92*	-0,22
5	0,59	5,32	9,65	87,74	Largura pétala	-0,88*	-0,09
6	0,48	4,36	10,13	92,10	Núm. estames	-0,71*	0,24
7	0,38	3,49	10,51	95,58	Comp. estames	-0,82*	-0,44
8	0,19	1,72	10,70	97,30	Comp. gineceu	-0,89*	-0,05
9	0,17	1,51	10,87	98,81	Pos.ant./estigma	-0,19	0,74*
10	0,08	0,76	10,95	99,56	Dist. ant.-estig.	0,62	-0,31
11	0,05	0,44	11,00	100,00	% Pólen viável	-0,24	0,41
Variância explic.						5,63	1,61
Proporção total						0,51	0,15

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

4.9.4 Caracterização morfológica dos frutos de 1995 e 1997

Na Tabela 43, são apresentados os valores obtidos para caracteres medidos qualitativamente: formato de fruto (ff), de ápice (fa) e da base do fruto (fb); cor do epicarpo e da polpa; formato da columela ou axis (fc); formato e cor das sementes (f) e (c); cor do tegmen (t) e do cotilédone (cc) e valores médios obtidos para os caracteres medidos quantitativamente: diâmetro do pedúnculo e de “umbigo”;

Tabela 43. Valores obtidos para caracteres medidos qualitativamente: formato de fruto (ff), de ápice (fa) e da base do fruto (fb); cor do epicarpo e da polpa; formato da columela ou axis (fc); formato e cor das sementes (f) e (c); cor do tegmen (t) e do cotilédone (cc) (explicados no texto), e valores médios obtidos para os caracteres medidos quantitativamente: diâmetro do pedúnculo e de 'umbigo'; altura, largura e peso de fruto; número de glândulas de óleo/ 10 mm e por 9,6 mm² de casca; espessuras flavedo, albedo, endocarpo e columela; número de gomos e de sementes/ fruto; comprimento e largura de semente para 44 variedades de laranjas doces avaliadas em junho-julho de 1995 e 1997 e ácido e sólidos solúveis (°Brix) de junho a dezembro.

Variedades	Fruto			Cor		Semente		Diâmetro			Fruto			Glând. óleo/ 9,6mm ²			Espess. ou diâmetros			Número			Semente		Ací-SS				
	ff	fa	fb	casca	polpa	fc	f	c	t	cc	pedic	umbigo	altura	largura	peso	10mm	9,6mm ²	flavedo	albedo	endo.	axis	gomos	número	compr		largura	dez	%	°Brix
Lima	3	3/4	3	E3	E3	3/2	6/4	2	2	1	3,60	1,43	58,53	59,00	103,65	10,53	8,53	1,48	2,82	49,33	7,53	10,37	11,81	14,13	7,00	0,11	11,83		
Lima Tardia	3/4	3/4	3	E3	E3	3	6	2	3	1	3,42	1,67	58,40	58,90	108,56	9,83	8,27	1,33	2,65	50,43	7,07	9,87	12,76	12,63	7,57	0,08	12,72		
Lima Verde	12	3	2/1	R1	D3	3	6	2	1	1	3,53	1,07	67,13	57,37	121,46	8,57	6,33	1,27	2,80	50,77	6,63	10,47	3,18	11,60	6,57	0,09	11,74		
Lima Lisa	3	3	3/2	E3	E3	3	6	2	1	1	3,77	1,70	62,67	61,30	121,76	9,93	7,33	1,32	2,93	52,57	8,27	10,33	10,64	11,83	7,57	0,08	12,15		
Baia. Piracic.	3/12	3	3	E3	E3	2/3	6	3	1	3	3,72	5,67	71,10	71,00	186,24	9,63	6,80	1,40	3,38	60,40	10,33	11,07	1,09	12,07	6,93	0,89	12,11		
Wash. Navel	3/12	3	3	F4	E3	2/3	6	3	1	3	3,92	17,20	79,30	78,97	263,79	10,10	6,93	1,35	3,43	68,57	11,83	10,87	0,29	13,83	6,33	0,98	13,30		
Baiana Reti.	3/12	3	2/3	E3/E4	E3	2	6	3	1	3	4,33	15,10	77,77	78,87	259,36	9,03	6,03	1,48	3,60	67,73	12,27	10,87	0,51	12,53	7,93	1,05	12,88		
Baian. 23460	3/12	3	2/3	E3	E3/F3	3/2	6	3	1	3	2,92	5,17	66,23	66,30	156,19	9,70	6,50	1,30	3,07	56,50	9,23	10,60	1,52	12,00	7,00	1,04	13,24		
Lanc. Barão	3/12	3	2/3	E3	E3	3/2	3/2	3	1	3	2,67	1,15	49,27	49,37	69,39	10,17	7,00	0,92	2,43	42,20	6,07	9,97	2,70	11,90	6,13	0,72	14,19		
Do Céu - 1	3	3/4	2/3	E3	E4	3	6/5	2	1	1	3,78	1,98	61,03	63,90	128,12	9,50	7,67	1,30	2,83	53,80	9,17	11,60	12,40	12,63	7,60	0,47	10,56		
Diva	13/3	3	2/3	E1,5	E3/D4	3	6/5	2	1	1	3,62	1,82	60,93	61,77	124,62	8,90	7,20	1,07	3,42	52,57	7,50	11,00	0,93	12,53	8,00	1,25	11,13		
Carnetá	3/12	3	3	E3	E3	3	6	3	3	3/1	2,88	1,65	56,73	56,73	97,37	9,80	6,53	1,47	3,27	45,53	7,03	11,33	0,07	12,43	5,53	0,67	10,55		
Sel. Branca	13/5	3/4	2/4	E1	E2/D2	3/2	6	2	1	1/3	4,10	1,63	68,30	74,80	201,22	8,57	11,20	1,77	4,13	62,63	11,87	11,50	11,50	12,23	7,87	0,95	12,42		
Sel. Vermelh	13/14	3	2/3	F4/E4	E4	3	6/3	3	1	3	3,57	2,03	64,70	67,57	155,98	10,27	8,77	1,67	3,27	56,77	8,40	11,47	12,11	12,13	7,00	1,00	11,83		
Imperial	3	3/4	2/3	E3	E3	3	6/3	2	1	1	3,62	1,60	63,83	64,37	144,40	9,03	7,33	1,25	3,30	55,20	8,77	10,63	20,36	13,13	7,47	1,25	11,36		
Ham.Reserva	13/14	3/4	2/4	D3	E3	3	6/7	3	1	3	3,40	1,47	68,33	75,80	197,95	8,70	5,27	1,23	3,38	62,03	10,80	10,13	3,57	11,83	6,63	1,01	10,89		
Hamlin	3/4	3	3	E4	E3	2	6	2	1	1	3,88	2,02	61,93	63,33	129,09	10,17	7,63	1,33	2,84	55,23	9,67	10,87	6,17	12,13	7,57	0,98	11,92		
Hamlin Var.	3/13	3/4	2/3	E3	E3	3	6/5	2	3	1	3,70	1,68	61,43	62,37	124,59	9,50	8,03	1,33	2,57	54,13	9,40	11,10	6,08	13,50	7,77	1,02	11,48		
Rubi Blood	3/14	3	2/3	F4	E3	3	6	3	1	3	3,32	1,92	61,20	65,17	141,48	10,17	8,27	1,82	2,65	55,93	7,93	11,30	13,96	11,67	6,23	1,39	12,12		
Blood Oval	12	3	3	F3/E3	F2	2	6/3	3	1	3	3,88	1,13	68,00	62,93	139,13	10,73	7,03	1,30	2,82	53,80	7,27	11,17	4,79	11,93	6,47	1,37	11,13		
Sang.Momb.	3/12	3	2/3	E3/E4	E3	2	6	3	1	3	2,68	1,25	63,90	63,00	135,80	10,47	8,53	1,73	2,83	52,70	7,87	10,27	15,87	12,00	6,47	0,66	11,32		
Cipó	3/2	3	3/2	E3/E4	E3	2	6	3	1	3	3,18	1,80	66,53	66,03	154,98	10,73	9,37	1,85	3,33	55,67	8,97	11,00	19,30	13,73	7,50	1,13	11,44		
Sang. Piracic	3	3	2/3	D2	D3/F3	3	6/4	2	1	1	3,82	3,18	59,73	62,17	119,28	9,00	6,90	1,27	4,08	50,87	8,73	10,67	9,87	14,33	6,53	1,25	12,54		
Non Pareil	3	3/4	2	E3/E4	D3/F3	3	6/4	2	1	1	3,47	1,93	66,47	66,67	155,24	9,14	7,07	1,22	2,88	57,90	8,90	10,73	9,85	13,20	8,47	1,05	11,25		
Westin	3/4	3	2/4	F4	E3	3	6	3	1	3	2,82	2,35	56,70	62,43	123,82	9,93	8,00	1,30	3,02	53,27	7,40	11,47	4,70	11,63	7,40	1,04	12,59		
Capira DAC	3/4	3	3/4	F3	E3	3	6/7	3	1	3	3,07	2,17	57,83	61,33	122,03	11,27	7,67	1,82	2,78	51,60	8,40	11,93	4,18	12,63	7,10	0,72	11,51		
Capira com.	3/14	3/4	2	E3	E3	3	6/7	3	1	3	3,58	2,78	67,67	69,73	174,43	9,70	8,67	1,47	3,23	59,50	8,87	11,43	20,86	12,97	7,40	1,08	11,59		
Pele Moça	12	3	2/3	E3	E3	3	6	3	1	3	2,98	2,20	57,17	58,03	106,44	10,60	8,37	1,13	2,73	50,37	8,10	10,83	4,23	12,30	7,50	1,06	12,52		
LambSum.	12	3	2/3	E2/E3	E3	3/1	6	3	1	3	3,20	2,02	60,37	55,80	104,74	10,13	8,20	1,07	2,62	48,03	4,97	9,97	5,57	12,17	7,37	1,62	12,58		
Pera de Abril	12	3	2/4	E3	E3	3/2	6/7	3	1	3	3,27	2,35	77,33	70,53	185,72	8,57	7,27	2,17	4,80	55,20	7,90	11,27	3,79	11,17	7,10	0,47	10,30		
Pera s/Sem.	12	3	2/3	E2	E3	3/1	6	3	1	3	3,33	1,27	74,37	67,80	175,48	10,13	7,30	1,15	3,42	56,50	5,80	10,33	0,53	12,13	6,97	1,61	11,12		
Perão	3/12	3	3	F3	E3/F3	3	6	3	1	3	3,22	1,28	68,63	63,73	152,93	10,13	7,33	1,15	2,68	55,00	6,30	10,07	0,75	11,73	7,67	1,72	11,35		
Pera Coroadá	12	3	2	D3	E3/E2	3	6	3	1	3	2,73	1,60	55,60	52,17	85,39	9,93	9,17	0,93	2,55	44,80	5,67	10,23	6,63	12,00	6,80	1,40	12,63		
Pera Compr.	12	3	2	F3	E3	3/1	6/7	3	1	3	3,07	1,13	65,10	56,20	112,48	9,80	7,60	1,13	3,17	46,73	5,20	9,90	4,46	11,20	6,90	1,43	12,11		
Pera Mel	12	3	2	E2	F3	3	6/5	2	1	1	3,38	1,35	62,90	57,30	112,36	9,30	9,47	1,00	2,63	50,07	6,80	10,27	6,12	12,27	6,43	1,21	12,07		
Pera Rio	12	3	2/4	E3	E3	3/2	6	3	1	3	3,07	1,83	64,37	60,00	127,64	10,10	9,17	1,12	2,60	51,63	6,57	10,37	4,59	11,57	6,63	1,27	11,91		
Pera CV	12	3	2	E3	E3/F3	3	6/7	3	1	3	2,97	1,57	64,90	57,33	117,49	10,43	9,93	1,10	2,00	49,63	6,53	10,47	4,48	11,80	6,33	1,30	12,52		
Pera Ovo	13/12	3	2/3	E3	E3	3	6	3	1	3	2,80	1,48	61,60	56,63	109,03	9,63	9,03	1,03	2,58	48,37	5,93	9,57	6,54	12,40	7,20	1,49	12,61		
Pera Caie	12	3	2	F3	E3	3	6	3	1	3	2,82	1,47	64,07	59,37	128,36	10,83	9,57	0,92	2,15	52,30	7,10	10,67	5,49	11,60	6,03	1,31	12,06		
Pera Iguaú	3/13	3	2	E3	E2	3	6/3	3	1	3	3,25	1,25	58,73	55,37	99,79	9,67	8,73	0,95	2,72	46,93	5,57	10,07	7,80	11,43	6,77	1,89	13,18		
Valên. Late	3/14	3	3	F3	E3/F3	3	6	3	1	3	2,88	1,45	60,80	63,40	138,33	11,27	8,80	1,35	3,02	53,90	10,00	10,73	3,95	12,97	7,37	1,47	12,04		
Valên. Var.	3	3/4	2/3	D3	E3/D3	3	6/5	2	1	1	3,63	1,75	61,23	61,07	119,88	10,47	10,73	1,10	2,98	52,27	9,00	10,13	3,17	13,80	7,27	1,55	12,03		
Natal	12/2	3/4	2	D2	D3	3	6	2	1	2	3,40	1,58	58,47	55,63	95,35	9,00	9,53	1,07	2,68	48,37	8,33	10,63	4,47	12,80	7,27	1,81	12,30		
Natal Bebed.	13/3	3	2	D3	E2	3	6/																						

altura, largura e peso de fruto; número de glândulas de óleo/ 10 mm e por 9,6 mm² de casca; espessuras do flavedo, albedo, endocarpo e columela; número de gomos e de sementes/ fruto; comprimento e largura de semente em 44 variedades de laranja doce avaliadas em julho de 1997 e percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) de junho a dezembro. Os frutos apresentaram predominantemente o formato arredondado (3), largamente obovado (12) e muito largamente obovado (13), segundo relação de proporção definida por Radford (1974). Algumas variedades, no entanto, apresentaram frutos tendendo para largamente elípticos (2), outras, oblatos (4), ou como a ‘Seleta Branca’, que apresentou frutos transversalmente elípticos (5) e com os estiletes ainda presentes nos frutos adultos, o que não se observou nas demais variedades. O formato predominante do ápice dos frutos variou do convexo ao truncado e a base, do convexo ao côncavo, a exceção da ‘Lima Verde’, cujos frutos, de maturação tardia, ainda apresentavam frutos com a base em forma de ‘pescoço’ na época de avaliação. A coloração dos frutos variou de verde-amarelado para os frutos mais tardios, como a ‘Lima Verde’ (R1), ‘Natal’ e ‘Valência’ (D2 a D3) a amarelo-alaranjado e em alguns casos amarelo-avermelhado (E2 a F4); a coloração da polpa variou da mesma maneira, de verde claro na ‘Lima Verde’ a vermelho na laranja ‘Sangüínea de Mombuca’. A Figura 5 traz as fotos realizadas para os frutos das variedades e clones estudados na presente pesquisa, pelas quais pode-se ter uma noção da coloração de casca e de polpa, textura e brilho de casca. O formato da columela variou de circular ao radial, predominando este último, e as sementes, de coloração creme, predominantemente deltóides, com o tegmem avermelhado e cotilédones brancos ou creme (Tabela 43).

O diâmetro do pedúnculo foi maior na ‘Baiana Retiro’ (4,33 mm), e menor na ‘Natal Bebedouro’ (2,47 mm). O diâmetro da cicatriz do estilete ou do “umbigo”, esteve em torno de 1,00 mm, na ‘Lima Verde’, e apresentou valores crescentes até as variedades de “umbigo”, onde a ‘Washington Navel’ (‘Bahia’) se destacou, com diâmetro médio de “umbigo” de 17,20 mm (Tabela 43).

A laranja ‘Washington Navel’ apresentou maiores altura (79,30 mm), largura (78,97 mm) e peso médios (263,79 g), e a ‘Lanceta Barão’ apresentou os menores valores para estes caracteres (49,27 mm, 49,37 mm e 69,39 g, respectivamente). O percentual médio de acidez dos frutos, de junho a dezembro de 1995 a 1997, variou de 0,08% nas ‘Limas’ a 1,87% na ‘Pêra Ipiгуá’. O teor de sólidos solúveis no mesmo período variou de 10,30°Brix na ‘Pêra de Abril’ a 14,19°Brix na ‘Lanceta Barão’(Tabela 43). A variedade Caipira-DAC foi a que apresentou maior número médio de glândulas de óleo/ 10 mm de casca (11,27) e as laranjas ‘Lima Verde’, ‘Seleta Branca’ e ‘Pêra de Abril’, os menores valores (8,57). O número de glândulas de óleo/ 9,6 mm² foi maior na ‘Seleta Branca’ (11,20) e menor na ‘Hamlin Reserva’ (5,27). A espessura do flavedo, camada mais externa da casca, foi maior na ‘Pêra de Abril’ (2,17 mm), no entanto, a maioria dos genótipos apresentou este valor em torno de 1 mm. O albedo, outro componente que determina a espessura da casca do fruto, foi mais espesso na ‘Hamlin Reserva’ (5,38 mm) e menos espesso na ‘Pêra C.V.’ (2,00 mm). As demais variedades apresentaram respostas intermediárias (Tabela 43).

O diâmetro do endocarpo foi maior nas laranjas ‘Washington Navel’ e ‘Baiana Retiro’ (em torno de 68,00 mm) e menor na ‘Lanceta Barão’ (42,20 mm). A espessura da columela foi maior na ‘Baiana Retiro’ (12,27 mm) e menor na ‘Lamb’s Summer’ (4,97 mm). O número médio de gomos foi maior na ‘Caipira-DAC’ (11,93) e menor na ‘Pêra Ovo’ (9,57). O número médio de sementes por fruto foi superior na ‘Caipira Comum’, ‘Imperial’ e ‘Cipó’ (20,86 , 20,36 e 19,30, respectivamente) e as variedades Baiana Retiro, Washington Navel, Perão, Pêra sem Sementes, Cametá e Diva, apresentaram menos de uma semente, em média, por fruto. O comprimento das sementes foi maior na ‘Sanguínea de Piracicaba’ (14,33 mm) e menor na ‘Pêra de Abril’ (11,17 mm). Já a largura média das sementes foi maior na ‘Non Pareil’ (8,47 mm), e menor na ‘Cametá’ (5,53 mm). Já as outras variedades apresentaram respostas intermediárias. As sementes das variedades aqui estudadas apresentaram de média (30 a 60%) a elevada poliembrionia (acima de 60%) quando se quantificou os embriões

nas sementes. Com exceção da variedade Pêra de Abril, que apresentou-se monoembriônica (Tabela 17). De um modo geral as médias dos caracteres ligados às dimensões dos frutos e número de sementes foram mais elevados em 1995 que em 1997.

Tabela 44. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente e valores acumulados, e a contribuição do diâmetro do pedúnculo e do umbigo ou da cicatriz estilar, da altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm² de epicarpo, espessura do flavedo ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes por fruto, comprimento e largura de semente, para a explicação da variância de cada componente em 44 variedades de laranja doce.

Comp. princ.	Eigen valor	Variância total %	Eigen-valor acumulado	Variância total acumulada %	Caracteres	Comp.1	Comp.2	Comp.3
1	6,10	33,88	6,10	33,88	Diâm. pedúnculo	0,60	0,35	-0,36
2	2,63	14,60	8,73	48,47	Diâm. umbigo	0,58	-0,57	-0,30
3	2,11	11,73	10,84	60,21	Altura de fruto	0,77*	-0,37	-0,05
4	1,59	8,84	12,43	69,05	Largura de fruto	0,96*	-0,15	0,07
5	1,21	6,71	13,64	75,75	Peso de fruto	0,90*	-0,34	0,00
6	0,83	4,64	14,47	80,39	N. glând.óleo/ cm	-0,62	-0,34	0,17
7	0,72	3,99	15,19	84,38	N. gl.óleo/9,6mm ²	-0,36	0,16	-0,15
8	0,66	3,66	15,85	88,04	Espessura flavedo	0,23	0,06	0,85*
9	0,50	2,77	16,35	90,81	Espessura albedo	0,70*	0,08	0,18
10	0,47	2,62	16,82	93,43	Diâm. endocarpo	0,95*	-0,11	-0,08
11	0,39	2,14	17,20	95,57	Diâm. columela	0,81*	0,20	-0,12
12	0,26	1,46	17,47	97,03	Núm. de gomos	0,45	0,32	0,35
13	0,24	1,36	17,71	98,39	Núm. de sementes	0,15	0,68	0,18
14	0,13	0,72	17,84	99,11	Comp. semente	0,19	0,71*	-0,26
15	0,12	0,65	17,96	99,76	Largura semente	0,30	0,38	-0,41
16	0,03	0,18	17,99	99,94	Acidez jun. - dez.	-0,27	-0,20	-0,39
17	0,01	0,04	18,00	99,98	Brix jun. - dez.	-0,17	-0,41	-0,58
18	0,00	0,02	18,00	100,00	% Poliembriõnia	-0,10	0,52	-0,42
Variância explic.						6,10	2,63	2,11
Proporção total						0,34	0,15	0,12

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

Os cinco primeiros componentes principais, com eigen-valores acima da unidade, representaram 75,75% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades no primeiro componente (33,88% da

Médias padronizadas para caracteres de frutos (UPGMA)

Escores dos componentes principais dos caracteres de fruto (UPGMA)

Figura 18. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Os caracteres considerados foram diâmetro do pedúnculo e do “umbigo” ou da cicatriz estilar, da altura, largura e peso do fruto, número de glândulas de óleo por 10 mm e por 9,6 mm² de epicarpo, espessura do flavedo ou epicarpo e do albedo ou mesocarpo, diâmetro do endocarpo e da columela, número de gomos e de sementes por fruto, comprimento e largura de semente, avaliados em 44 variedades de laranja doce.

variância total) foram altura, largura e peso de fruto, espessura do albedo e diâmetros do endocarpo e da columela. O caracter que mais contribuiu no segundo componente (14,60% da variância total) foi o comprimento de sementes. O terceiro componente (11,73% da variância) recebeu maior contribuição da espessura do flavedo (Tabela 44).

A análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, pelos escores obtidos por meio da análise dos componente principais resultou em 10 grupos à distância Euclidiana igual a 6, apresentados em ordem crescente de similaridade: ‘Seleta Branca’; ‘Baiana Retiro’; ‘Washington Navel’; ‘Hamlin Reserva’; ‘Natal Bebedouro’; ‘Lanceta Barão’; ‘Pêra de Abril’ e ‘Pêra sem Sementes’; ‘Valência Variegada’; ‘Rubi Blood’ e ‘Hamlin’ e o décimo grupo formado pelas demais variedades. Pelas médias originais padronizadas os resultados foram concordantes, foram obtidos 6 grupos distintos à distância igual a 6. Os quais foram, em ordem crescente de similaridade: ‘Baiana Retiro e Washington Navel’; ‘Pêra de Abril’; ‘Hamlin Reserva’; ‘Seleta Branca’; ‘Lanceta Barão’ e o último grupo constituído pelas outras variedades (Figura 18).

4.9.5 Avaliação conjunta dos dados

Quanto aos estudos de correlação produto-momento de Pearson, para $p < 0,05$, são aqui apresentados alguns resultados, aparentemente, mais importantes e de interesse agrônômico. A Tabela 46 apresenta a correlação entre os 47 caracteres medidos quantitativamente estudados em 1995. A altura de planta, e altura, largura e volume de copa mostraram elevadas correlações positivas entre si. As dimensões da copa apresentaram ainda correlação positiva com a largura da lâmina foliar, com comprimento e largura de botão e de pétala, com o diâmetro de pedúnculo e de “umbigo”, com altura, largura e peso de frutos e com espessura do albedo, de endocarpo e de columela; e correlação negativa com o número de glândulas de óleo/ 10 mm de casca.

A circunferência do tronco, 10 cm acima e abaixo do ponto de enxertia, apresentaram correlação positiva entre si, com o número de glândulas de óleo no ápice, no meio e na base da lâmina foliar, comprimento do pedicelo, número de glândulas de óleo/ 10 mm e por 9,6 mm² de casca e com a acidez média; e negativa com comprimento de folha e de lâmina foliar, largura de botão, número de estames e espessura da columela. O número de frutos/ m² apresentou correlação positiva com comprimento do pedicelo, número de glândulas de óleo/ 9,6 mm², número e comprimento de sementes e percentual de poliembrionia; e negativa com o comprimento de folha e de lâmina foliar.

O percentual de pólen viável apresentou correlação positiva com a espessura do flavedo e com o número de sementes; e negativa com o número de glândulas de óleo no ápice, meio e base da lâmina foliar, com o diâmetro de “umbigo”, com sólidos solúveis (°Brix) e percentual de acidez no suco dos frutos. A altura, largura e peso de fruto apresentaram correlação positiva entre si, com os caracteres de dimensão da copa, comprimento e largura de folha, comprimento e largura de botão e de pétala, diâmetro de pedúnculo e de “umbigo”, espessura do albedo, do endocarpo e da columela; e negativa com o número de glândulas de óleo/ 10 mm de casca. A largura e o peso de fruto apresentaram ainda correlação positiva com o número de gomos; e negativa com o número de glândulas de óleo no ápice da lâmina foliar e com o comprimento do pedicelo.

A espessura do flavedo apresentou correlação positiva com largura de pétala, percentual de pólen viável e número de gomos; e negativa com o número de folhas/ m², número de glândulas de óleo, no ápice, meio e base da lâmina foliar, percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) do suco e o percentual de poliembrionia das sementes. A espessura do albedo apresentou correlação positiva com a altura de planta, altura, largura e volume de copa, comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento e largura de botão, comprimento de estame e de gineceu, diâmetro de pedúnculo, altura, largura e peso de frutos, diâmetro de endocarpo e de columela; e negativa com o número de glândulas de óleo/ 10 mm, por 9,6 mm² e no

ápice, meio e base da lâmina foliar, comprimento de pedicelo, distância da antera ao estigma e teor de sólidos solúveis (°Brix) do suco.

O número de sementes apresentou correlação positiva com o número de frutos/ m², largura da lâmina foliar, largura do botão e de pétalas, número de estames, posição da antera em relação ao estigma, percentual de pólen viável, comprimento de sementes e percentual de poliembryonia observado nas sementes. O percentual de acidez médio de suco, observado de maio a agosto de 1995, apresentou correlação positiva com o diâmetro acima e abaixo da linha de enxertia, número de glândulas de óleo/ 10 mm, por 9,6 mm² e no ápice, meio e base da lâmina foliar; e negativa com comprimento da folha e da lâmina foliar, comprimento e largura de botão e de pétala, número de estames, comprimento do gineceu, percentual de pólen viável e espessura de flavedo. O teor de sólidos solúveis (°Brix) médio de suco, observado de maio a agosto de 1995, apresentou correlação positiva com o número de folhas/ m² e diâmetro de “umbigo”; e negativa com percentual de pólen viável, espessura do flavedo e de albedo e número de gomos. O percentual de poliembryonia nas sementes apresentou correlação positiva com o número de frutos e número de sementes e negativa com a espessura do flavedo.

A importância do estudo das correlações, como ressaltado por Cruz (1990), encontra-se, principalmente no fato de que os caracteres medidos quantitativamente estão na maioria das vezes, sob controle de poligenes que se distribuem em todo o genoma da espécie e têm ações e interações relativamente complexas. Também, o grande número de locos envolvidos aumenta a probabilidade de formação de blocos gênicos, incluindo fatores que controlam outros caracteres considerados no estudo, e de manifestação dos efeitos pleiotrópicos, de tal forma que as correlações podem ser elevadas. No entanto cabe ressaltar que, no presente trabalho, muitas correlações encontradas significativas carecem de maiores estudos para comprovação de seu significado biológico.

Seis componentes principais, com eigen-valores > 1, representaram 66,45% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das

Tabela 45. Componentes principais, eigen-valores, percentual de variância explicada por cada componente, valores acumulados, e a contribuição dos 47 caracteres avaliados para a explicação da variância de cada componente em 44 acessos de laranja doce do banco de germoplasma do CCSM/IAC.

Comp princ.	Eigen valor	Variân total	Eigval acumu	Variân acum.	Caracteres	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4	Comp.5	Comp.6
		%		%							
1	11,94	25,40	11,94	25,40	Altura de planta	-0,41	-0,51	0,25	0,11	0,00	0,04
2	5,45	11,59	17,39	37,00	Altura de copa	-0,50	-0,57	0,22	0,13	-0,18	0,03
3	4,84	10,30	22,23	47,30	Largura de copa	-0,62	-0,42	0,34	-0,03	-0,18	-0,04
4	3,44	7,32	25,67	54,62	Volume de copa	-0,61	-0,47	0,37	-0,03	-0,15	0,06
5	2,84	6,05	28,51	60,67	Circ. ac. enxertia	0,53	-0,54	0,12	0,36	0,10	-0,23
6	2,72	5,78	31,23	66,45	Circ. ab. enxertia	0,50	-0,54	0,11	0,37	0,10	-0,24
7	1,71	3,64	32,94	70,10	N. folhas est./ m ²	-0,06	0,00	0,12	-0,37	-0,42	0,55
8	1,62	3,44	34,56	73,53	N. frutos est./ m ²	0,06	-0,31	-0,39	0,05	-0,62	-0,07
9	1,46	3,11	36,02	76,64	Comp. lâmina folha	-0,41	0,62	0,38	0,07	-0,09	-0,13
10	1,23	2,61	37,25	79,26	Larg. lâmina folha	-0,53	0,01	0,25	0,38	-0,33	-0,21
11	1,07	2,28	38,32	81,53	Comprim. folha	-0,31	0,68	0,42	0,12	-0,12	-0,10
12	0,90	1,92	39,22	83,46	N.glând.óleo ápice	0,62	-0,52	0,14	0,25	-0,18	0,10
13	0,81	1,72	40,03	85,18	N.glând.óleo meio	0,61	-0,59	0,20	0,15	-0,16	0,01
14	0,75	1,60	40,79	86,78	N.glând.óleo base	0,57	-0,54	0,24	0,20	-0,21	0,13
15	0,70	1,48	41,48	88,26	Comprim. peciolo	0,08	0,57	0,61	0,30	-0,31	0,01
16	0,63	1,33	42,11	89,60	C. pecio/ c.lâmina	0,46	0,28	0,41	0,33	-0,31	0,04
17	0,50	1,05	42,61	90,65	Compr.asa peciolo	0,14	0,57	0,53	0,30	-0,38	-0,09
18	0,45	0,95	43,05	91,60	Larg.asa peciolo	-0,01	0,20	0,64	0,39	-0,20	-0,13
19	0,40	0,86	43,46	92,46	Compr. pedicelo	0,44	-0,12	-0,16	0,51	-0,15	0,20
20	0,37	0,78	43,82	93,24	Compr. botão	-0,76*	-0,09	-0,22	0,40	0,14	0,26
21	0,33	0,71	44,16	93,95	Largura botão	-0,76*	0,06	-0,14	0,18	-0,17	0,27
22	0,31	0,67	44,47	94,62	Comp. pétala	-0,66	-0,07	-0,27	0,56	0,09	0,17
23	0,29	0,62	44,76	95,24	Largura pétala	-0,72*	-0,09	-0,31	0,37	0,05	0,18
24	0,27	0,57	45,03	95,81	Núm. estames	-0,58	0,19	-0,10	0,18	-0,21	0,40
25	0,22	0,47	45,25	96,27	Comp. estames	-0,50	-0,09	-0,27	0,61	0,22	0,20
26	0,18	0,39	45,43	96,67	Comp. gineceu	-0,59	0,01	-0,40	0,46	0,02	0,23
27	0,17	0,35	45,60	97,02	Pos.antera/estigma	-0,34	0,13	0,00	-0,22	-0,30	-0,05
28	0,14	0,30	45,74	97,32	Dist. ant. - estigma	0,44	-0,01	0,24	-0,23	0,02	-0,13
29	0,12	0,26	45,86	97,58	% Pólen viável	-0,24	0,29	-0,41	0,06	-0,26	-0,51
30	0,12	0,25	45,98	97,83	Diâm. pedúnculo	-0,56	-0,27	-0,12	-0,19	-0,23	0,00
31	0,10	0,20	46,07	98,03	Diâm. umbigo	-0,43	-0,16	0,60	-0,31	0,06	0,40
32	0,09	0,19	46,16	98,22	Altura de fruto	-0,55	-0,29	0,50	0,01	0,19	-0,18
33	0,08	0,17	46,24	98,39	Largura de fruto	-0,80*	-0,23	0,33	-0,10	0,13	-0,23
34	0,08	0,17	46,32	98,56	Peso de fruto	-0,70*	-0,23	0,49	-0,10	0,18	-0,16
35	0,07	0,15	46,39	98,71	N. glând.óleo/ cm	0,56	0,14	0,06	0,22	0,21	0,07
36	0,06	0,13	46,46	98,84	N. gl.óleo/9,6mm ²	0,47	-0,23	-0,08	0,23	-0,20	-0,28
37	0,06	0,12	46,51	98,96	Espessura flavedo	-0,31	0,29	-0,09	0,22	0,32	-0,39
38	0,06	0,12	46,57	99,08	Espessura albedo	-0,65	-0,01	0,18	0,03	0,06	-0,33
39	0,05	0,11	46,62	99,19	Diâm. endocarpo	-0,78*	-0,31	0,32	-0,14	0,03	-0,18
40	0,05	0,10	46,67	99,29	Diâm. columela	-0,71*	-0,19	0,04	-0,33	-0,16	-0,07
41	0,05	0,10	46,71	99,39	Núm. de gomos	-0,45	-0,23	-0,34	-0,24	0,16	-0,21
42	0,05	0,10	46,76	99,49	Núm. de sementes	-0,31	0,12	-0,42	0,08	-0,51	-0,30
43	0,05	0,10	46,81	99,59	Comp. semente	-0,21	-0,13	-0,44	-0,22	-0,48	-0,16
44	0,05	0,10	46,86	99,70	Largura semente	-0,23	-0,36	-0,15	0,11	-0,20	-0,19
45	0,05	0,10	46,90	99,80	Acidez jun. - dez.	0,51	-0,53	0,22	0,01	-0,04	-0,19
46	0,05	0,10	46,95	99,90	Brix jun. - dez.	0,16	-0,07	0,24	-0,19	-0,15	0,71*
47	0,05	0,10	47,00	100,00	% Poliembrionia	0,08	-0,08	-0,28	-0,25	-0,54	-0,09
Variância explic.						11,94	5,45	4,84	3,44	2,84	2,72
Proporção total						0,25	0,12	0,10	0,07	0,06	0,06

* Foram marcados os valores superiores a $\pm 0,70$

variedades no primeiro componente (25,40% da variância total) foram comprimento e largura de botão e largura de pétala, largura e peso de fruto, diâmetro de columela e de endocarpo. Do segundo ao quinto componente, não foi observado caracteres que contribuíssem com valores $\geq |0,7|$. O que mais contribuiu no sexto componente (5,78% da variância total) foi o teor de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) (Tabela 45). A partir desta análise conjunta vê-se que 7 dos 47 caracteres estudados, com contribuição $\geq |0,7|$ nos componentes principais, foram mais importantes na explicação de da variância total (66,45%) encontrada.

Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para os dados quantitativos padronizados foram obtidos 7 grupos à distância Euclidiana igual a 10, apresentados, em ordem crescente de similaridade: ‘Pêra de Abril’; ‘Hamlin Reserva’; ‘Baiana Retiro’, Washington Navel’ e ‘Baianinha Piracicaba’; ‘Cametá’; ‘Lanceta Barão’; ‘Seleta Branca’; e o último grupo formado pelos demais acessos. Para os escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, foram separados 9 grupos distintos à distância euclidiana igual a 8,1. Os quais são os seguintes em ordem crescente de similaridade: ‘Baiana Retiro’; ‘Cametá’; ‘Pêra de Abril’; ‘Seleta Branca’; ‘Hamlin Reserva’; ‘Lanceta Barão’; ‘Washington Navel’; Cipó e o nono e último grupo formado pelos demais acessos (Figura 19). A Figura 20, apresenta fotos ilustrativas do polimorfismo morfológico observado em laranja doce, em plantas, folhas, flores e frutos.

Os resultados da análise de agrupamento pelos dados originais padronizados e pelos escores dos componentes principais mostraram boa concordância entre si., porém pelos dados originais, embora exista a influência das correlações entre os caracteres considerados, foram obtidos resultados aparentemente mais confiáveis, no que se refere a distâncias menores, entre “parentes” próximos. Para a análise do conjunto de dados pelos dados originais padronizados agrupou-se à distância Euclidiana 5,5 , as variedades Valência Variegada ao lado da ‘Natal’ e ‘Natal Bebedouro’, as quais são reconhecidamente aparentadas. Do mesmo modo à

Médias padronizadas de 47 caracteres de plantas, folhas, flores e frutos (UPGMA)

Escores dos componentes principais dos 47 caracteres (UPGMA)

Figura 19. Dendrogramas obtidos pela análise de agrupamentos usando dados padronizados (acima) e escores da análise de componentes principais (abaixo) pela distância Euclidiana e método UPGMA. Foram considerados 47 caracteres avaliados quantitativamente, envolvendo planta, folha, flor e fruto, em 44 variedades de laranja doce.

distância 6,4 , foram agrupadas as Pêras: ‘Ipigúá’, ‘Comprida’, ‘Coroadá’, ‘Mel’ e ‘Ovo’ e à distância 5 as Pêras ‘Rio’ e ‘C.V.’. As variedades Hamlin e Hamlin Variegada também foram agrupadas juntas à distância 5,5. As variedades Washington Navel e Baianinha Piracicaba foram agrupadas à distância 6,9 e juntamente com a Baiana Retiro à distância Euclidiana 8,8. As Variedades Lima e Lima Tardia apresentaram-se agrupadas, mas em grupo distinto das variedades Lima Lisa e Lima Verde que se apresentaram bastante próximas. Em ambas as análises as variedades Perão e Pêra sem Sementes mostraram ser bastante semelhantes.

Estes resultados são coerentes com as indicações de Cruz (1990), quando observou baixas distorções entre os resultados obtidos pelas Distâncias Euclidianas e de Mahalanobis, com as distâncias obtidas a partir dos escores dos componentes principais ou variáveis canônicas. Aquele autor ressaltou que existe boa robustez nos resultados dos agrupamentos pelas distâncias Euclidianas e das análises dos componentes principais, utilizando-se os dados originais, em estudos sobre divergência genética, os quais são frequentes na avaliação de acessos de banco de germoplasma e caracterização de indivíduos ou espécies e, que podem gerar resultados de grande utilidade para o melhoramento, mesmo quando alguma correlação residual entre os caracteres possa existir.

O uso da análise de agrupamento pelos dados originais padronizados permitiu boa discriminação dos 44 genótipos estudados, agrupando muitos clones e variedades aparentadas à distâncias menores. Separando à distância 9,5 , variedades que apresentam grandes diferenças fenotípicas em relação à maioria, provavelmente originadas por mutações mais pronunciadas ou mesmo como híbridos zigóticos, como provavelmente é caso das variedades Cametá e Lanceta Barão, aparentemente sem qualidades para serem utilizadas como variedades copa.

Hodgson (1967) citou diversas variedades de laranja doce como originadas de mutações somáticas, dentre elas uma variedade produtora de frutos com “umbigo” e sem sementes, denominada ‘Bahia’, homônima com o Estado de sua origem, no Brasil. Esta é citada como possível mutação da variedade Seleta, de

origem portuguesa, a qual teria ainda dado origem as variedades Seleta Branca, Amarela e Vermelha, segundo Moreira & Filha (1963), citados por Hodgson (1967). A laranja ‘Bahia’ ou ‘Baiana’ recebeu nos EUA a designação de ‘Washington Navel’ e esta, lá assim como a ‘Bahia’ no Brasil, deram origem a variedades mais produtivas e de frutos menores, como as variedades ‘Baianinha’, ‘Thonson’, ‘Robertson’, ‘Carter’ e ‘Atwood’. Hodgson (1967) apresentou ainda a variedade Natal, como possível mutação da Valência e a laranjeira Lima como origem de outros variantes também de baixa acidez, como a ‘Piralima’.

Também a laranjeira ‘Pêra’, de origem incerta, é citada como sendo a origem da ‘Lima Verde’, de baixa acidez, e de diferentes clones variantes por mutações somáticas, como os clones: ‘Olímpia’, ‘Bianchi’, ‘Ipiguá’, ‘GS-2000’, entre outros tantos, os quais apresentam diferenças de comportamento, forma, maturação e de produtividade.

Domingues et al. (1995e) apresentaram a importância das mutações espontâneas para a diversificação intra-específica de laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, quando discutiram entre outros casos, o da variedade Cipó, que apresenta diferenças de vigor da planta e hábito de crescimento e da laranjeira Imperial que apresenta variegações de cor e forma de frutos e folhas. Estas estudadas mais detalhadamente na presente pesquisa, são exemplos claros de mutações somáticas, e ainda podem ser citadas a ‘Hamlin Variegada’ e ‘Valência Variegada’, com evidências visuais das mutações na variação na cor das folhas e frutos.

No presente trabalho observou-se ainda diversas variedades de frutos sem “umbigo”, apresentando elevada frequência de frutos com “umbigo”, destas, destacaram-se a ‘Sangüínea de Piracicaba’, ‘Caipira Comum’, ‘Caipira-DAC’, ‘Pêra de Abril’ e ‘Seleta Branca’, esta última, curiosamente, teria sido originada da variedade ‘Seleta’, a mesma que originou a ‘Bahia’ (Hodgson, 1967). Ainda foram observados ramos de folhas variegadas em algumas plantas, consideradas previamente sem variação. Estes dados são indicativos da instabilidade somática

Figura 20. Fotos ilustrativas do polimorfismo morfológico em laranja doce (1995 a 1997): árvores das variedades Lanceta Barão (a), Pêra (b), Cipó (c); folhas das variedades Lima (d), Baiana Retiro (e), Cametá (f), Diva (g), Lanceta Barão (h) e Imperial (i); flores da variedade Lima (j); e frutos das variedades Cametá (k), Seleta Branca (l), Imperial (m), Sangüínea de mombuca (n), Blood Oval (o) e Pêra Comprida (p).

existente em variedades de laranja doce, a qual gera tecidos geneticamente distintos numa mesma planta, os quais podem ser perpetuados pela enxertia.

Pelo exposto, pode-se pressupor então que parte das 44 variedades estudadas no presente trabalho, e que são representativas dos principais grupos de variedades da espécie, teve origem de mutação somática. Estes dados concordam com a citação de Cameron & Frost (1968) de que a reprodução pela embrião nucelar, em grupos homogêneos e poliembriônicos, como é o caso de laranja doce, preservou durante o processo evolutivo qualquer heterozigosidade originadas por hibridação ou mutação.

No entanto a maioria das mutações somáticas são de difícil percepção pois nem sempre são reconhecíveis no fenótipo, sendo necessários estudos com isoenzimas e marcadores moleculares mais detalhados para constatação. Existem diferentes trabalhos visando estudar a variabilidade em citros utilizando esta técnica (como Torres et al., 1978 e 1982; Ballve et al., 1991, 1995). Outros tem utilizando a associação deste método com o uso de RFLP, inclusive para a construção de mapas genéticos de citros (Roose, 1988; Durhan et al., 1992; Jarrel et al., 1992). Estes diferentes métodos têm reforçado ainda mais a hipótese de que as variedades de laranja doce foram originadas espontaneamente por mutações somáticas, devido ao baixo polimorfismo encontrado dentro da espécie que, apesar de heterozigota, apresenta variedades bastante diversas fenotipicamente mas muito assemelhadas geneticamente.

4.10 Avaliação do polimorfismo de isoenzimas entre variedades de laranja doce

Ballve et al. (1991) estudaram 12 sistemas isoenzimáticos em citros e observaram que tanto folhas de plantas adultas e de “seedlings” em diferentes estágios, como cotilédones eram adequados para este estudo e não apresentaram diferenças nos padrões isoenzimáticos; no entanto, para a detecção de híbridos a

retirada de tecido de reserva dos cotilédones diminuía a sobrevivência dos “seedlings” e portanto julgaram as folhas destes como ideais na identificação de híbridos.

Além de avaliar o polimorfismo entre os diferentes acessos de laranja doce, a presente pesquisa visou ainda avaliar diferentes tecidos vegetais para análise isoenzimática, em programas futuros de melhoramento. No presente trabalho, os cotilédones e as folhas adultas jovens (terceira do ápice para a base do ramo) permitiram bons resultados, porém com padrões isoenzimáticos distintos entre si. Tecidos dos cotilédones, em geral permitiram maior número de bandas (geralmente monomórficas) de menor nitidez que as folhas. Os cotilédones apresentaram ainda maior dificuldade de maceração que as folhas.

O sistema álcool-desidrogenase (ADH) utilizado não apresentou boa resolução de bandas para os genótipos testados usando cotilédones ou folhas jovens como amostra. A Figura 21, apresenta as bandas de maior visibilidade obtidas para variedades de laranja doce, por meio de cotilédones, em cinco sistemas isoenzimáticos e respectivas mobilidades relativas - Rfs). Segundo dados apresentados por Roose (1988), não se conhece ao certo o número de locos para a enzima peroxidase (PRX) em citros. Na análise da PRX catódica foram observadas duas bandas utilizando-se cotilédone como amostra (Rfs -7 e -15). Na porção anódica do gel foram observadas duas bandas nas amostras de cotilédones (Rfs 33 e 37). A esterase (EST) que apresenta 2 locos para citros (Roose, 1988), apresentou muitas bandas de baixa resolução, aproximadamente uma dezena, aparentemente de baixo ou nenhum polimorfismo para as variedades estudadas, a banda de maior nitidez foi observada próxima ao fronte de corrida no gel analisando-se cotilédones (RF 71). A enzima (GOT) apresenta possivelmente 3 locos para citros (Roose, 1988). Nesse sistema, utilizado apenas para o estudo de cotilédones, foram observadas 3 bandas (Rfs 4, 17 e 41). A (ACP) apresenta 1 loco para citros (Roose, 1988). Nesse sistema foi observada uma banda para cotilédones (Rf 13). A enzima (MDH) apresenta 2 locos em citros (Roose, 1988). Pelo sistema MDH foram observadas na análise de cotilédones 9 bandas (Rf 3 a Rf 59) (Figura 21).

Figura 21. Ilustração esquemática dos zimogramas dos sistemas PRX, ACP, GOT, EST (parcial) e MDH, para cotilédones de 14 variedades de laranja doce. Lab. de Gen. Ecol., ESALQ/USP, dez.1996.

Figura 22. Ilustração esquemática dos zimogramas dos sistemas PRX, ACP e MDH, para folhas adultas jovens de 44 variedades de laranja doce. Lab. de Gen. Ecol., ESALQ/USP, fev.1997.

A Figura 22, apresenta esquemas dos zimogramas obtidos e as bandas de maior visibilidade para variedades de laranja doce por meio de folhas adultas jovens em três sistemas isoenzimáticos e as respectivas mobilidades relativas - Rfs. Na análise da PRX catódica foram observadas duas bandas nas amostras de folhas (Rfs -6 e -10). Na porção anódica do gel foi observada uma banda para folhas (Rf 36). Na análise da esterase foi observada aproximadamente uma dezena de bandas de resolução de baixa nitidez e aparentemente de baixo ou nenhum polimorfismo. No sistema ACP foram observadas 5 bandas para folhas (Rfs 12 a 21). Pelo sistema MDH foram observadas 3 bandas na análise de folhas (Rfs 48 a 57) (Figura 22).

Segundo Roose (1988), Alfenas et al. (1991) e Ferreira & Grattapaglia (1995) a confiabilidade da análise de isoenzimas depende da prática do técnico, do genótipo e tecido amostrado e do sistema enzimático usado. Aqueles autores recomendam a escolha de sistemas enzimáticos com o modo de herança definida e menos influenciada por fatores ambientais, como é o caso da maioria das enzimas de metabolismo intermediário, mas não é o caso de muitas outras enzimas como a peroxidases, esterases e fosfatases, as quais são especificadas por diversos genes e são frequentemente sujeitas a modificações pós-tradução. Os pesquisadores que usam estes sistemas devem assegurar que os padrões de herança são claros ao interpretar os resultados como variações alélicas. No presente trabalho foi resolvido avaliar os zimogramas quanto a presença ou ausência de bandas, sem levar em consideração o número de genes ou de locos originados, uma vez que o polimorfismo observado nas variedades de laranja doce foi baixo e não haviam progênes para o estudo de possíveis segregações.

No presente estudo observou-se uma predominância de bandas monomórficas para as variedades analisadas pelos diferentes sistemas enzimáticos, tanto utilizando-se cotilédones como folhas nas análises. A Tabela 47 e a Figura 23, trazem matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard e dendrograma pelo método UPGMA, obtidos para 14 variedades de laranja doce estudadas usando-se cotilédone como amostra. As variedades Lima, Washington Navel, Pêra Rio, Natal,

Tabela 47. Matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard, para o polimorfismo encontrado entre 14 variedades de laranja doce usando sistemas isoenzimáticos em cotilédones.

Variedades	Lima	Wash. Navel	Lanceta Barão	Seleta Branca	Hamlin	Rubi Blood	Cipó	Caipira	Lamb's Summer	Perão	Pêra Rio	Pêra Ipiguá	Valência Late	Natal
Lima	1,00													
Wash. Navel	0,94	1,00												
Lanc. Barão	0,76	0,82	1,00											
Sel. Branca	0,82	0,88	0,81	1,00										
Hamlin	0,71	0,76	0,69	0,75	1,00									
Rubi Blood	0,63	0,59	0,60	0,56	0,77	1,00								
Cipó	0,75	0,71	0,63	0,69	0,92	0,83	1,00							
Caipira	0,88	0,94	0,76	0,82	0,71	0,63	0,65	1,00						
Lambsummer	0,82	0,88	0,71	0,76	0,87	0,67	0,80	0,82	1,00					
Perão	0,76	0,82	0,75	0,71	0,80	0,71	0,73	0,76	0,93	1,00				
Pêra Rio	0,88	0,94	0,88	0,94	0,81	0,63	0,75	0,88	0,82	0,76	1,00			
Pêra Ipiguá	0,81	0,76	0,80	0,87	0,63	0,64	0,67	0,71	0,65	0,69	0,81	1,00		
Valên. Late	0,71	0,76	0,69	0,75	0,63	0,44	0,56	0,71	0,65	0,59	0,81	0,63	1,00	
Natal	0,88	0,94	0,88	0,94	0,81	0,63	0,75	0,88	0,82	0,76	1,00	0,81	0,81	1,00

Figura 23. Dendrograma de similaridade para 14 variedades de laranja doce avaliadas através do estudo de isoenzimas em cotilédones. A matriz de similaridade foi realizada pelo coeficiente de Jaccard e método de agrupamento foi o UPGMA.

Seleta Branca e Caipira, mostraram-se mais semelhantes, enquanto que a Hamlin, Cipó e Rubi Blood, as mais distantes.

A Tabela 48 e a Figura 24, trazem matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard e dendrograma pelo método UPGMA, obtidos para 44 variedades de laranja doce estudadas, usando-se folha como amostra. A maioria dos acessos estudados mostrou-se semelhante, e com baixo polimorfismo intervarietal pelos sistemas de isoenzimas empregados. As variedades Imperial, Cipó, Lima Lisa, Lima, Seleta Vermelha, Hamlin e Caipira, foram as que apresentaram maior polimorfismo em relação aos grupos homogêneos predominantes. A Figura 27, apresenta fotos ilustrativas dos zimogramas obtidos pelo estudo de isoenzimas.

Os resultados obtidos, utilizando-se cotilédones e folhas, apresentaram concordância com relação às variedades Hamlin e Cipó, que se mostraram entre as mais distantes, em relação à maioria dos acessos de laranja doce estudados. Como as variedades, aqui estudadas, apresentam de média à elevada poliembrião (Tabela 17), é de se esperar que os zimogramas obtidos usando cotilédones representem o genótipo da planta mãe, mas pode ocorrer de um embrião zigótico interferir nos resultados, o que explicaria possíveis discordâncias entre os resultados obtidos com os dois tipos de tecidos vegetais. Para efeito de comparar o polimorfismo morfológico, previamente obtido, com o polimorfismo isoenzimático entre as variedades, a presente pesquisa considerou apenas o resultado obtido com tecido foliar. O essencial do presente estudo no entanto foi a confirmação do baixo polimorfismo intra-específico em laranja doce. Estes resultados estão de acordo com Torres et al. (1982), os quais testaram 5 sistemas enzimáticos em diferentes espécies de *Citrus* e *P. trifoliata*, e encontraram polimorfismo significativo entre e dentro de espécies, porém pouca variação para alguns dos 19 genótipos de laranja doce que avaliaram, a qual foi considerada muito baixa e inferior ao observado, por exemplo, em tangerinas.

Chapot (1975) ressaltou que as plantas de *Citrus* experimentam mutações somáticas frequentemente nos ramos e, embora possa originar genótipos

Tabela 48. Matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard, para o polimorfismo encontrado entre 44 variedades de laranja doce usando sistemas isoenzimáticos em folhas adultas jovens.

[illegible]

Figura 24. Dendrograma de similaridade para 44 variedades de laranja doce avaliadas pelo estudo de isoenzimas em folhas adultas jovens, utilizando-se o coeficiente de Jaccard e método de agrupamento UPGMA.

inferiores, possui grande importância comercial porque são fonte de cultivares novos e superiores. Este autor citou como exemplo a variedade Wasington Navel (Bahia), que após sua origem no Brasil também por mutação somática, possivelmente da 'Seleta', gerou as variedades Golden Buckeye, Golden Nugget, Thomson, Robertson, Navelina, Carter, Atwood, Gilette, Surprise, Navelate, Navelencia, com diferenças de época de maturação, textura e cor de casca. No Brasil a 'Bahia' também originou variedades e cultivares, sendo a principal a Baianinha. Também ocorrem casos de mutações reversas, onde a variedade originada gera novamente plantas idênticas à variedade de origem, o que se observa em Baianinha e, como citado por Chapot (1975), na variedade Beladi que após originar a variedade Shamouti e desta foi obtida planta idêntica a Beladi. Estes relatos confirmam portanto a instabilidade mitótica e o surgimento de quimerismo nas plantas de citros. Shamel (1943) indicou uma frequência de mutantes somáticos das laranjeiras 'Washington Navel', 'Valência' e limão 'Eureka', variando de 10 a 75%, dependendo do pomar. Bowman⁷⁰ et al., citados por Liou (1990), observaram uma frequência de 0,04 a 0,27% de frutos quiméricos em diversas variedades na Flórida. Liou (1990) sugeriu a possibilidade desta instabilidade genética em citros ser originada pela presença de transposons, após mapeamento genético em *Citrus* usando RFLP e isoenzimas.

Na presente pesquisa, foram detectados polimorfismos morfológico e agrônomo significativos entre 44 acessos de laranja doce, as vezes, no entanto, foi possível agrupar lado a lado clones de uma mesma variedade. Devido ao efeito ambiental, estes resultados não puderam ser conclusivos quanto à proximidade genética destes genótipos. No presente trabalho notou-se um baixo polimorfismo isoenzimático, entre alguns dos 44 acessos avaliados, o que confirma as diferentes referências bibliográficas que citam a ocorrência frequente das mutações somáticas em laranja doce (Hodgson, 1967; Soost & Cameron, 1975; Chapot, 1975; Domingues et al. 1995e); como a presente pesquisa incluiu variedades representativas dos

⁷⁰ BOWMAN, K.D.; GMITTER, F.G. Jr; MOORE, G.A. Natural fruit chimeras as a resource for *Citrus* cultivar development (Abstract). ASHS Annual Meeting/ Program and Abstracts. 1989. p.139

principais grupos de laranja doce as mutações somáticas devem ser, portanto, a principal fonte de variabilidade intra-específica em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.

4.11 Avaliação do polimorfismo de RAPD entre variedades de laranja doce

Dos mais de 140 “primers” testados, foram pré-selecionados com o “Mix”-A os “primers”: A1, A2, A4; B7, B17; C5, C6, C7, C8, C11, C13, C14; J1, J4, J6, J10, J13, J15, J19; R2, R3, R7, R8, R12, R13, R14, R15, R19, R20; U1, U2, U7, U8, U10, U12, U13, U14, U15, U18, U19, U20 e AV3, AV9, AV16, AV17. Após o teste com os 5 “mix” de DNA restaram os “primers”: A1, A2, A4, B7, B17, C6, C11, C13, C14, J13, J19, R7, R8, U1, U2, U12, U15, U18, U19, U20. Destes, 13 geraram 104 bandas para doze das variedades testadas, sendo 55 monomórficas e 49 polimórficas. Estes “primers” foram A1, A4, B7, B17, C6, C11, C14, J19, U12, U18, U19, AV9 e AV17 (Tabelas 49 e 50). A Tabela 49 apresenta as bandas polimórficas encontradas para doze das variedades de laranja doce testadas e os respectivos pesos moleculares das sequências de DNA separadas em gel de agarose. O peso molecular das 49 bandas polimórficas encontradas variaram de 359 pb a 5628 pb, sendo que de 359 pb a 506 pb foram encontradas 6 bandas, entre 507 pb e 1018 pb foram 22 bandas, entre 1019 pb e 2036 pb foram 15 bandas, entre 2037 pb e 4072 pb foram 4 bandas e, entre 4073 pb e 5628 pb, foram observadas apenas duas bandas polimórficas.

A Tabela 51, traz a matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard, para o polimorfismo detectado pela presença e ausência de bandas de RAPD para doze variedades de laranja doce, após amplificação do DNA com 13 iniciadores ou “primers”. A Figura 25, apresenta o dendrograma de similaridade, pelo método UPGMA, para as 12 variedades, pelos 13 “primers” de RAPD testados. Dentre as variedades, a Hamlin se apresentou mais distinta geneticamente, seguida da ‘Lanceta Barão’ e ‘Westin’; estas foram seguidas pela ‘Cipó’, ‘Pêra Ipiguá’, ‘Lima’ e ‘Baianinha Piracicaba’. As menos polimórficas foram a ‘Seleta Branca’, ‘Natal’,

Tabela 49. Bandas polimórficas encontradas e respectivos pesos moleculares para os “primers” de RAPD testados em 12 variedades de laranja doce no Laboratório de Biotecnologia do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC

Banda polimórf	PM	Variedades testadas											
		Lima	Baianinha Piracicaba	Lanceta Barão	Diva	Seleta Branca	Hamlin	Rubi Blood	Cipó	Westin	Caipira DAC	Ipiguá	Natal
A1-b	1771	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
A1-f	359	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
A4-c	1340	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
A4-d	1152	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
A4-e	963	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
B7-c	1501	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
B7-e	872	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
B7-f	807	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
B17-a	2169	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B17-b	1940	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
B17-c	1558	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1
B17-d	1364	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1
B17-h	792	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1
B17-i	704	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1
C6-f	615	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
C11-b	1415	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C11-e	982	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1
C11-f	730	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C11-g	625	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C14-c	1629	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
J19-e	715	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
J19-f	641	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
U12-f	766	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
U12-g	620	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
U18-e	816	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
U18-f	668	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
U18-g	529	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
U18-h	481	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
U18-i	377	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1
U19-c	2410	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
U19-g	901	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
U19-j	375	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
AV9-b	1470	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
AV9-c	1250	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
AV9-g	679	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
AV9-h	566	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
AV9-i	505	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
AV17-a	5628	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
AV17-b	4821	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
AV17-c	2711	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
AV17-d	2407	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1
AV17-e	2027	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
AV17-f	1795	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
AV17-g	1622	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
AV17-i	1023	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
AV17-j	839	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
AV17-k	761	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
AV17-l	679	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
AV17-m	468	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1

¹ 1 significa presença e 0 ausência.

Tabela 50. Nomes e seqüências dos “primers” de RAPD que apresentaram polimorfismo para 12 variedades de laranjas doces e o total de bandas de maior visibilidade e destas as que se apresentaram monomórficas e polimórficas¹.

Primer	Seqüência (5'-3')	Número de Total	Bandas Monomórficas	Bandas polimórficas
OPA-01	CAGGCCCTTC	6	4	2
OPA-04	AATCGGGCTG	6	3	3
OPB-07	GGTGACGCAG	6	3	3
OPB-17	AGGGAACGAG	9	3	6
OPC-06	GAACGGACTC	7	6	1
OPC-11	AAAGCTGCGG	8	4	4
OPC-14	TGCGTGCTTG	4	3	1
OPJ-19	GGACACCACT	8	6	2
OPU-12	TCACCAGCCA	8	6	2
OPU-18	GAGGTCCACA	9	4	5
OPU-19	GTCAGTGCGG	10	7	3
OPAV-09	GAGGTCCTAC	10	5	5
OPAV-17	CTCGAACCCC	13	1	12
Total		104	55	49

¹ Análises realizadas no Laboratório de Biotecnologia do CCSM/IAC, Cordeirópolis, SP.

Tabela 51. Matriz de similaridade obtida para o polimorfismo encontrado entre doze variedades de laranja doce através da utilização de 13 “primers” de RAPD.

	Lima	Baian. Pirac.	Lanc. Barão	Diva	Seleta Branca	Hamlin	Rubi Blood	Cipó	Westin	Caipira DAC	Ipiguá	Natal
Lima	1,000											
Baininha Pirac.	0,878	1,000										
Lanceta Barão	0,876	0,818	1,000									
Diva	0,908	0,888	0,830	1,000								
Seleta Branca	0,949	0,929	0,870	0,959	1,000							
Hamlin	0,813	0,737	0,735	0,768	0,808	1,000						
Rubi Blood	0,928	0,927	0,867	0,918	0,959	0,786	1,000					
Cipó	0,856	0,914	0,796	0,926	0,888	0,714	0,926	1,000				
Westin	0,806	0,862	0,713	0,874	0,838	0,667	0,835	0,900	1,000			
Caipira-DAC	0,918	0,878	0,820	0,989	0,949	0,758	0,908	0,915	0,883	1,000		
Ipiguá	0,901	0,881	0,880	0,911	0,950	0,765	0,911	0,842	0,794	0,901	1,000	
Natal	0,909	0,948	0,832	0,919	0,960	0,770	0,919	0,906	0,856	0,909	0,912	1,000

Tabela 52. Matriz de distâncias Euclidianas obtida para o polimorfismo morfológico entre doze variedades de laranjas doces através de 47 caracteres avaliados quantitativamente.¹

Variedades	Lima	Baia. Pirac.	Lanc. Barão	Diva	Seleta Branca	Hamlin	Rubi Blood	Cipó	Westin	Caipira DAC	Ipiguá	Natal
Lima	0,00	9,03	9,74	7,73	11,29	7,18	9,34	8,59	9,80	8,80	10,49	9,25
Baininha Pirac.	9,03	0,00	11,38	7,20	9,89	6,99	7,02	9,80	7,83	9,12	10,85	9,60
Lanceta Barão	9,74	11,38	0,00	11,04	14,84	10,92	11,98	10,53	11,46	8,99	9,98	11,52
Diva	7,73	7,20	11,04	0,00	9,09	5,31	7,99	10,52	7,41	7,49	8,75	6,89
Seleta Branca	11,29	9,89	14,84	9,09	0,00	9,00	10,44	10,35	11,58	10,63	13,86	12,15
Hamlin	7,18	6,99	10,92	5,31	9,00	0,00	5,69	10,05	6,28	7,70	8,53	6,82
Rubi Blood	9,34	7,02	11,98	7,99	10,44	5,69	0,00	10,31	6,77	7,87	9,68	8,28
Cipó	8,59	9,80	10,53	10,52	10,35	10,05	10,31	0,00	11,75	9,72	12,32	11,69
Westin	9,80	7,83	11,46	7,41	11,58	6,28	6,77	11,75	0,00	8,57	8,90	7,14
Caipira-DAC	8,80	9,12	8,99	7,49	10,63	7,70	7,87	9,72	8,57	0,00	7,98	7,59
Ipiguá	10,49	10,85	9,98	8,75	13,86	8,53	9,68	12,32	8,90	7,98	0,00	5,38
Natal	9,25	9,60	11,52	6,89	12,15	6,82	8,28	11,69	7,14	7,59	5,38	0,00

¹ Segundo Domingues et al. (1998c).

‘Diva’ e ‘Caipira-DAC’. A Figura 27, apresenta fotos ilustrativas de equipamentos e de resultados obtidos com a técnica RAPD no Laboratório de Biotecnologia do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC.

A Tabela 52, traz a matriz de distâncias Euclidianas obtida pelo método UPGMA, para o polimorfismo morfológico de planta, folha, flor e fruto das 12 variedades estudadas no presente trabalho. Os resultados mostraram que a ‘Lanceta Barão’, ‘Seleta Branca’, ‘Cipó’ e ‘Lima’ foram as mais distintas. Agrupando-se as doze variedades estudadas no presente estudo de RAPD, pelos dados padronizados foram obtidos 4 grupos à distância Euclidiana igual a 9, apresentados, em ordem crescente de similaridade: ‘Seleta Branca’, ‘Lanceta Barão’, ‘Lima’ e ‘Cipó’; e o quarto grupo formado pelas demais variedades. Pelos escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, foram separados 5 grupos distintos à distância euclidiana igual a 7,7. Os quais são os seguintes em ordem crescente de similaridade: ‘Lanceta Barão’, ‘Seleta Branca’, ‘Cipó’, ‘Lima’ e o último grupo formado pelas demais variedades. A partir destas observações pode-se notar que houve boa concordância entre os dois métodos de agrupamento pelos dados originais padronizados e pelos escores dos componentes principais (Figura 26).

Quando confrontou-se estes dados com os obtidos por meio dos “primers” de RAPD notou-se, como principais pontos em discordância, que a variedade Hamlin apresentou-se a mais distinta pelo estudo de RAPD mas uma das mais similares pelo estudo morfológico, já a Seleta Branca mostrou elevada similaridade pelo estudo de RAPD, porém apresentou-se como uma das mais distantes morfológicamente dentre as variedades estudadas. E comparando com os resultados obtidos por meio do estudo de isoenzimas, encontrou-se as variedades Cipó e Lima como as mais distintas nos três métodos utilizados e a ‘Hamlin’, embora não tenha sido separada pela morfologia, o foi pelos métodos de isoenzimas e RAPD. Vilarinhos⁷¹ et al. (1996) observou baixo polimorfismo entre variedades de laranja

⁷¹ VILARINHOS, A.D. (CNPMP/ EMBRAPA. Cruz das Almas, BA). Comunicação pessoal. dez.. 1996.

doce utilizando os ‘primers’ B3, B5, B8, B14 e B15 da Operon, no presente trabalho dois dos “primers” a detectar polimorfismo foram do “Kit” B da Operon (B7 e B17).

Em trabalho de Targon⁷² et al. (1997) foi observado que o estudo de RAPD, para a espécie de laranja doce, traz poucos avanços na caracterização molecular das variedades desta espécie, naquele trabalho não foi encontrado dentre os “kits” K, M, AT, Q e N da Operon, primer capaz de detectar polimorfismo entre variedades. O presente trabalho, que foi uma continuação daquele, encontrou entre outros 140 “primers” da Operon, 13 capazes de detectar polimorfismo; os resultados são insuficientes, no entanto, para considerar a técnica de RAPD usada, eficiente para a caracterização molecular e reconhecimento de variedades desta espécie, uma vez que muitos trabalhos apontam elevada frequência de mutações somáticas em laranja doce (Hodgson, 1967; Cameron & Frost, 1968; Soost & Cameron, 1975; Domingues et al., 1995e). Devido existirem poucos trabalhos demonstrando polimorfismo de RAPD entre variedades de laranja doce, a presente pesquisa não pretende ressaltar as poucas variedades mais polimórficas e os possíveis marcadores encontrados, uma vez que o principal argumento aqui defendido é justamente o da existência de baixa variabilidade intra-específica em laranja doce.

Os marcadores moleculares têm trazido grande auxílio ao entendimento da genética e da diversidade existente em *Citrus*, porém muitas espécies deste gênero, apesar de heterozigotas e com variedades morfológicamente distintas, apresentam baixo polimorfismo genético distinguível; caso de laranja doce (*C. sinensis*) estudada no presente trabalho, o que vem a reforçar a hipótese de que a principal fonte formadora de variabilidade e de diferenciação das mesmas se deu por meio de mutações somáticas. As novas técnicas de microssatélites parecem despontar como mais promissoras para a seleção prática de variedades e mesmo clones desta espécie (Luro et al., 1992).

Apesar dos dados obtidos pelos caracteres morfológicos serem imprescindíveis, para o reconhecimento da variabilidade fenotípica e do potencial

⁷² TARGON, M.L.N. (Centro de Citricultura Sylvio Moreira, CCSM/IAC). Comunicação pessoal, 1995.

Figura 25. Dendrograma de similaridade para 12 variedades representativas da espécie de laranja doce, avaliadas pelo uso de 13 “primers” em estudo de RAPD, utilizando-se o coeficiente de Jaccard e método de agrupamento UPGMA.

Figura 26. Dendrograma de distância Euclidiana entre 12 variedades representativas da espécie de laranja doce, avaliadas pelo polimorfismo morfológico de planta, folha, flor e fruto pelo método UPGMA.

Figura 27. Fotos ilustrativas de zimogramas obtidos para cotilédones e folhas adultas jovens de variedades de laranja doce pelos sistemas PRX (a, b), MDH (c, d) e ACP (e, f), respectivamente, no Lab. de Gen. Ecol., ESALQ/USP, 1996-1997. Maceração de folha e extração de DNA (g, h), centrífuga utilizada (i), termocicladores (j à m) e cuba (n) utilizados no estudo de RAPD no Lab. de Biotec. do CCSM/IAC, 1995-1997. Quantificação de DNA (o). Baixo polimorfismo observado entre 12 variedades de laranja doce no estudo de RAPD representado pelos "primers" OPC-11 e OPC16 (p), as setas indicam variedades que se mostraram distintas.

genético das culturas em campo, estas dependem normalmente das plantas adultas e de certo controle ambiental para garantir a qualidade dos resultados. Além do fato dos citros serem plantas perenes, poliembrionicas e de ciclo longo o que traz atrasos ao melhoramento da cultura. Segundo Grattapaglia et al. (1992) a análise genética da maioria das espécies arbóreas é dificultada pelo longo tempo de geração e tamanho. Além dos elevados níveis de diversidade genética e o pouco conhecimento do seu modo de herança, o que estimula o avanço dos estudos moleculares.

Como a interferência ambiental decresce à medida que os estudos caminham do polimorfismo morfológico ao molecular, os resultados obtidos na presente pesquisa, elevado polimorfismo intervarietal dos caracteres morfológicos e agronômicos e elevada similaridade isoenzimática e por RAPD, entre os acessos de laranja doce estudados, conclui-se que a variabilidade intra-específica em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck é gerada principalmente pelas mutações somáticas. Provavelmente estas ocorram por meio de pequenas alterações no DNA, de uma ou poucas bases nitrogenadas, pela adição ou deleção; as quais, perpetuadas pela enxertia, podem resultar em grandes diferenças morfológicas, mas de difícil detecção pelas técnicas moleculares aplicadas. Deste modo, e levando-se em consideração a heterozigosidade e esterilidade elevados em laranja doce, sugere-se um maior empenho dos pesquisadores e técnicos que trabalham com *Citrus* na seleção dos mutantes somáticos espontâneos, por meio de maior esclarecimento dos produtores, quanto à importância da perpetuação e estudo de novos genótipos promissores, bem como reforça-se a importância da indução de mutações para o melhoramento da espécie.

5 CONCLUSÕES

5.1 Seleção de clones de laranja ‘Pêra’ e variedades assemelhadas quanto à qualidade do fruto e período de maturação

Todos os clones e variedades apresentaram frutos de boa qualidade, para os caracteres morfológicos avaliados, já a variedade Lamb’s Summer apresentou frutos menores que o ideal.

Cinco componentes principais, com eigen-valores > 1 , representaram 87,89% da variância total estimada por meio de 10 caracteres. Destes os que mais contribuíram na distinção dos genótipos foram acidez, sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), peso, altura e largura de fruto, sólidos solúveis e número de frutos por caixa. Muitos destes apresentaram correlação significativa entre si podendo ser descartados em estudos posteriores.

Pelos escores obtidos por meio da análise dos componentes principais para 10 caracteres, foram separados 6 grupos distintos à distância Euclidiana igual a 5; que em ordem crescente de similaridade, foram: ‘Redonda’; ‘Lamb’s Summer’; ‘Pêra Pirangi’; ‘Ovale’; ‘Corsa Tardia’ e o sexto grupo formado pela ‘Pêra GS-2000’, ‘Ovale San Lio’, ‘Pêra Olímpia’, ‘Pêra Vimusa’, ‘Pêra R.Gullo-1570’, ‘Ovale de Siracusa’, ‘Pêra EEL’, ‘Pêra Premunizada-1212’, ‘Pêra Dibbern’, ‘Pêra R.Gullo-1569’ ‘Pêra Bianchi’ e ‘Pêra Premunizada-1743’.

A partir das curvas de tendência de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), acidez e “ratio” da maturação de frutos, os clones e variedades estudados foram ordenados em seis grupos. A diferença de maturação do primeiro ao último grupo foi de 70 dias. O primeiro grupo (‘Corsa Tardia’) alcançou “ratio” estimado em 14 ao final da primeira semana de outubro; o segundo (‘Ovale’ e ‘Ovale San Lio’) e terceiro grupos (‘Pêra

Vimusa', 'Pêra GS-2000', 'Pêra Bianchi', 'Pêra Dibbern', 'Pêra EEL', 'Pêra Olímpia', 'Pêra Premunizada-1743', 'Ovale de Siracusa') na última semana do mesmo mês, no início e final, respectivamente; o quarto ('Pêra R.Gullo-1569' e 'Pêra R.Gullo-1570') e quinto grupos ('Pêra Premunizada-1212') em meados de novembro; e o último grupo ('Pêra Pirangi', 'Redonda' e 'Lamb's Summer') em meados de dezembro. De modo geral, os genótipos foram ordenados semelhantemente em cada ano de estudo, indicando boa repetibilidade de resultados usando esta técnica.

As variedades que receberam índice 10, isto é, mostraram qualidade semelhante à 'Pêra' nos 10 caracteres avaliados e foram selecionadas são: 'Pêra EEL', 'Pêra GS-2000' e 'Ovale de Siracusa', todas encontram-se no terceiro grupo de maturação.

5.2 Seleção de variedades de laranja doce quanto à qualidade do fruto e período de maturação

Os genótipos apresentaram grande diversidade morfológica para os caracteres de frutos, muitos dos quais se apresentaram dentro das recomendações agrônomicas e poderão ser incluídos em programas de melhoramento.

Os cinco primeiros componentes principais, com eigen-valores > 1 , representaram 94,35% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades foram peso, altura e largura de fruto e número de frutos por caixa; acidez, rendimento de suco e sólidos solúveis/caixa; sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) e "ratio". Muitos destes apresentaram correlação significativa entre si podendo ser descartados futuramente.

Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para as médias originais padronizadas, foram separados 9 grupos distintos à distância Euclidiana igual a 5. Os quais foram em ordem crescente de similaridade: 'Lanceta Barão'; 'Pêra de Abril'; 'Hamlin Reserva'; 'Seleta Branca', 'Washington Navel' e 'Baiana Retiro'; 'Lima Verde', 'Lima Lisa', 'Lima Tardia' e 'Lima'; 'Caipira-DAC',

‘Cametá’ e ‘Do Céu-1’; ‘Pêra sem Sementes’ e ‘Perão’; ‘Baianinha Piracicaba’, ‘Baiana 23-4-60’, ‘Diva’, ‘Hamlin’, ‘Hamlin Variegada’, ‘Sangüínea Mombuca’, ‘Seleta Vermelha’, ‘Caipira Comum’, ‘Cipó’, ‘Non Pareil’, ‘Imperial’, ‘Rubi Blood’, ‘Valência Late’, ‘Valência Variegada’, ‘Sangüínea Piracicaba’, ‘Westin’ e ‘Pele de Moça’; e o nono grupo formado pela ‘Blood Oval’, ‘Pêra Rio’, ‘Lamb’s Summer’, ‘Pêra Ovo’, ‘Natal’, ‘Pêra Mel’, ‘Pêra C.V.’, ‘Pêra Caire’, ‘Natal Bebedouro’, ‘Pêra Coroada’, ‘Pêra Comprida’ e ‘Pêra Ipiгуá’.

Foi obtido dendrograma, adotando-se como separatriz o nível 3,5 de distância, obtendo-se 9 grupos de maturação, os quais foram ordenados dos de menor acidez média aos de maior acidez média, ao início das análises: o primeiro foi representado pela ‘Lima’, ‘Lima Verde’, ‘Lima Lisa’ e ‘Lima Tardia’; ‘Pêra de Abril’; ‘Cametá’ e ‘Do Céu-1’; ‘Lanceta Barão’, ‘Westin’, ‘Washington Navel’, ‘Baiana Retiro’ e ‘Baianinha 23-4-60’; ‘Baianinha Piracicaba’, ‘Seleta Branca’, ‘Seleta Vermelha’, ‘Hamlin’, ‘Pêra Mel’, ‘Imperial’, ‘Cipó’, ‘Hamlin Variegada’, ‘Caipira Comum’, ‘Non Pareil’, ‘Hamlin Reserva’, ‘Sangüínea Mombuca’ e ‘Caipira-DAC’; ‘Blood Oval’; ‘Diva’, ‘Rubi Blood’, ‘Pêra Rio’, ‘Pêra Caire’, ‘Lamb’s Summer’, ‘Pêra Comprida’, ‘Valência Late’, ‘Valência Variegada’, ‘Natal Bebedouro’, ‘Pêra sem Sementes’, ‘Perão’, ‘Sangüínea Piracicaba’, ‘Pele de Moça’, ‘Pêra Coroada’, ‘Pêra Ovo’ e ‘Pêra C.V.’; ‘Pêra Ipiгуá’; ‘Natal’. De modo geral, os genótipos foram ordenados semelhantemente em cada ano de estudo, indicando boa repetibilidade de resultados usando esta técnica.

As variedades que apresentaram médias dentro dos intervalos adotados como “ideais” para a laranja doce (índice 10) e foram selecionadas como superiores para os caracteres estudados, são: ‘Westin’ (grupo de maturação 4); ‘Seleta Vermelha’, ‘Hamlin’, ‘Cipó’, ‘Non Pareil’, ‘Caipira Comum’ (grupo de maturação 5), ‘Rubi Blood’, ‘Perão’, ‘Pêra Rio’, ‘Pêra Caire’, ‘Valência Late’ e ‘Valência Variegada’ (grupo de maturação 7).

5.3 Poliembrionia em clones de laranja Pêra e variedades assemelhadas

A taxa de germinação de sementes das variedades estudadas foi inferior a 50%, com exceção da 'Pêra Vimusa'.

O número de embriões, observados na semente foi sempre superior ao número de embriões por semente germinada, indicando a maior eficiência na determinação da poliembrionia pelo primeiro método, uma vez que nas germinações a diferença de vigor entre os embriões e a competição entre os mesmos interfere na avaliação.

Todas as variedades estudadas apresentaram de média a elevada taxa de poliembrionia.

5.4 Estudo da poliembrionia em 44 variedades de laranja doce

A maioria das variedades estudadas apresentou de média a elevada poliembrionia para os três métodos de estudo utilizados.

Foi encontrada uma variedade, a Pêra de Abril, que apresentou-se monoembriônica, para os três métodos de contagem de embriões utilizados e que pode vir a adquirir grande importância em programas de estudos genéticos e de melhoramento por hibridação de laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.

O método de contagem dos embriões diretamente nas sementes superou o de contagem de embriões de sementes germinadas *in vitro*, o qual superou o de contagem de embriões de sementes germinadas em telado, na eficiência da determinação do grau de poliembrionia nas variedades de laranja doce.

A germinação de sementes *in vitro* mostrou-se recomendável para programas de melhoramento, onde visa-se a obtenção de um número máximo de embriões zigóticos, os quais terão maior chance de germinação e de desenvolvimento, em comparação com a germinação em telado.

5.4.1 Pêra de Abril, uma variedade de laranja doce monoembriônica.

Foram obtidas progênies da variedade Pêra de Abril, sob polinização aberta em banco de germoplasma. O polimorfismo dos “seedlings” foi confirmado pelo polimorfismo morfológico, inclusive com plantas apresentando o caracter trifoliado, e pelo polimorfismo isoenzimático.

Foi observada a ocorrência de 14,8% de “seedlings” com deficiência de clorofila; as quais apresentaram crescimento lento e clorose do broto apical, a qual induzia a morte ou o perfilhamento lateral da planta, em telado e *in vitro*. O que deve ser devido à depressão por endogamia em “seedlings” gerados por auto-fecundação.

5.5 Estudo da viabilidade de pólen em clones de laranja Pêra e outras variedades assemelhadas

Existe variabilidade no percentual de pólen viável encontrado para os diferentes clones de laranja Pêra estudados, mas a amplitude de variação foi maior entre as variedades estudadas.

Não foi encontrada correlação significativa entre o percentual de pólen viável com a produção de frutos por planta, grau de poliembria observada nas sementes, nem com o número de sementes produzidos por fruto.

Para utilização como parental masculino em programas de melhoramento a maioria dos genótipos estudados mostrou-se adequada, exceto a variedade Ovale de Siracusa a qual praticamente não produziu pólen.

5.6 Viabilidade do pólen em variedades de laranja doce

Existe grande variabilidade entre as variedades de laranja doce estudadas quanto à viabilidade do pólen. Das 44 variedades, as laranjas de “umbigo” (tipo Baiana) não apresentaram pólen nas anteras, 13 apresentaram baixa, 16 média e 11 elevada viabilidade de pólen.

Excetuando-se as laranjas de “umbigo”, as demais podem ser utilizadas como doadoras de pólen para programas de melhoramento genético, embora sejam recomendadas as de média a elevada viabilidade de pólen para esta finalidade. Há necessidade de estudo mais profundo quanto à fertilidade gamética e compatibilidade entre possíveis parentais.

As variedades ‘Pêra’, ‘Natal’ e ‘Valência’, de maior importância econômica no Estado de São Paulo possuem predominantemente baixa viabilidade de pólen.

Foi observada correlação entre o percentual de pólen viável e o número de sementes por fruto (+0,65). Este resultado é um importante indicativo da existência de correlação positiva entre o nível de fertilidade masculina com a fertilidade feminina.

5.7 Influência da polinização e da morfologia floral na frutificação de variedades de laranja doce

Como tendência geral observou-se que a polinização foi necessária para a fixação de frutos em laranja doce. A fixação dos frutos foi maior quando a polinização foi aberta ou cruzada com o tangelo Minneola e, semelhante, quando as flores foram auto-polinizadas ou cruzadas com o citrange Troyer.

As variedades de laranja de “umbigo” (tipo ‘Bahia’) citadas como formadoras de frutos por partenocarpia parecem ser dependentes de polinização para maior taxa de fixação de frutos, uma vez que não foi observado, tanto para estas variedades como para as demais (exceção feita à ‘Pêra Ovo’), a fixação de frutos sem a presença de pólen.

A polinização aberta e a cruzada foram as que determinaram maior fixação de frutos e, quando sob polinização aberta, a fixação de frutos foi maior quando os estigmas estiveram mais expostos e acima das anteras. Estes resultados

reforçam a tese de que a auto-esterilidade seja mais comum em *Citrus sinensis*, que a esterilidade cruzada, e que a alogamia seja predominante em relação a autogamia.

5.8 Caracterização morfológica de 11 clones de laranja Pêra e 6 variedades assemelhadas

Pelas correlações entre os caracteres estudados observou-se que, de um modo geral, as plantas com maior desenvolvimento vegetativo, apresentando as lâminas foliares mais largas, pecíolos mais curtos e mais alados, são as que produzem flores e frutos maiores e em maior quantidade. Estes frutos apresentam casca menos espessa, menores teores de acidez e de sólidos solúveis (°Brix) e menor número de sementes, menores e mais estreitas.

Quatro componentes principais, com eigen-valores > 1 , representaram 62,20% da variância total. Os caracteres que mais contribuíram na distinção das variedades foram altura de planta, largura, altura e volume de copa, circunferência do tronco 10 cm acima e abaixo do ponto de enxertia, comprimento do botão e da pétala, comprimento dos estames, peso de fruto, diâmetro de endocarpo, número de sementes, percentual de acidez e sólidos solúveis (°Brix) médios de junho a dezembro; largura da lâmina foliar, comprimento de folha, comprimento do pecíolo, largura da asa do pecíolo e número de gomos; diâmetro do “umbigo”; produção média em 8 anos e posição das anteras em relação ao estigma.

Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para os escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, foram separados 7 grupos distintos à distância euclidiana igual a 5,65, os quais foram: ‘Pêra Premunizada-1212’; ‘Ovale’; ‘Lamb’s Summer’; ‘Redonda’; ‘Ovale San Lio’; ‘Pêra R.Gullo-1570’ e o sétimo grupo formado pela ‘Pêra’, clones: ‘Vimusa’, ‘GS-2000’, ‘Olímpia’, ‘R.Gullo-1569’, ‘Pirangi’, ‘Premunizada-1743’, ‘Bianchi’, ‘EEL’, ‘Dibbern’ e variedades Ovale de Siracusa e Corsa Tardia.

5.9 Caracterização morfológica de 44 variedades de laranja doce

As 44 variedades de laranja doce estudadas mostraram grande variabilidade fenotípica, para os 76 caracteres estudados, sendo que foi encontrada maior variabilidade para os caracteres medidos quantitativamente, muitos dos quais de interesse agrônomo.

Seis componentes principais, com eigen-valores > 1 , representaram 66,45% da variância total. Sendo que os caracteres que contribuíram com valores $\geq |0,7|$ nos primeiros componentes, foram: comprimento e largura de botão, largura de pétala, largura e peso de fruto, diâmetro de columela e de endocarpo; e teor de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$).

Por meio da análise de agrupamento, utilizando a técnica UPGMA, para os dados quantitativos padronizados foram obtidos 7 grupos à distância Euclidiana igual a 10, apresentados, em ordem crescente de similaridade: ‘Pêra de Abril’; ‘Hamlin Reserva’; ‘Baiana Retiro’, Washington Navel’ e ‘Baianinha Piracicaba’; ‘Cametá’; ‘Lanceta Barão’; ‘Seleta Branca’; e as demais variedades. Para os escores obtidos por meio da análise dos componentes principais, foram separados 9 grupos distintos à distância euclidiana igual a 8,1. Os quais são os seguintes em ordem crescente de similaridade: ‘Baiana Retiro’; ‘Cametá’; ‘Pêra de Abril’; ‘Seleta Branca’; ‘Hamlin Reserva’; ‘Lanceta Barão’; ‘Washington Navel’; ‘Cipó’; e o nono e último grupo formado pelas demais variedades.

Embora tenha havido boa concordância entre as análises de agrupamento pelos dados originais padronizados e pelos escores dos componentes principais, os primeiros agruparam, lado a lado, muitas variedades e/ou clones de origem reconhecidamente comum, por meio de mutações somáticas.

O presente trabalho constatou que, em variedades e clones, as principais distinções se encontram em poucos caracteres, como por exemplo a variação foliar; um dos indícios da ocorrência frequente de mutações somáticas, em laranja doce, encontrados.

5.10 Avaliação do polimorfismo de isoenzimas entre variedades de laranja doce

As amostras de folhas e cotilédones permitiram a análise de isoenzimas, e embora tenham originado zimogramas com padrões de bandas distintos, os últimos apresentam maior dificuldade para a maceração, além de não representarem obrigatoriamente o genótipo da planta mãe.

No estudo de isoenzimas em cotilédones de 14 genótipos, as variedades Lima, Washington Navel, Pêra Rio, Natal, Seleta Branca e Caipira, mostraram-se mais semelhantes, enquanto que a Hamlin, Cipó e Rubi Blood, as mais distantes.

No estudo de isoenzimas em folhas de 44 genótipos, a maioria dos acessos estudados mostrou-se semelhante, e com baixo polimorfismo intervarietal. As variedades Imperial, Cipó, Lima Lisa, Lima, Seleta Vermelha, Hamlin e Caipira, foram as que apresentaram maior polimorfismo em relação aos grupos homogêneos predominantes.

5.11 Avaliação do polimorfismo de RAPD entre variedades de laranja doce

Para 12 variedades, representativas dos principais grupos de laranja doce, 13 “primers” expressaram baixo polimorfismo. Dentre as variedades, a Hamlin se apresentou mais distinta geneticamente, seguida da ‘Lanceta Barão’ e ‘Westin’; estas foram seguidas pela ‘Cipó’, ‘Pêra Ipiguá’, ‘Lima’ e ‘Baianinha Piracicaba’. As menos polimórficas foram a ‘Seleta Branca’, ‘Natal’, ‘Diva’ e ‘Caipira-DAC’.

As variedades ‘Lima’ e ‘Cipó’ se apresentaram entre as mais polimórficas nos três estudos realizados, pela morfologia, isoenzimas e RAPD. A variedade Hamlin apresentou baixo polimorfismo morfológico, e esteve entre as mais distantes nos estudos de isoenzimas e RAPD.

Os baixos polimorfismos de RAPD e de isoenzimas, comparado aos elevados polimorfismos morfológico e agrônômico entre os acessos estudados, levam a crer que as mutações somáticas são a principal fonte de variabilidade intra-específica em laranja doce, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, SIF, 1991. 242 p.
- ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. Rio de Janeiro: USAID, 1971. 381p.
- AMARO, A.A.; MAIA, M.L. Produção e comércio de laranja e de suco no Brasil. **Laranja**, v.18, n.1, p.1-26, 1997.
- BALLVE, R.M.L.; BORDIGNON, R.; MEDINA FILHO, H.P.; SIQUEIRA, W.J.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JÚNIOR, J. Isoenzimas na identificação precoce de híbridos e clones nucelares no melhoramento de citros. **Bragantia**, v.50, n.1, p.57-76, 1991.
- BALLVE, R.M.L.; MEDINA FILHO, H.P.; BORDIGNON, R.; LIMA, M.M.A. Methodology for starch gel electrophoresis and protocols for isozymes of 32 plant genera. **Revista Brasileira de Genética**, v.18, n.3, p.491-502, 1995.
- BARRET, H.C.; RHODES, A.M. A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated Citrus and its close relatives. **Systematic Botany**, v.1, n.2, p.105-136, 1976.
- BIESALSKI, E. **Pflanzenfarben-Atlas fur Gartenbau Land-wirtschaft und Fortwesen mit Farbezeichen nach DIN 61.64**. Berlin: Musterschmidt - Verlag, 1957. 1v.

- BREWER, G.J.; SING, C.F. **An introduction to isozyme techniques**. New York: Academic Press, 1970. 186p.
- BROCK, R.D. Mutation plant breeding for seed protein improvement. In: SEED PROTEIN IMPROVEMENT IN CEREALS AND GRAIN LEGUMES. Neuherberg, 1978. **Proceedings**. Vienna: IAEA, 1978. p.43.
- BROERTJES, C.; VAN HARTEN, A.M. **Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops**. Amsterdam: Elsevier, 1988. 313p.
- CENTENO A.J. **Curso de estatística aplicada à biologia**. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 1981. 188p.
- CAMERON, J.W.; FROST, H.B. Genetics, breeding and nucelar embryony. In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J. (Ed.) **The citrus industry**. Berkeley: University of California Press, California Division of Agricultural Sciences, 1968. v.2, p.325-369.
- CHAPOT, H. The citrus plant. In: CIBA-GEIGY AGROCHEMICALS. **Citrus**. Basle, 1975. p.6-13.
- COLLETA FILHO, H.D.; MACHADO, M.A.; TARGON, M.L.P.N.; MOREIRA, M.C.P.Q.D.G.; POMPEU JR., J. Analysis of the genetic diversity among mandarins (*Citrus* spp.) using RAPD markers. **Euphytica**, v.102, p.133-139, 1998.
- COMPTON'S NEWMEDIA INC. **Compton's interactive encyclopedia**. (compact disc), 1994.

- CRESCIMMANO, F.G.; PASQUALE, F.; GERMANA, M.A.; CIAMPOLINI, F.; CRESTI, M. Ultrastructural and physiological observations on pollen of five clementine (*C. clementina* Hort. ex. Tan.). In: INTERNATIONAL CITRUS CONGRESS, 6., Tel Aviv, 1988. **Proceedings**. Weikersheim: Margraf Scientific Books, 1988a. p.443-450.
- CRESCIMMANO, F.G.; PASQUALE, F.; GERMANA, M.A.; CIAMPOLINI, F.; CRESTI, M. Ultrastructural and physiological observations on the pollen of six lemon cultivars (*C. limon* [L.] Burm. f.). In: INTERNATIONAL CITRUS CONGRESS, 6., Tel Aviv, 1988. **Proceedings**. Weikersheim: Margraf Scientific Books, 1988b. p.451-457.
- CRISCI, J.V.; ARMENGOL, M.F.L. **Introduccion a la teoria y practica de la taxonomia numerica**. Washington: OEA, 1983. 132p.
- CRISTOFANI, M. Mapas de ligação de *Citrus sunki* Hort. ex. Tan. e *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. cv. Rubidoux e localização do gene de resistência ao vírus da tristeza. Piracicaba, 1997. 140p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- CRISTOFANI, M.; MACHADO, M.A. Identificação de seedlings zigóticos e nucelares de *Citrus limonia* utilizando RAPDs. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., Salvador, 1994. **Anais**. Salvador: SBF, 1994. p.454.
- CRUZ, C.D. **Algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1984. 75p.
- CRUZ, C.D. Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas. Piracicaba, 1990. 188p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- DENG, Z.N.; GENTILE, A.; NICOLOSI, E.; DOMINA, F.; VARDI, A.; TRIBULATO, E. Identification of *in vivo* and *in vitro* lemon mutants by RAPD markers. **Journal of Horticultural Science**, v.70, n.1, p.117-125, 1995.
- DI GIORGI, F.; YASUHIRO IDE, B.; DIB K.; MARCHI, R.J.; TRIBONI, H.R.; WAGNER, R.L. Contribuição ao estudo do comportamento de algumas variedades de citros e suas implicações agroindustriais. **Laranja**, v.11, n.2, p.567 - 612, 1990.
- DI GIORGI, F.; YASUHIRO IDE, B.; DIB K.; MARCHI, R.J.; TRIBONI, H.R.; WAGNER, R.L. Proposta para ampliação do conceito de estimativa de safra quantitativa para qualitativa. **Laranja**, v.15, n.2, p.97-122, 1994.
- DOMINGUES, E.T. Banco ativo de germoplasma de citros - Um patrimônio da Citricultura e do país. **Jornal da Associtrus**, n. 87, p.5, maio 1995a.
- DOMINGUES, E.T. As sementes de citros possuem diversos embriões. **Jornal da Associtrus**, n.89, p.6, dez. 1995b.
- DOMINGUES, E.T.; POMPEU JUNIOR, J.; MACHADO, M.A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Banco ativo de germoplasma de citrus do Centro de Citricultura Sylvio Moreira / IAC. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 1., Campinas, 1995. **Anais**. Campinas: IAC, 1995a. p.68.
- DOMINGUES, E.T.; POMPEU JUNIOR, J.; MACHADO, M.A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Acessos mantidos no Banco ativo de germoplasma de Citros do Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC. Cordeirópolis: IAC, CCSM, 1995b. 63p.

- DOMINGUES, E.T.; SAKURAGUI, C. M.; SOUZA, V. C.; POMPEU JUNIOR, J.; PIO, R. M.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Caracterização morfológica de tangerinas do Banco ativo de germoplasma do Centro de Citricultura Sylvio Moreira. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 1., Campinas, 1995. **Anais**. Campinas: IAC, 1995c. p.32.
- DOMINGUES, E.T.; SAKURAGUI, C. M.; SOUZA, V. C.; POMPEU JUNIOR, J.; PIO, R. M.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Caracterização morfológica de variedades cítricas. **Revista Brasileira de Genética**, v.18, n.3, p.122, 1995d. Suplemento. /Apresentado ao 41. Congresso Nacional de Genética, Caxambu, 1995 - Resumo/
- DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Importância das mutações somáticas no melhoramento das variedades de citros. **Laranja**, v.16, n.2, p.235-249, 1995e.
- DOMINGUES, E.T. Fruta cítrica pode mudar de cor. **Jornal da Associtrus**, n.94., p.5, jan/fev. 1996.
- DOMINGUES, E.T.; MACHADO, M.A.; TULMANN NETO, A.; SUGAHARA, V.Y. Study of mating system of sweet orange (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck). **Revista Brasileira de Genética**, v.19, n.3, p.213, 1996a. Suplemento. /Apresentado ao 42. Congresso Nacional de Genética, Caxambu, 1996 - Resumo/
- DOMINGUES, E.T.; SANTOS, J. A.; TULMANN NETO, A.; MACHADO, M.A.; OLIVEIRA, L.A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Estudo da viabilidade de pólen em laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck). In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 13., Piracicaba, 1996. **Anais**. Piracicaba: ESALQ, 1996b. p.18.

- DOMINGUES, E.T.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; FIGUEIREDO, J.O.; MATTOS JUNIOR, D.; POMPEU JUNIOR, J.; OLIVEIRA, L.A. Qualidade e maturação das laranjas Ovale, Ovale de Siracusa e Ovale San Lio. **Laranja**, v.17, n.1, p.143-158, 1996c.
- DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; MACHADO, M.A.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; FINA, B.G. Estudo da poliembrionia em laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck). In: ENCONTRO CIENTÍFICO DOS PÓS-GRADUANDOS, 2., Piracicaba, 1996. **Anais**. Piracicaba: CENA, 1996d. p.6.
- DOMINGUES, E.T. Bancos de germoplasma contribuem para a melhoria dos pomares. **Informativo Agropecuário Coopercitrus**, n.124, p.22-23, 1997.
- DOMINGUES, E.T.; MATTOS JUNIOR, D.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JUNIOR, J.; FIGUEIREDO, J.O.; SUGAHARA, V.Y. Seleção de clones de laranja Pêra, quanto ao período de maturação, com o uso da análise de agrupamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.19, n.1, p.89-101, 1997a.
- DOMINGUES, E.T.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JUNIOR, J.; FIGUEIREDO, J.O.; MATTOS JUNIOR, D.; FINA, B.G. Caracterização do potencial agrônômico das laranjeiras Redonda e Corsa Tardia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.19, n.1, p.79-87, 1997b.
- DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; SUGAHARA, V.Y. Polyembryony study for clones of Pera and others sweet orange varieties. **Revista Brasileira de Genética**, v.20, n.3, p.147, 1997c. Suplemento. /Apresentado ao 43. Congresso Nacional de Genética, Goiânia, 1997 - Resumo/

- DOMINGUES, E.T.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; TULMANN NETO, A. Caracterização de clones de laranja 'Pêra' e variedades assemelhadas. **Genetics and Molecular Biology**, v.21, n.3, p.223, 1998a. Suplemento. /Apresentado ao 44. Congresso Nacional de Genética, Águas de Lindóia, 1998 - Resumo/
- DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A. Bancos de germoplasma de citros e sua importância para o melhoramento. **Laranja**, v.19, n.2, p.343-364, 1998b.
- DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A. Avaliação do polimorfismo entre variedades de laranja doce utilizando RAPD. **Genetics and Molecular Biology**, v.21, n.3, p.223, 1998c. Suplemento. /Apresentado ao 44. Congresso Nacional de Genética, Águas de Lindóia, 1998 - Resumo/
- DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A. Caracterização morfológica de 44 variedades de laranja doce. **Genetics and Molecular Biology**, v.21, n.3, p.223, 1998d. Suplemento. /Apresentado ao 44. Congresso Nacional de Genética, Águas de Lindóia, 1998 - Resumo/
- DONADIO, L.C.; ANDRADE, V.M.M.; MORAES, A.M.B. de. Caracterização da cultivar nacional de laranja doce Piralima. **Científica**, v.7, n.1, p.41-46, 1979.
- DONADIO, L.C.; FIGUEIREDO, J.O.; PIO, R.M. **Variedades cítricas brasileiras**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 228 p.
- DURHAN, R.E.; LIOU, P.C.; GMITTER JR, F.G.; MOORE, G.A. Linkage of restriction fragment length polymorphisms and isozymes in *Citrus*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.84, p.39-48, 1992.

ERICKSON, L.C. The general physiology of citrus In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J., (Ed.) **The citrus industry**. Berkeley: University of California Press, California Division of Agricultural Sciences, 1968. v.2, p.86-126.

FAO. **Citrus fruit, fresh and processed: annual statistics**. Rome, 1994. 37p.

FAO. Interamerican citrus network (IACNET). **Newsletter**, n.11, p.3-4, 1996.

FAO. **Technical guidelines for the safe movement of citrus germplasm**. Rome, International Board for Plant Genetic Resources, 1991. 49p.

FERREIRA, F.R. Conservação de germoplasma *in vivo*. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS. 1., Jaboticabal, 1988. **Anais**. Jaboticabal: UNESP, FCAVJ, 1988. p.96-101.

FERREIRA, M.E; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA, CENARGEN, 1995. 220p.

FIGUEIREDO, J.O. Variedades copa de valor comercial. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A.A. (Ed.) **Citricultura brasileira**. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.228-264.

FIGUEIREDO, J.O.; DONADIO, L.C.; POMPEU JUNIOR, J.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; PIO, R.M.; VAZ FILHO, D.; STUCHI, E.S.; SEMPIONATO, O.R.; DOMINGUES, E.T. Comportamento de 11 porta-enxertos para o limão Tahiti na região de Bebedouro, SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.18, n.3, p.345-351, 1996.

- FIGUEIREDO, J.O.; POMPEU JUNIOR, J.; PIO, R.M.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; DOMINGUES, E.T.; LARANJEIRA, F.F. Produção inicial do Tangor 'Murcote' sobre dezesseis porta-enxertos em São Paulo. **Laranja**, v.18, n.1, p.165-173, 1997a.
- FIGUEIREDO, J.O.; POMPEU JÚNIOR, J.; PIO, R.M.; TEÓFILO SOBRINHO, J.; DOMINGUES, E.T.; BLASCO, E.E.A. Produções iniciais de tangor 'Murcott' sobre 16 porta-enxertos, na região de Itirapina, SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.19, n.2, p.191-197, 1997b.
- FONT QUER, P. **Diccionario de botánica**. Barcelona: Editorial Labor, 1979. 1244p.
- FROST, H. B; KRUG, C.A. Quimeras periclinais diplóides-tetraplóides surgidas em forma de variações somáticas em citrus. **Bragantia**, v.4, p.449-474, 1944.
- FROST, H.B.; SOOST, R.K. Seed reproduction: development of gametes and embryos. In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J. (Ed.) **The citrus industry**. Berkeley: University of California Press, California Division of Agricultural Sciences, 1968. v.2, p.292-334.
- GIACOMETTI, D.C. Taxonomia das espécies cultivadas dos citros baseada em filogenética. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A.A. (Ed.) **Citricultura brasileira**. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.99-115.
- GOODENOUGH, U. **Genetics**. 3.ed. New York: Saunders College Pub., 1984. 894p.
- GOGORCENA, Y.; ORTIZ, J.M. Use of multivariate analysis in the taxonomy of *Citrus aurantium* L. and relatives. **Scientia Horticulturae**, v.53, p.301-310, 1993.

- GONÇALVES, J.S.; SOUZA, S.A.M. Produção e comercialização de laranja de mesa no Estado de São Paulo. **Laranja**, v.15, n.2, p.35:84, 1994.
- GRATTAPAGLIA, D.; CHAPARRO J.; WILCOX P.; McCORD, S.; WERNER, D.; AMERSON, H.; McKEAND, S.; BRIDWATER, F.; WHETTEN, R.; O'MALLEY, D.; SEDEROFF, R. Mapping in woody plants with RAPD markers: application to breeding in forestry and horticulture. In: APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING, Minneapolis, 1992. **Proceedings**. Minneapolis: CSSA, ASHS, AGA, 1992. p.37-40.
- GRATTAPAGLIA, D.; SEDEROFF, R. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-testcross: mapping strategy and RAPD markers. **Genetics**, v.137, p.1121-1137, 1994.
- GURGEL, J.T.A.; SOUBIHE SOBRINHO, J. Análise de poliembrião em *Citrus*, máxime em toranjas. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"**, v.8, p.727-746, 1951.
- HARLAN, J.R.; DE WET, J.M.J. Toward a rational classification of cultivated plants. **Taxon**, v.20, n.4, p.509-517, 1971.
- HODGSON, R.W. Horticultural varieties of citrus. In: REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J. (Ed.) **The citrus industry**. Berkeley: University of California Press, California Division of Agricultural Sciences, 1967. v.1, p.431-592.
- INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES. **Working group on the genetic resources of citrus: report**. Rome, 1982. 13p.

INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES. **Descriptors for citrus**. Rome, 1988. 27p.

INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES. **Directory of germplasm collections: tropical and subtropical fruits and tree nuts**. Rome, 1992. 337p.

JARREL, D.C.; ROOSE, M.L.; TRAUGH, S.N.; KUPPER, R.S. A genetic map of citrus based on the segregation of isozymes and RFLPs in an intergeneric cross. **Theoretical and Applied Genetics**, v.84, p.49-56, 1992.

LAPINS, K.O. Mutation breeding. In: MOORE, J.N.; JANICK (Ed.) **Methods in fruit breeding**. West Lafayette: Purdue University Press, 1983. p.74-99.

LIU, P.C. A molecular study of citrus genome through restriction fragment length polymorphism and isozyme mapping. Guinsville, 1990. 138p. Thesis (PhD) - University of Florida.

LURO, F.; LAIGRET, F.; BOVÉ, J.M.; OLLITRAUT, P. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to citrus genetics and taxonomy. In: INTERNATIONAL CITRUS CONGRESS. 7., Acireale, Italy, 1992. **Proceedings**. Acireale: International Society of Citriculture, 1992. p.225-228.

LURO, F.; LAIGRET, F.; BOVÉ, J.M.; OLLITRAUT, P. DNA amplified fingerprinting, a useful tool for determination of genetic origin and diversity in *Citrus*. **HortScience**, v.30, n.5, p.1063-1067, 1995.

MACHADO, M.A.; COLETTA FILHO, H.D.; TARGON, M.L.P.N.; POMPEU JR., J. Genetic relationship of mediterranean mandarins (*Citrus deliciosa* Tenore) using RAPD markers. **Euphytica**, v.92, p.321-326, 1996.

- MANLY, B.F.J. **Multivariate statistical methods: a primer**. 2.ed. London: Chapman & Hall, 1994. 215p.
- MEDINA FILHO, H.P.; BORDIGNON, R.; BALLVE, R.M.L.; SIQUEIRA, W.J. Genetic proof of the occurrence of mono and dizygotic hybrid twins in *Citrus* rootstocks. **Revista Brasileira de Genética**, v.16, n.3, p.703-711, 1993.
- MENDEL, K. Rootstock-scion relationships in Shamouti trees on light soil. **Katavim**, v.6, p.35-60, 1956.
- MOREIRA, S.; GURGEL, J.T.A. A fertilidade do pólen e sua correlação com o número de sementes, em espécies e formas do gênero *Citrus*. **Bragantia**, v.1, p.669-711, 1941.
- MOREIRA, S.; GURGEL, J.T.A.; ARRUDA, L.F. Poliembrionia em *Citrus*. **Bragantia**, Campinas, v.7, n.3, p. 69-105, 1947.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- MURRAY, M.G; THOMPSON, W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, v.8, p.4321-4325, 1980.
- PAIVA, L.V.; TOLEDO, A.R.M. de; SOUZA, M. de. Caracterização qualitativa dos frutos de laranjeiras (*C. sinensis* [L.] Osbeck) cultivares Valência e Natal no município de Lavras - MG. **Ciência e Prática**, v.18, n.1, p.33-36, 1994.
- PASSOS, O.S.; ROCHA, A.F.M.; SOARES FILHO, W.S.; CUNHA SOBRINHO, A.P. Variedades cítricas no Nordeste Brasileiro: novas alternativas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.19, n.1, p.103-112, 1997.

- POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A.A. (Ed.) **Citricultura brasileira**. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.265-280.
- PRATES, H.S. **Poliembrionia em citros**: monografia apresentada durante curso de pós-graduação. Jaboticabal: UNESP, 1977. 41p.
- RADFORD, A.E., DICHISON, W.C., MASSEY, J.R., BELL, C.R. **Vascular plants systematics**. New York: Harper Row Publ., 1974. 486 p.
- REED, J.B.; HENDRIX JUNIOR., C.M.; HENDRIX, D.L. **Quality control manual for citrus processing plants**. New York: Intercit Inc. Safety Harbor, 1986. v.1, 250p.
- ROHLF, F.J. **Numerical taxonomy and multivariate analyses system**: version 1.70 (software). New York: State University of New York, 1992.
- ROOSE, M.L. Isozymes and DNA restriction fragment length polymorphisms in citrus breeding and systematics. In: INTERNATIONAL CITRUS CONGRESS, 6., Tel Aviv, 1988. **Proceedings**. Weikersheim: Margraf Scientific Books, 1988. p.155-165.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning**: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor, 1989. 3v.
- SHAMEL, A.D. Bud variation and bud selection. In: WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.) **The citrus industry**: history, botany, and breeding. Berkeley: University of California Press, California Division of Agricultural Sciences, 1943. v.1, p.915-953.

- SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. **Numerical taxonomy**. San Francisco: Freeman, 1973. 573 p.
- SOFT-ART, Inc. **Microsoft Excel**: versão 5.0 (software). 1985-1994.
- SOLTIS, D.E.; HAUFLE, C.H.; DARROW, D.C. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. **American Fern Journal**, v.73, p.9-27, 1983.
- SOOST, R.K.; CAMERON, J.W. Citrus. In: JANICK J.; MOORE, J.N. (Ed.) **Advances in fruit breeding**. West Lafayette: Purdue University Press, 1975. p.507-540.
- SPIEGEL-ROY, P. Economic and agricultural impact of mutation breeding in fruit trees. In: PLANT MUTATION BREEDING FOR CROP IMPROVEMENT, Vienna, 1991. **Proceedings**. Vienna: IAEA, 1991. p.215-235.
- STAT SOFT, Inc. **Statistica for Windows**: release 4.5 (software). 1993.
- SUGAWARA, K.; OOWADA, A.; MORIGUCHI, T.; OMURA, M. Identification of *Citrus* chimeras by RAPD markers. **HortScience**, v.30, n.6, p.1276-1278, 1995.
- SWINGLE, W.T. The botany of Citrus and its relative of the orange subfamily. In: WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.) **The citrus industry**. Berkeley: University of California Press, California Division of Agricultural Sciences, 1943. v.1, 129p.
- SWINGLE, W.T.; REECE, P.C. The botany of citrus and its wild relatives. In: REUTHER, W.; WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.) **The citrus industry**. Berkeley: University of California Press, California Division of Agricultural Sciences, 1967. v.1, p.358-369.

- TARGON, M.L.P.; MACHADO, M.A.; TEÓFILO SOBRINHO, J. RAPD na caracterização de híbridos de *Citrus spp* e *Poncirus trifoliata*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., Salvador, 1994. **Anais.** Salvador: S.B.F., 1994. p.479.
- TARGON, M.L.P.N.; MACHADO, M.A.; COLETTA FILHO, H.D.; CRISTOFANI, M. RAPD na caracterização de variedades de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Revista Brasileira de Genética**, v.20, n.3, Suplemento, 1997. p.145. /Apresentado ao 43. Congresso Nacional de Genética, Goiânia, 1997 - Resumo/
- TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JUNIOR, J.; RODRIGUEZ, O.; FIGUEIREDO, J.O. de; BARBIN, D. Melhoramento de clones de laranjeira 'Pêra' no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4., Salvador, 1977. **Anais.** Salvador: S.B.F., 1977. p.111-116.
- TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JUNIOR, J.; RODRIGUEZ, O.; FIGUEIREDO, J.O. de; BARBIN, D. Competição de clones de laranja 'Pêra' (*Citrus sinensis* L. Osbeck). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 6., Recife, 1981. **Anais.** Recife: S.B.F., 1981. p. 491-500.
- TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JUNIOR, J.; FIGUEIREDO, J.O. de; DEMETRIO, C.G.B.; BARBIN, D. Competição entre quinze clones de laranjeira 'Pêra' na região de Limeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.14, n.1, p. 41-48, 1992.
- TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JUNIOR, J.; FIGUEIREDO, J.O.; DOMINGUES, E.T.; MATTOS JUNIOR, D. Espaçamentos para a laranjeira Folha Murcha enxertada sobre o limoeiro Cravo. **Laranja**, v.15, n.1, p.151-168, 1994.

- TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JUNIOR, J.; FIGUEIREDO, J.O.; DOMINGUES, E.T.; MATTOS JUNIOR, D.; LIMA, J.E.O DE. Espaços para a laranjeira 'Valência' enxertada sobre Trifoliata na região de Aguaí (SP). **Laranja**, v.16, n.1, p.105-117, 1995.
- TEÓFILO SOBRINHO, J.; POMPEU JUNIOR, J.; FIGUEIREDO, J.O.; DOMINGUES, E.T.; TANNURI, F. Seleção de clones de laranjeira 'Pêra', em Araraquara, SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.18, n.2, p.275-282, 1996.
- TORRES, A.M.; SOOST, R.K.; DIEDENHOFEN, U. Leaf isozymes as genetic markers in citrus. **American Journal of Botany**, v.65, p.869-881, 1978.
- TORRES, A.M.; SOOST, R.K.; MAU-LASTOVICKA, T. Genetics and distinguishing nucellar from zygotic seedlings. **The Journal of Heredity**, v.73, p.335-339, 1982.
- TULMANN NETO, A.; MENTEN, J.O.M.; ANDO, A.; POMPEU JUNIOR, J.; CERAVOLO, L.; NAMEKATA, T.; ROSSI, A.C. Mutation breeding aiming at obtaining resistance to citrus canker (*Xantomonas campestris* pv. *citri* and other characteristics in sweet orange (*Citrus sinensis* Osb.). In: PLANT MUTATION BREEDING FOR CROP IMPROVEMENT, Vienna, 1991. **Proceedings**. Vienna: IAEA, 1991. p.235-240.
- VÁCZY, C. Les origines et les principes du développement de la nomenclature binaire en botanique. **Taxon**, v.20, n.4, p.573-590, 1971.
- VALLS, J.F.M. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS. 1., Jaboticabal, 1988. **Anais**. Jaboticabal: UNESP, FCAVJ, 1988. p.106-128.

- VARDI, A.; SPIEGEL-ROY, P. Citrus breeding, taxonomy and the species problem. **Proceedings of International Society of Citriculture**, n.1, p.51-57, 1978.
- VEASEY, E.A. Variabilidade genética em acessos de espécies de *Sesbania* Scop. (leguminosae): caracterização morfológica, agronômica e isoenzimática. Piracicaba, 1998. 142p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- VIÉGAS, F.C.P. A industrialização dos produtos cítricos. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A.A. (Ed.) **Citricultura brasileira**. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.2, p.898-921.
- VILARINHOS, A.D.; VIANA, C.H.P.; SOARES FILHO, W.S.; NICKEL, O.; OLIVEIRA, R.P. Identificação precoce de híbridos inter e intra-específicos em citros utilizando RAPD (Random amplified polymorphic DNA). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14., Curitiba, 1996. **Anais**. Curitiba: S.B.F., 1996. p.137.
- WELSH, J.; MACCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary "primers". **Nucleic Acids Research**, v.18, p.7213-7218, 1990.
- WENDEL, J.F.; WEEDEN, N.F. Visualization and interpretation of plant isozymes. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. (Ed.) **Isozymes in plant biology**. London: Chapman and Hall, 1990. cap.1, p.5-45.
- WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; JIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary "primers" are usefull as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.6531-6535, 1990.

YIN-MIN, Y.; YAN, K.; XIANG-HONG, Z. Studies on pollen morphology of citrus plants. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, n.1. p.23-25. 1981.

ZUBRZYCKI, H.M.; ZUBRZYCKI, A.D. Un índice de selección para el mejoramiento de la calidad de naranjas (*Citrus sinensis*, Linn., Osbeck). **Idia**, p.7-12, enero/junio, 1977.

ZUBRZYCKI, H.M. **Descriptores básicos de diferentes órganos de plantas cítricas para identificar mutantes, cultivares e híbridos**. Corrientes: INTA-Bella Vista. 1997. (Boletim Técnico). 13p.

ANEXOS

Anexo A. Disposição em campo dos 44 acessos de laranja doce do “experimento 2”, mantidos em banco de germoplasma, no Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, Corderópolis, SP.

Linhas de 1 a 3		Linhas de 4 a 6		Linhas de 7 a 9		Linhas de 9 a 11		Linhas de 12 a 14	
				115 - Westin		154 - Péra Rio			
						153 - Péra Mel			
37 - Baianinha	23-4-60	74 - Hamlin Variegada				152 - Péra Comprida			
		73 - Hamlin		112 - Non Pareil		151 - Péra Coroada			
		72 - Hamlin Reserva				150 - Perão			
		71 - Imperial				149 - Péra (sem sementes)			
		70 - Seleta Vermelha				148 - Péra de Abril			
						147 - Lambsummer			
		68 - Seleta Branca							
				106- Sanguinea de Piracicaba					
29 - Baiana Retiro									
27 - Washington Navel						142 - Pele de Moça			
						140 - Caipira comum			
		61 - Cametá							
23 - Baianinha Piracicaba									
						137 - Caipira DAC			
		58 - Diva							
				96 - Cipó					
		56 - do Céu - 1							
		54 - Lanceta Barão		93 - Sanguinea de Mombuca					
16 - Lima Lisa									
13 - Lima Verde									
12 - Lima Tardia									
				87 - Blood Oval					
09 - Lima						165 - Natal Bebedouro			
						164 - Natal			
						163 - Valência Variegada			
						161 - Valência Late			
				79 - Rubi Blood					
						158 - Péra Ipiquá			
						157 - Péra Caire			
						156 - Péra Ovo			
						155 - Péra			

Anexo B. Frequência e quantidade (mm) de chuva e temperatura média mensal e anual, no CCSM/IAC, de 1994 a 1997.

Ano/Mês	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Ano
Frequência de chuva													
1994	13	14	10	7	6	6	3	0	0	11	11	15	96
1995	19	20	12	7	8	3	5	1	5	11	10	13	114
1996	17	17	18	8	8	3	2	4	11	10	11	18	127
1997	22	8	8	5	4	8	1	0	5	12	17	15	105
Total de chuva (mm)													
1994	153,6	158,9	102,7	51,1	54,3	47,3	20,5	0,0	0,0	96,9	244,4	248,3	1178
1995	282,7	427,2	146,9	242,2	35,6	22,8	40,8	1,2	37,2	145,3	130,4	210	1722
1996	340,7	169,0	198,7	58,4	49,7	19,9	1,4	55,0	171,5	148,1	274,3	246	1733
1997	353,7	174,4	31,3	44,3	69,1	195,1	30,6	0,0	65,3	105,4	250,7	134,3	1454
Temperatura média (°C)													
1994	22,9	25,2	22,7	21,4	20,0	16,9	18,7	19,1	22,1	22,7	21,4	21	21,2
1995	26,4	23,5	23,2	21,2	18,9	18,4	19,6	21,4	21,5	21,8	23,5	23,3	21,9
1996	24,2	24,5	23,6	21,9	18,2	17,7	16,6	19,9	20,1	20,0	22	21,4	20,8
1997	23,7	24,2	22,6	21,2	19,1	17,5	18,8	19,7	22,3	22,9	24,1	24,5	21,7

Anexo D. Sistemas isoenzimáticos utilizados na presente pesquisa envolvendo laranja doce, os quais foram adaptados por Veasey

(1998) no laboratório de Genética Ecológica da ESALQ/USP.

Sistemas	PRX EC 1.1.1.1.7	EST EC 3.1.1.1	GOT EC 2.6.1.1	ADH EC 1.1.1.1	ACP EC 3.1.3.2	MDH EC 1.1.1.37
Tampão gel/eletrodo	LB	LB	LB	TC	TC	TC
Tampão de coloração	fosfato pH 6,0 (14 ml) álcool 95° (35 ml)	tamp. C ¹ (25 ml) tampão D ² (5 ml) água dest. (20ml)	tampão C ¹ (8 ml) tampão D ² (42 ml) Piridoxal-5- fosfato (10mg) ³	tris-HCl pH 8,0 0,2M (50 ml)	acetato de sódio 0,1M - pH 5,0 (50 ml)	tris/ácido málico pH 7,0 (50ml)
Substrato	Ortodianisidina (70 mg)	α-nafil acetato (1 ml)		álcool 95° (10ml)	α-nafil fosfato ac. sódio (50 mg)	tamp. tris/ácido málico pH 7,0 (50ml)
Catalisador	-	-	-	-	0,5 ml	-
MgCl ₂ (1%)						
Cofator	H ₂ O ₂ (1%)	-	-	NAD (10 mg)	-	NAD (33 mg)
MTT	-	fast garnet GBC (50 mg)	fast blue BB (150 mg)	10 mg	fast garnet GBC (50 mg)	12,5 mg
PMS	-	-	-	1 mg	-	1,5 mg
Referência	Brewbaker et al. (1968)	Scandilios (1965)	Alfenas et al. (1991)	Alfenas et al. (1991)	Alfenas et al. (1991)	Brewer & Sing (1970)

¹ Tampão C: Fosfato monossódico (27,6 g) em 1 litro de água destilada.

² Tampão D: Fosfato bissódico (53,63g) em 1 litro de água destilada.

³ Ácido L-aspartico (226mg) e ácido α-cetoglutarico (36,5mg).