



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ENGENHARIA AGRONÔMICA



DANILO JOSÉ KRABBENBORG

**EFEITO DA POLINIZAÇÃO CRUZADA NO NÚMERO DE SEMENTES DOS
FRUTOS DE PONKAN GOLD RBC**

ARARAS - 2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ENGENHARIA AGRÔNOMICA



DANILO JOSÉ KRABBENBORG

**EFEITO DA POLINIZAÇÃO CRUZADA NO NÚMERO DE SEMENTES DOS
FRUTOS DE PONKAN GOLD RBC**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia
Agrônômica – CCA – UFSCar para obtenção do
título de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patrícia Marluci da Conceição

Coorientador: Prof. Dr. Fernando Alves de Azevedo

ARARAS – 2022

**Dedico este trabalho aos meus pais, aos meus
irmãos e à república Adatupanos.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de São Carlos - CCA pelos ensinamentos e pela estrutura oferecida a mim durante esses anos.

Agradeço aos professores pelos aprendizados ao longo desse curso.

Agradeço em especial à minha orientadora Dra. Patrícia Marlucci da Conceição e meu coorientador Dr. Fernando Alves de Azevedo pelas oportunidades e suporte que me proporcionaram, permitindo a conclusão deste trabalho.

Ao Instituto Agronômico de Campinas - Centro de Citricultura Sylvio Moreira (IAC/CCSM) e ao GD Citros por me proporcionar dois anos de muita experiência.

Agradeço à Citrograf e RBC e ao Matheus Pozzobon Campagnollo pela confiança e pela oportunidade de poder realizar esse trabalho e por toda vivência ao longo deste trabalho.

Agradeço meu pai José e minha mãe Nancy por todos esses anos vividos e por sempre estarem comigo independente de qualquer dificuldade. Aos meus irmãos José Eduardo e Erick, nunca chegaria aonde eu cheguei sem os ótimos conselhos a mim dados.

Agradeço a atenção e o carinho recebido por todos da minha família, tios, tias, primos e primas.

Agradeço a Thainá Moreira Garcia e demais amigos que de alguma forma me ajudaram na realização deste trabalho.

Agradeço à minha república (República Adatupanos) pelos ensinamentos sobre a vida e pelas amizades conquistadas; e a todos os colegas que convivi ao longo desses 5 anos de faculdade.

“Tudo é considerado impossível até ser realizado”

(Nelson Mandela)

RESUMO

As preocupações quanto à produção de frutos de mesa, como a tangerina Ponkan Gold RBC, por muitos anos, estavam concentradas no controle eficaz de pragas e doenças nos pomares. Com o passar dos anos, o baixo número de sementes passou a ser uma exigência dos consumidores. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar a influência da polinização cruzada controlada no número de sementes dos frutos da variedade Ponkan Gold RBC (Royal Buds Cítricos). O experimento foi realizado na fazenda da Citrograf Mudas em Mogi-Guaçu, em plantas adultas do pomar da variedade Ponkan Gold RBC, que estão plantadas fora de ambiente protegido em um dos talhões da fazenda. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Oito tratamentos foram adotados com diferentes tipos de pólen. Foi realizado o teste de viabilidade desses grãos de pólen (método germinação de pólen *in vitro*). Para extração dos grãos de pólen, botões florais fechados e com tamanho ‘cotonete’ foram coletados, estes foram mantidos em placas de Petri com papel de filtro e mantidos a 30°C, por 24 horas, para amadurecimento dos grãos de pólen. Quando as plantas de Ponkan Gold RBC estavam em pleno florescimento os tratamentos foram instalados. Foram feitas as avaliações da fixação de frutos, número de sementes por fruto e análise físico-química dos frutos. A viabilidade dos pólenes e a fixação dos frutos não diferiu entre as variedades. O número de sementes nos frutos de tangerina Ponkan Gold RBC polinizadas com pólen de laranja Pêra e laranja Valência apresentaram maior número de sementes em relação aos demais tratamentos. O tratamento com ausência de polinização manual apresentou o menor número de sementes em relação aos demais tratamentos. Conclui-se com este trabalho que há maior número de sementes nos frutos Ponkan Gold RBC quando polinizada com laranja Pêra e laranja Valência, o que evidencia a influência da polinização cruzada nesta característica dos frutos. Para o plantio comercial da variedade Ponkan Gold RBC, com finalidade de obtenção de frutos com baixa incidência de sementes, recomenda-se o isolamento do pomar por meio de quebra ventos ou distanciamento de variedades que incrementam o número médio de sementes como a laranja Pêra e laranja Valência.

Palavras-chave: citros, autopolinização, tangerina

ABSTRACT

Concerns about the production of table fruits such as Ponkan Gold RBC tangerine for many years were focused on effective pest and disease control in orchards. Over the years, the low number of seeds became a consumer demand. Thus, the objective of this work was to evaluate the influence of controlled cross-pollination on the number of seeds of the Ponkan Gold RBC (Royal Buds Citrus) variety. The experiment was carried out at the Citrograf Mudás farm in Mogi-Guaçu, on adult plants of the Ponkan Gold RBC variety from the orchard, which are planted outside a protected environment in one of the farm's plots. The experimental design was randomized blocks, with four replications. Eight treatments were adopted with different types of pollen. The viability test of these pollen grains was performed (in vitro pollen germination method). To extract the pollen grains, closed flower buds with 'swab' size were collected, they were kept in Petri dishes with filter paper and kept at 30°C for 24 hours, for pollen grains to mature. When the Ponkan Gold RBC plants were in full bloom the treatments were installed. Evaluations were made of fruit set, number of seeds per fruit and physicochemical analysis of the fruits. Pollen viability and fruit set did not differ between varieties. The number of seeds in Ponkan Gold RBC tangerine fruits pollinated with Pêra orange pollen and Valencia orange had the highest number of seeds in relation to the other treatments. The treatment without hand pollination had the lowest number of seeds in relation to the other treatments. It is concluded with this work that there is a greater number of seeds in Ponkan Gold RBC fruits when pollinated with Pêra orange and Valencia orange, which shows the influence of cross-pollination in this fruit characteristic. For the commercial planting of the Ponkan Gold RBC variety, in order to obtain fruits with a low incidence of seeds, it is recommended to isolate the orchard by means of windbreaks or distance from varieties that increase the average number of seeds such as the Pêra and orange Valencia.

Keywords: citros, self-pollination, tangerine

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Foto aérea da fazenda da Citrograf Mudas, em Mogi-Guaçu/SP 16
- Figura 2.** Foto aérea do talhão onde foi realizado o experimento..... 16
- Figura 3.** (a) Coleta do botão floral para polinização, (b) retirada das pétalas, (c) armazenamento das flores em placa de Petri, (d) flor emasculada, polinizada e identificada. 17
- Figura 4.** Processo de “isolamento” do tratamento 8 - Ausência de polinização manual. (a) flor fechada. (b) isolamento da flor com saco de papel kraft. 18
- Figura 5.** Polvilhamento dos grãos de pólen ao meio já frio. 19
- Figura 6.** Visualização em microscopia invertida dos grãos de pólen em meio de cultura após incubação a 24°C. 19
- Figura 7.** Monitoramento e avaliação da frutificação do tratamento 5 - polinização com pólen de tangerina Ponkan Gold RBC (autopolinização) (a) fruto no começo de sua formação; (b) fruto em processo de mudança de cor. (c) fruto perto do ponto de colheita..... 19
- Figura 8.** Contagem direta de sementes dos frutos. (a) fruto aberto para realização da contagem de sementes (b) sementes retiradas do fruto para contagem..... 20
- Figura 9.** (a), pesagem de frutos; (b)determinação da altura dos frutos. 21
- Figura 10.** Cortes transversais dos frutos de Ponkan Gold RBC oriundos da polinização controlada com as seguintes variedades: (a) laranja Valência, (b) tangerina Ponkan, (c) laranja Pêra, (d) laranja Natal, (e) tangerina Ponkan Gold RBC (autopolinização), (f) tangor Murcott (g) ausência de polinização manual. 23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Viabilidade de pólen e porcentagem média de frutos fixados oriundos da polinização controlada (Cordeirópolis, São Paulo, 2020/2021).....	22
Tabela 2. Número de sementes por fruto da tangerina Ponkan Gold RBC resultantes de polinização controlada com diferentes espécies cítricas (Cordeirópolis, São Paulo, 2020/2021).	24
Tabela 3. Massa, altura, largura e IC (índice de conformação) dos frutos de Ponkan Gold RBC resultantes de polinização controlada com diferentes espécies cítricas (Cordeirópolis, São Paulo, 2020/2021).	25
Tabela 4. Rendimento de suco, sólidos solúveis (SS), acidez e ratio dos frutos de Ponkan Gold RBC resultantes de polinização controlada com diferentes espécies cítricas (Cordeirópolis, São Paulo, 2020/2021).	26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1. Tangerina.....	12
2.2. Ponkan Gold RBC.....	13
2.3. Polinização	14
3. OBJETIVOS	15
4. MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1. Área experimental	15
4.2. Delineamento experimental.....	16
4.3. Teste de viabilidade de pólen (teste de germinação <i>in vitro</i>).....	18
4.4. Avaliações	19
4.4.1. Fixação de frutos	19
4.4.2. Número de sementes por fruto.....	19
4.4.3. Análise físico-química dos frutos	20
4.5. Análise estatística.....	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5.1. Viabilidade do pólen e porcentagem de frutos fixados	21
5.2. Número de sementes	22
5.3. Análise físico-química dos frutos.....	24
6. CONCLUSÕES	26
7. REFERÊNCIAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

A produção de laranja no Brasil possui grande impacto na economia mundial, pois tem participação em 80% do mercado global de suco de laranja. E em 2020, o país produziu 16 milhões toneladas de laranja, sendo que São Paulo foi responsável pela maior produção nacional. O Brasil é um grande produtor de tangerinas, tendo uma produção de aproximadamente 1 milhão de toneladas e apresentando uma área aproximada de 55 mil hectares em cultivo (IBGE, 2021). Segundo a FAO (2022), o Brasil é o 4º maior produtor mundial de tangerinas ficando atrás somente da China, Espanha e Turquia.

Entre as tangerinas mais exploradas ressaltam-se as variedades do grupo das satsumas (*Citrus unshiu*), das mexericas (*C. deliciosa* Tenore), das reticulatas (*C. reticulata* Blanco), tais como a Ponkan, Dancy e Cravo, além de alguns híbridos, como o tangor Murcott (*C. reticulata* Blanco x *C. sinensis*) e o tangelo Lee [*C. reticulata* Blanco x (*C. paradisi* Macf. x *C. reticulata* Blanco)] (FIGUEIREDO, 1991; PIO et al., 2005). De todas as variedades encontradas nos pomares brasileiros, a tangerina Pokan e o tangor Murcott são as de maior relevância, seguidas de Cravo e seleções de mexericas (BASTIANEL et al., 2014).

Uma das tangerinas mais populares e apreciadas pelos brasileiros para consumo *in natura* é a variedade Ponkan (*C. reticulata* Blanco). Além de ser uma importante fonte de vitaminas e fibras, as tangerinas Ponkan vêm sendo reconhecidas por conterem metabólitos secundários incluindo antioxidantes como ácido ascórbico, compostos fenólicos, flavonoides, limonoides, componentes importantes para a nutrição humana (JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007).

Em relação à produção de frutos de mesa, como a Ponkan, no Brasil, as preocupações quanto à produção dos frutos estavam concentradas no controle eficaz de pragas e doenças nos pomares, na melhor combinação copa x porta-enxerto, priorizando a qualidade externa do fruto. Com o passar dos anos o baixo número de sementes passou a ser uma exigência dos consumidores tanto brasileiros quanto no exterior (FULLER, 2001).

A polinização está diretamente relacionada com a produção de sementes em citros. A polinização pode ocorrer na própria planta, onde o grão de pólen é transportado para o estigma da flor (autopolinização) ou, ainda, em outras plantas, com a transferência dos grãos de pólen da antera de uma flor para o estigma da flor de outra planta através de agentes polinizadores (polinização cruzada) (COUTO et al., 2010).

A maioria das variedades de citros são autopolinizadas, com incrementos de polinização que ocorrem na presença de insetos polinizadores como é o caso das abelhas e quando sofrem

cruzamento podem gerar o aumento do número de sementes (FULLER, 2001). Quando autopolinizadas, as plantas cítricas desenvolvem aproximadamente cinco sementes por fruto aproximadamente. No entanto, a presença de plantas de outras variedades próximas a de interesse pode aumentar de maneira indesejável o número de sementes presentes no fruto (GUARDIOLA, 1992). Além disso, o aumento do número de sementes pode ocorrer por diferentes adversidades como: estresse ambiental, período longo de seca na qual esse aumento de semente é uma forma da planta garantir a perpetuação da espécie (FULLER, 2001).

A variedade produzida pela Citrograf Mudas e Royal Buds Cítricos (RBC), Ponkan Gold RBC, apresenta características de maturação diferentes da variedade Ponkan comum, levando em média de 60 a 90 dias a mais para completar seu ciclo. Dessa forma, a colheita dessa variedade será fora da época da Ponkan comum e tende a ter um maior valor agregado. Um ponto muito relevante para o consumo da Ponkan é o número de sementes, dado a busca do consumidor por frutos com menor quantidade possível de sementes. Como a quantidade de sementes pode variar dependendo da polinização cruzada entre variedades distintas, com o presente estudo busca-se auxiliar na tomada de decisão quanto ao posicionamento dos pomares no campo (RBC, 2019).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Tangerina

A cadeia produtiva citrícola vai além da geração de divisas para a economia brasileira, este setor tem grandes impactos na criação de empregos, formação de capital, geração de renda e agregação de valor, além de contribuir diretamente para o desenvolvimento regional. Na safra 2021/2022 cerca de 27 mil empregos diretos e indiretos foram gerados (CORRÊA, 2020).

O consumo mundial de frutas cítricas, assim como a produção, aumentou na última década, segundo Da Silva (2020), a produção brasileira apresenta subdivisões em sua produção, dentre elas estão: tangerinas (7,3 milhões de plantas), limas ácidas e limão (7,7 milhões de plantas) e pomelo (cerca de 85 mil plantas). Dentre as tangerinas destaca-se a Ponkan com 58% das árvores, e o restante dividido entre Murcote, Cravo e Mexerica (DA SILVA, 2020).

De acordo com a FAO (2022), o Brasil ocupa a quarta posição no ranking mundial de produção de tangerina ficando atrás apenas da China, Espanha e Turquia, respectivamente. No Brasil, as tangerinas são o terceiro maior grupo de citros produzidos, sendo as variedades predominantes a tangerina Ponkan e o tangor Murcott (BASTOS et al., 2014; FAO, 2022). A variedade Dekopon, vem se tornando cada vez mais importante no país, esta variedade é um

híbrido sem sementes, com alto teor de açúcar e elevado valor agregado (VASCONCELOS, 2019).

No estado de São Paulo as variedades mais cultivadas do grupo de tangerinas e seus híbridos são: tangerina Ponkan e tangor Murcott [*C. sinensis* (L.) Osbeck x *C. reticulata* Blanco] (PIO et al. 2005). Segundo Gayet (1993), essas variedades não estão no padrão de aceitação internacional, pois o mercado valoriza as frutas sem sementes, principalmente as consumidas como fruta fresca. Pio et al. (2005) ressaltam que, além da ausência de sementes, o consumidor busca frutos cítricos de sabor diferente, tamanho, cor e formas atrativas, fáceis de descascar, com vida de prateleira maior e livre de resíduos químicos.

Originária da Ásia, a Ponkan compõe um dos grupos de tangerinas mais cultivados no mundo, esta fruta encontra-se em países como: China, Japão, Filipinas e Índia, além de ser destacadamente uma das frutas mais populares no território brasileiro (SAUNT, 2000; PIO et al., 2005). Essa variedade apresenta árvores de porte médio, com crescimento ereto (PIO et al., 2006). Pode ser considerada uma fruta pouco succulenta, aparentemente grande, de forma globulosa e achatada, com casca fina e pouco aderente, este fruto apresenta também casca e polpa de coloração alaranjada (DETONI et al., 2009). É mais apreciada para o consumo *in natura* por apresentar facilidade de descascar (BASTIANEL, 2013; PIO et al., 2001). Por ser uma fruta não climatérica, a tangerina Ponkan precisa ser colhida em estágio adequado de maturação. Os frutos da Ponkan apresentam de 5-8 sementes, peso médio de 138 g, 43% de rendimento em suco, 10,8° Brix, 0,85% de acidez e *ratio* médio de 12,7 (PIO et al., 2005).

O estado de São Paulo apresenta condições edafoclimáticas favoráveis para o desenvolvimento da tangerina Ponkan. No mês de abril, as regiões mais quentes se destacam na sua produção e no mês de agosto, as mais frias. As condições edafoclimáticas apresentam um papel fundamental nas características organolépticas e no tamanho das frutas de tangerina Ponkan, na qual uma série de fatores externos afetam os processos metabólicos como as relações fonte-dreno durante as fases de crescimento, de maturação e de amadurecimento (FIGUEIREDO, 1991).

2.2. Ponkan Gold RBC

A Ponkan Gold é originária de uma mutação espontânea da cultivar Ponkan (comum), e é caracterizada pela colheita tardia de seus frutos. Em média, a colheita desta variedade ocorre em outubro, sendo 60-90 dias após a colheita Ponkan (comum), trazendo um maior valor agregado independentemente da região de cultivo. A variedade é mais tolerante ao excesso de umidade e podridão dos frutos causada pelo surgimento de fungos. Esta é uma característica

importante, pois permite a colheita em períodos de baixa oferta, uma boa oportunidade de vendas para os produtores. Segundo a RBC, os frutos apresentam em média 95-105cm de diâmetro, 5-7 sementes por fruto, SS de 12,66%, 0,68% de ácido cítrico e 15,9 de Ratio (RBC, 2019).

2.3. Polinização

A polinização ocorre através da transferência do pólen das anteras (parte masculina) de uma flor para o estigma (parte feminina), podendo ser da mesma flor ou de outra flor na mesma planta (autopolinização), ou uma flor de um indivíduo diferente (polinização cruzada). Para que a formação da semente ocorra, o pólen deve ser compatível e assim a fertilização do óvulo ocorre. Uma boa fertilização garante um bom rendimento e tamanhos dos frutos (RAVEN et al., 1992).

De maneira geral os grãos de pólen são amarelos, esféricos ou ovais, com tendência poliédrica, viscosos e aderentes (QUEIRÓZ-VOLTAN & BLUMER, 2005). A fertilidade do pólen também pode ser influenciada por fatores ambientais. As temperaturas entre 15 a 20 °C são as mais favoráveis para a formação de grãos de pólen viáveis (OLIVEIRA et al., 2004).

De maneira geral, a receptividade do estigma das flores dos citros dura entre 1 a 3 dias antes da antese e 6 a 8 dias após. Se o grão de pólen não atingir o estigma neste período não ocorre a fecundação. Uma vez que os grãos de pólen tenham caído sobre o estigma, sua germinação e taxa de crescimento são maiores em temperaturas altas (25 a 30 °C) e reduzidas ou totalmente inibidas nas baixas (< 20 °C). O crescimento do tubo polínico através do estilete pode durar de dois dias a quatro semanas, dependendo da cultivar e da temperatura (FROST, 1968).

Os principais agentes polinizadores das plantas podem ser o vento, a água, as aves, os insetos e o próprio homem (OLIVEIRA et al., 2004), porém, o pólen dos citros é viscoso e aderente, do tipo entomófilo, o que faz com que o vento seja um agente polinizador de menor importância. O transporte do pólen pelo vento só ocorre caso estes alcancem velocidade de 40-50 km/h⁻¹, mas dificilmente alcançaria distâncias maiores que 12-15 metros (KREZDORN, 1972; SOLER et al., 1996).

A polinização quando realizada por pólenes de flores de outros indivíduos da mesma espécie ao invés da própria flor garante melhor taxa de polinização e conseqüentemente características desejáveis para determinadas espécies de citros (BARTH, 1991). Desta forma o sucesso da polinização cruzada constitui uma importante adaptação evolutiva das plantas,

possibilitando o aumento do vigor das espécies, novas combinações de fatores hereditários e elevando a produção de frutos e sementes (COUTO&COUTO, 2006).

Azevedo & Pio (2002) estudando a influência da polinização em tangor Murcott, observaram que quando flores desta variedade foram polinizadas com pólen das laranjas Valência e Natal, ocorreu aumento no número de sementes, em relação à polinização feita com tangerina Ponkan, laranja Pêra e flores autopolinizadas. Desta forma a presença de plantas de outras variedades próximas às de interesse pode aumentar, indesejavelmente o número de sementes (GUARDIOLA, 1992).

Para o cultivo de variedades de citros com baixa ou nenhuma quantidade de sementes, é de suma importância o conhecimento da compatibilidade e da taxa de polinização cruzada de cada indivíduo, principalmente das frutas mais produzidas no Brasil (AZEVEDO & PIO, 2001). Tal conhecimento permitirá o correto planejamento de pomares instruindo de forma prática os produtores.

3. OBJETIVOS

Avaliar a influência da polinização cruzada controlada no número de sementes dos frutos da variedade Ponkan Gold RBC (Royal Buds Cítricos).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Área experimental

O experimento foi realizado na fazenda da Citrograf Mudas, em Mogi-Guaçu/SP (coordenadas: 22,10610° S, 47,15383° O), nos anos de 2020/2021 (Figura 1). Mogi-Guaçu/SP apresenta uma altitude média de 588m e clima do tipo CWO (inverno seco e verão chuvoso). Foram utilizadas 28 plantas adultas do pomar da variedade Ponkan Gold RBC, plantadas em maio de 2018 com espaçamento de 6,0m x 2,0m e tendo como porta-enxerto Citromelo Swingle em um dos talhões da fazenda (Figura 2).



Figura 1. Foto aérea da fazenda da Citrograf Mudas, em Mogi-Guaçu/SP. Fonte: Apple mapas.



Figura 2. Foto aérea do talhão onde foi realizado o experimento. Fonte: Apple mapas.

4.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Foram instalados oito tratamentos, como segue: (T1) – polinização com pólen de laranja Valência; (T2) – polinização com pólen de tangerina Ponkan; (T3) – polinização com pólen de laranja Pêra; (T4) – polinização com pólen de laranja Natal; (T5) – polinização com pólen de tangerina Ponkan Gold RBC (autopolinização); (T6) – polinização com pólen de tangor

Murcott; (T7) – polinização com pólen de Murcott Olé e (T8) – Ausência de polinização manual.

Para obtenção dos grãos de pólen, botões florais fechados, grandes e jovens com o tamanho ‘cotonete’ (Figura 3a), conforme metodologia descrita por Cameron & Frost (1968). Foram retiradas as pétalas (Figura 3b), e após isso as flores foram mantidas em placas de Petri com papel de filtro, a 30°C, por 24 horas, para amadurecimento dos grãos de pólen (Figura 3c).

Quando as plantas de Ponkan Gold RBC apresentaram florescimento pleno, os diversos tratamentos foram instalados. A polinização foi realizada manualmente. Este procedimento consistiu na retirada da parte masculina, quando elas se encontravam fechadas e com tamanho ‘cotonete’, ou seja, o botão floral branco e expandido, segundo a metodologia descrita por Socias (1987). A polinização controlada foi realizada em 100 flores por tratamento, escolhidas ao acaso ao redor de cada planta e etiquetadas para posterior identificação (Figura 3d).

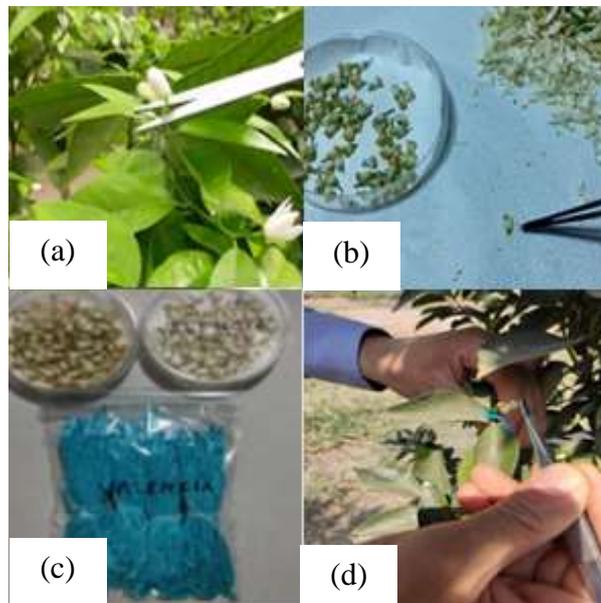


Figura 3. (a) Coleta do botão floral para polinização, (b) retirada das pétalas, (c) armazenamento das flores em placa de Petri, (d) flor emasculada, polinizada e identificada.

Todos os tratamentos passaram por essas etapas, com exceção do tratamento 8 - Ausência de polinização manual. Neste tratamento os botões florais ainda fechados (Figura 4a) foram isolados e cobertos com os sacos de papel Kraft (Figura 4b) para que não houvesse influência externa. Após o pegamento dos frutos as sacolas de papel foram retiradas.



Figura 4. Processo de “isolamento” do tratamento 8 - Ausência de polinização manual. (a) flor fechada. (b) isolamento da flor com o saco de papel kraft.

4.3. Teste de viabilidade de pólen (teste de germinação *in vitro*)

Para avaliação da viabilidade dos grãos de pólen utilizados nos tratamentos, as flores foram coletadas no banco de germoplasma do Centro de Citricultura Sylvio Moreira, em Cordeirópolis/SP. Após o processo de coleta, as flores foram armazenadas e preparadas para realização do teste de viabilidade. A metodologia utilizada foi a realização do teste de viabilidade pela germinação *in vitro*.

Esses testes são muito importantes para garantir que o pólen usado para a polinização cruzada tenha boa viabilidade. De modo geral, o pólen colhido de flores no estágio de desenvolvimento apropriado é adequado para uso na forma correta (Einhardt *et al.*, 2006).

Para o teste de germinação *in vitro*, o meio de cultura foi confeccionado através de duas soluções. Para a primeira, com volume final de 70 ml, pesou-se 0,2 g de ácido bórico e 0,8 g de nitrato de cálcio, e dissolveu-se ambos em 100 ml água destilada, retirou-se 10 ml dessa solução para posterior adição de 10 g de sacarose e 50 ml de água destilada, para finalmente atingir 70ml, além de ter sido realizado o ajuste de pH para 6,5 com NaOH 0,1N. A segunda solução, com volume final de 30 ml, foi composta por 0,3 g de phytigel e 30 ml de água destilada.

As duas soluções foram aquecidas em um forno micro-ondas, misturadas enquanto quente para diluição completa e distribuídas em uma placa de Petri para que o meio se solidificasse e, em seguida, foi polvilhado o pólen no meio frio (Figura 5) e por fim cultivada em incubadora tipo BOD. A temperatura da BOD foi mantida em torno de 24 ° C. Após três horas a placa foi submetida a microscopia invertida e realizada a contagem, sendo considerados como germinados aqueles que apresentaram tubo polínico de comprimento igual ou maior ao diâmetro do próprio pólen (Figura 6).



Figura 5. Polvilhamento dos grãos de pólen ao meio já frio.



Figura 6. Visualização em microscopia invertida dos grãos de pólen em meio de cultura após incubação a 24°C.

4.4. Avaliações

4.4.1. Fixação de frutos

As flores e a frutificação foram monitoradas e avaliadas semanalmente (Figura 7a-c), finalizando com uma porcentagem fixa de frutos e, ao atingir o tamanho suficiente, todos os frutos foram colhidos.



Figura 7. Monitoramento e avaliação da frutificação do tratamento 5 - polinização com pólen de tangerina Ponkan Gold RBC (autopolinização) (a) fruto no começo de sua formação; (b) fruto em processo de mudança de cor. (c) fruto perto do ponto de colheita.

4.4.2. Número de sementes por fruto

Após a abertura dos frutos, foi realizada, individualmente, a contagem direta das sementes dos frutos (Figura 7), para verificar a influência dos diferentes pólenes. As amostras para as análises laboratoriais foram obtidas a partir de todos os frutos do experimento, pois o

pegamento entre as variedades era muito distinto e não havia material suficiente em todas as repetições para ser coletada amostras de números iguais de frutos.

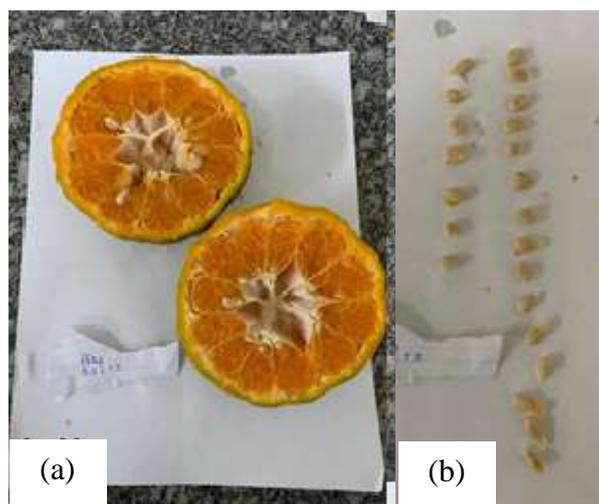


Figura 8. Contagem direta de sementes dos frutos. (a) fruto aberto para realização da contagem de sementes (b) sementes retiradas do fruto para contagem.

4.4.3. Análise físico-química dos frutos

Uma amostra de três frutos por repetição foi retirada para realização das seguintes análises físico-químicas: **massa total dos frutos** - obtida em balança, com precisão de 1 grama (Figura 9a). Determinação da **altura** (Figura 9b) e **diâmetro dos frutos** – realizada através da leitura direta de cada amostra com o auxílio de uma régua laboratorial. **IC (índice de conformidade)** - índice obtido pela divisão da altura pelo diâmetro, esse valor tem relação com o formato do fruto, abaixo de 1 é um fruto com padrão mais achatado, igual a 1 redondo, e acima de 1 alongado. **Rendimento de suco** - obtido pelo esmagamento dos frutos em uma extratora, em que é dado em porcentagem, a partir da relação massa do suco/massa do fruto. **Sólidos solúveis (SS)** - obtido diretamente no refratômetro (RFM 330). **Acidez** - determinada pela titulação de 25 ml de suco por amostra com solução de hidróxido de sódio 0,3125 N, a partir do uso de fenolftaleína como indicador, expressa em porcentagem, como indicam Reed *et al.* (1986). **Ratio** (índice de maturidade) - obtido pela relação direta SS/Acidez Total.

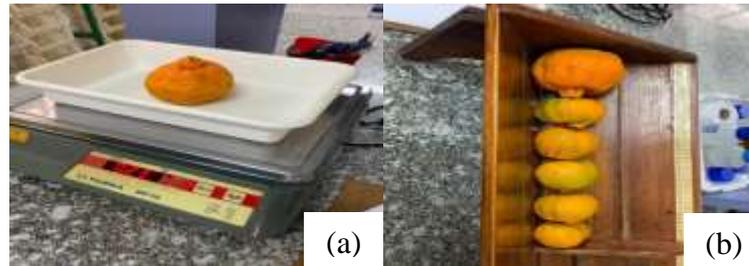


Figura 9. Análise física dos frutos: (a) pesagem de frutos; (b) determinação da altura dos frutos.

4.5. Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à análise de variância e posteriormente foi aplicado teste de comparação de médias (Scott e Knott, 5%).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Viabilidade do pólen e porcentagem de frutos fixados

A viabilidade dos pólenes não diferiu entre as variedades, com valores variando entre 16,08% (laranja Pêra) a 22,06% (tangor Murcott) (Tabela 1). De acordo com Pio (2003), essa avaliação pode variar de acordo com as concentrações de nutrientes no meio de cultura, em estudos anteriores variedades como laranja Valência, Pêra e Natal apresentaram uma viabilidade de 12%, 8% e 6% respectivamente.

A fixação de frutos ficou entre 1,35% e 10,40 %, sendo que os valores ficaram estratificados em três grupos: primeiro, representado pelo tratamento 8 (sem polinização), com o maior valor de fixação de frutos; o segundo pelo tratamento 6 – pólen de tangor Murcott e o terceiro grupo, com uma menor fixação, compreendendo os tratamento de 1 a 5 (Tabela 1). O tratamento com polinização com tangor Murcott Olé (T7) não apresentou nenhum pegamento e, conseqüentemente, não apresentou nenhum fruto. Segundo Wallace & Lee (1999), nos pomares de citros a baixa fixação de frutos ocorre porque pequena quantidade de pólen é depositado naturalmente sobre o estigma, sem a ajuda de um agente polinizador ou, ainda, porque o pólen se torna inviável antes de o estigma estar prontamente receptivo.

Tabela 1. Viabilidade de pólen e porcentagem média de frutos fixados oriundos da polinização controlada (Mogi-Guaçu, São Paulo, 2020/2021).

Tratamento	Viabilidade (%)	Fixação (%)
T1 - laranja Valência	20,18 a	1,38 c
T2 - tangerina Ponkan	19,48 a	2,26 c
T3 - laranja Pêra	16,08 a	3,61 c
T4 - laranja Natal	19,00 a	1,35 c
T5 - Autopolinização	19,45 a	1,63 c
T6 - tangor Murcott	22,06 a	6,19 b
T7 - tangor Murcott Olé	20,75 a	.
T8 – Ausência de polinização manual	.	10,40 a
C.V. (%)	19,95	10,27

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

5.2. Número de sementes

Em todos os tratamentos onde houve a formação de frutos foi observado a presença de sementes (Figura 10). O número de sementes nos frutos de tangerina Ponkan Gold RBC polinizadas com pólen de laranja Pêra (T3) foi maior em relação aos demais tratamentos (Tabela 2), obtendo a média de 21,2 sementes por fruto, no tratamento onde as plantas foram autopolinizadas, os frutos apresentaram uma média de 11 sementes por fruto (Tabela 2). Esses dados corroboram com Vithanage (1991) que realizaram a polinização do tangor Ellendale com diferentes pólenes cítricos, estes observaram que a polinização com pólenes de outras variedades forma maior número de sementes por fruto, no entanto, quando o tangor Ellendale foi autopolinizado houve redução no número de sementes.

O tratamento com ausência de polinização manual (T8) apresentou o menor número de sementes em relação aos demais tratamentos (Tabela 2), com média de 2,42 sementes por fruto. Wallace & Lee (1999), ao estudar a influência do pólen de variedades distintas sobre as características dos frutos de tangor Murcott também observaram que o número de sementes nos frutos dos tratamentos sem polinização foi significativamente menor do que nos com polinização aberta.

O tratamento onde foi realizada a autopolinização (T5) não diferiu estatisticamente dos tratamentos com tangerina Ponkan (T2), laranja Natal (T4) e tangor Murcott (T6) mostrando que a tangerina Ponkan Gold RBC é auto compatível.

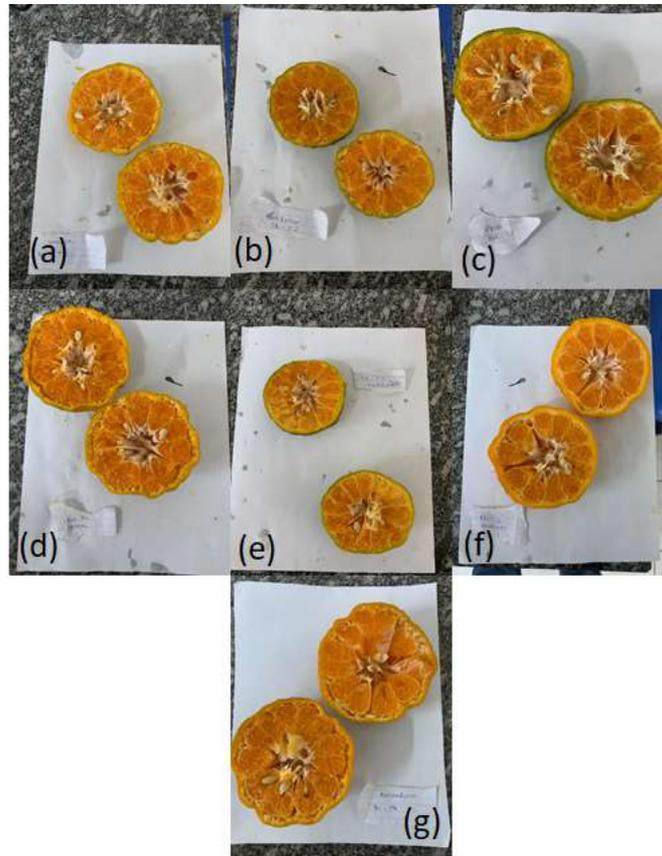


Figura 10. Cortes transversais dos frutos de Ponkan Gold RBC oriundos da polinização controlada com as seguintes variedades: (a) laranja Valência, (b) tangerina Ponkan, (c) laranja Pêra, (d) laranja Natal, (e) tangerina Ponkan Gold RBC (autopolinização), (f) tangor Murcott (g) ausência de polinização manual.

Tabela 2. Número de sementes por fruto da tangerina Ponkan Gold RBC resultantes de polinização controlada com diferentes espécies cítricas (Cordeirópolis, São Paulo, 2020/2021).

Tratamento	Número de sementes
T1 - laranja Valência	16,1 b
T2 - tangerina Ponkan	9,6 c
T3 - laranja Pêra	21,2 a
T4 - laranja Natal	12,6 c
T5 - Autopolinização	11,0 c
T6 - tangor Murcott	8,28 c
T7 - tangor Murcott Olé	-
T8 - Ausência de polinização manual	2,42 d
C.V. (%)	17,68

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

5.3. Análise físico-química dos frutos.

A polinização com pólenes de diferentes variedades ou a autopolinização não influenciaram a massa e altura dos frutos (Tabela 3). Os frutos das plantas de tangerina Ponkan Gold RBC polinizadas com pólen de tangor Murcott (T6) apresentaram menor largura e maior IC, em relação aos demais tratamentos. O IC maior que 1 (um) desses frutos indica seu formato mais alongado. Há trabalhos na literatura que relatam a influência da origem do pólen nas características físicas dos frutos, estudos realizados por Alonso (1982), com tangor Ortanique, observaram que quando essa variedade foi polinizada com laranja Valência e pomelo Ducan houve aumento no diâmetro dos frutos formados.

Tabela 3. Massa, altura, largura e IC (índice de conformação) dos frutos de Ponkan Gold RBC resultantes de polinização controlada com diferentes espécies cítricas (Cordeirópolis, São Paulo, 2020/2021).

Tratamento	Massa (g)	Altura (cm)	Largura (cm)	IC (A/L)
T1 - laranja Valência	276,65 a	8,33 a	10,32 a	0,81 b
T2 - tangerina Ponkan	223,32 a	7,22 a	9,32 a	0,77 b
T3 - laranja Pêra	302,75 a	8,15 a	10,40 a	0,78 b
T4 - laranja Natal	290,62 a	8,55 a	10,05 a	0,85 b
T5 - Autopolinização	233,32 a	7,90 a	9,92 a	0,80 b
T6 - tangor Murcott	237,15 a	7,65 a	7,65 b	1,04 a
T7 - tangor Murcott Olé	-	-	-	-
T8 - Ausência de polinização manual	274,57 a	7,85 a	10,27 a	0,76 b
C.V. (%)	16,54	7,31	8,96	10,81

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

As plantas de Ponkan Gold RBC polinizadas com pólenes de tangerina Ponkan apresentaram maior rendimento de suco (Tabela 4). Os sólidos solúveis foram superiores quando as plantas foram polinizadas com laranja Valência, autopolinizadas e na ausência de polinização manual (Tabela 4). Não houve diferença na acidez dos frutos, mas o *ratio* foi superior nas plantas polinizadas por tangerina Ponkan e tangor Murcott (Tabela 4). Wallace & Lee (1999) estudando a influência de diferentes pólenes sobre os frutos de tangor Murcott, também não observaram efeitos significativos sobre a acidez dos mesmos. FERRARO (2006) em estudos com o tangelo Nova observaram que as características organolépticas dos frutos não eram influenciadas pela polinização cruzada.

Tabela 4. Rendimento de suco, sólidos solúveis (SS), acidez e *ratio* dos frutos de Ponkan Gold RBC resultantes de polinização controlada com diferentes espécies cítricas (Cordeirópolis, São Paulo, 2020/2021).

Tratamento	Rendimento do Suco (%)	SS (°Brix)	Acidez (g100ml⁻¹)	Ratio
T1 - laranja Valência	32,02 c	13,32 a	1,27 a	10,52 b
T2 - tangerina Ponkan	41,22 a	12,05 b	0,92 a	13,50 a
T3 - laranja Pêra	35,17 b	12,05 b	1,20 a	10,15 b
T4 - laranja Natal	36,12 b	12,27 b	1,16 a	10,62 b
T5 - Autopolinização	34,95 b	12,75 a	1,52 a	8,62 b
T6 - tangor Murcott	28,90 c	11,87 b	0,98 a	14,25 a
T7 - tangor Murcott Olé	-	-	-	-
T8 - Ausência de polinização manual	32,15 c	13,15 a	1,18 a	11,72 b
C.V. (%)	7,84	4,07	17,10	14,03

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

6. CONCLUSÕES

Há maior número de sementes nos frutos Ponkan Gold RBC quando polinizada com laranja Pêra e laranja Valência, o que evidencia a influência da polinização cruzada nesta característica dos frutos.

Para o plantio comercial da variedade Ponkan Gold RBC, com finalidade de obtenção de frutos com baixa incidência de sementes, recomenda-se o isolamento do pomar por meio de quebra ventos ou distanciamento de variedades que incrementam o número médio de sementes como a laranja Pêra e laranja Valência.

7. REFERÊNCIAS

AZEVEDO, F. A.; PIO, R. M. Influência da polinização sobre o número de sementes do tangor ‘Murcote’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 468- 471, 2002.

AZEVEDO, F. A.; PIO, R. M. O papel da polinização na citricultura. **Citricultura Atual**, Cordeirópolis, v. 4, n. 23, p. 4-5, 2001.

BARTH, F.G. Insects and flowers: the biology of a partnership. **New Jersey: Princet on University Press**, 1991.

BASTIANEL, M. IV Dia de Citros de Mesa: foco em qualidade de fruto. **Informativo Centro de Citricultura**, Cordeirópolis, n. 218, 4 p. jul. 2013.

BASTIANEL, M.; SIMONETTI, L.M.; SCHINOR, E.H.; GIORGI NETO, R.O.; De NEGRI, J.D.; GOMES, D.N.; AZEVEDO, F.A. Avaliação do banco de germoplasma de mexericas com relação às características físico-químicas e suscetibilidade à mancha marrom de alternária. **Bragantia**, v. 73, p. 23-31, 2014.

BASTOS, D. C.; FERREIRA, E. A.; PASSOS, O. S.; DE SÁ, J. F.; ATAÍDE, E. M.; CALGARO, M. Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 35, n. 281, p. 36-45, 2014.

CAMERON, J.W.; FROST, H.B. Genetics, breeding and nuclear embryony. In: REUTHER, W., WEBBER, H.J., BATCHELOR, L.D. (Ed.) **The Citrus Industry. Berkeley: California Division o Agricultural Sciences**, Unviersity of California, V.2, p.359-360., 1968.

CORRÊA, Marcia Leopoldina Montanari et al. Alimento ou mercadoria? Indicadores de autossuficiência alimentar em territórios do agronegócio, Mato Grosso, Brasil. **Saúde em Debate**, v. 43, p. 1070-1083, 2020.

COUTO, M. A. L., GUIDOLIN, S.; BRAZACA, C. Quantification of vitamin C and antioxidant capacity of citrus varieties. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. Campinas.v. 30, p. 15-19, 2010.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. **Apicultura: manejo e produtos**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 193 p.

DA SILVA, Gilma Alves; LANDAU, Elena Charlotte. Evolução da produção de laranja (*Citrus sinensis*, Rutaceae). **Embrapa Milho e Sorgo-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2020.

DETONI, M. R. Influência do sol nas características físicas e químicas da tangerina “Ponkan” cultivada do oeste do Paraná. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 624-628, mar/abr. 2009.

EINHARDT, P. M.; et al. Comparação entre métodos para testar a viabilidade de pólen. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 1, n. 28, p. 5-7, 2006.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nation. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E> Acesso em: 11 out. 2022.

FERRARO, Aline Enila; PIO, Rose Mary; AZEVEDO, Fernando Alves de. Influência da polinização com variedades de laranja-doce sobre o número de sementes de tangelo Nova. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 244-246, 2006.

FIGUEIREDO, J. O. Variedades copa de sabor comercial. **Citricultura brasileira**. 2.ed. Campinas: Fundação Cargil, 1991.

FULLER, K. Active lifestyles: plant Q&A, 2001. Disponível em (<http://www.staugustine.com>). Acesso em: 01 agost. 2022.

GAYET, J. P. Qualidade de frutas cítricas para exportação. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 14, n. 1, p. 87-90, 1993.

GUARDIOLA, J. L. Frutificação e crescimento. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS, 2., 1992, Bebedouro. **Anais Bebedouro: Fundação Cargil**, 1992.

HODGSON, R.W. Horticultural varieties of citrus. In: Walter, R., Leon, D.B., Herbert, J.W. (Eds.). **The Citrus Industry History, World distribution, Botany, Varieties**. Riverside, p. 431– 591, 1967.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA (IBGE). **Produção de laranja. 2021.** Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/produção-agropecuaria/laranja/br>. Acesso em: 11 out. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA (IBGE). **Produção de tangerina. 2021.** Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/produção-agropecuaria/tangerina/br>. Acesso em: 11 out. 2022.

INVESTE, S. P.; CIDADÃO, S. P. **Instituto de Economia Agrícola (IEA)**. CSSR, v. 2, n. 218, p. 82, 2022.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 410-418, 2007.

KREZDORN, A. H. Pollination requirements of citrus. **Citrus Industry**, v.53, n.28, p.5- 7, 1972.

NEVES, M. F. et al. O Retrato da Citricultura Brasileira. In: **NEVES, M. F.** (Coord.).1. ed. Ribeirão Preto:Markestrat, 2010. 138 p. Disponível em: <<http://www.favaneves.org/arquivos/retratocitriculturabrasileiramarcosava.pdf>>. Acesso em: 01 Jul. 2022.

OLIVEIRA, R. P.; GONÇALVES, A. S.; SCIVITTARO, W. B.; NAKASU, B. H. Fisiologia da formação de sementes em citros. Pelotas, **Embrapa Clima Temperado**, 1ed., 27p., 2004.

PIO, R. M. et al. Variedades de copas de citros. In: **MATTOS JÚNIOR, D.** et al. (Eds.). Citros. Campinas: Instituto Agrônômico/Fundag, 2005. p. 37-60.

PIO, R. M., AZEVEDO, F.A.; DE NEGRI, J.D.; FIGUEIREDO, J.O.; CASTRO, J.L. Características da variedade Fremont quando comparadas com as das tangerinas 'Ponkan' e 'Clementina Nules'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 222-226, 2006.

PIO, R. M.; et al. Características da variedade Fremont quando comparadas com as das tangerinas 'Ponkan'e'Clementina Nules'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 222-226, 2006.

PIO, R.M.; FIGUEIREDO, J.O.; STUCHI, E.S.; CARDOSE, S.A.B. Variedades copas. In: **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, .2005, 929 p.

QUEIRÓZ-VOLTAN, R. B. & BLUMER, S. Morfologia dos citros. In: Mattos Junior, D.; Pio, R. M.; De Negri, J. D.; Pompeu Junior, J. (eds.). **Citros**. Campinas, Instituto Agrônômico e FUNDAG, 929p., 2005.

RAVEN, P.H.; VERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. 5a. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 728p.

REED, J.B.; HENDRIX JR., C.M.; HENDRIX, D.L. **Quality control manual for citrus processing plants Safety Harbor: Intercit**, 1986. v.1, 250p.

ROYAL BUDS CITRICOS (RBC). **Ponkan Gold RBC. 2019**. Disponível em: <https://www.royalbuds.com.br/ponkan-gold>. Acesso em 11 out. 2022.

SAUNT, J. Citrus varieties of the world: an illustrated guide. Norwick: **Sinclair International**, 2000, 160p.

SOCIAS, R. La polinizacion de los frutales. **Hojas divulgadoras**, Zaragoza, n.17, p.3-18, 1987.

SOLER, J.; VILLALBA, D.; CANALLES, J. M.; BELLVER, R.; SALA, J. Formación de semillas. Polinizacion cruzada. **Comunitat Valenciana, Agrária**, Valência, n.4, p.39- 43, 1996.

VASCONCELOS, L. H. C. Aplicação de técnicas pré e pós-colheita em tangerina 'Dekopon'. 2019. **Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Goiás**, Goiânia, 2019. Disponível em: . Acesso em: 10 jul. 2022.

VITHANAGE, V. Effect of different pollen parents on seediness and quality of 'Ellendale' tangor. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, n.48, p.253-260, 1991.

WALLACE, H.M., LEE, L.S. Pollen source, fruit set and xenia in mandarins. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Austrália, v.74, n.1, p. 82-86, 1999.