

ALLAN DEYWS FRANCISCO DA SILVA

Potencial para uso industrial e consumo *in natura* de variedades cítricas e genômica comparativa de espécies da família Rutaceae

**Recife
2019**

ALLAN DEYWS FRANCISCO DA SILVA

Potencial para uso industrial e consumo *in natura* de variedades cítricas e genômica comparativa de espécies da família Rutaceae

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Professora Dra. Rosimar dos Santos Musser – Orientadora – UFRPE

Professor Dr. Mairon Moura da Silva – Coorientador – UFRPE-UAG

Dr. Rômulo Maciel Moraes Filho – Coorientador – UFRPE

**Recife
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S586p Silva, Allan Deyws Francisco da.
Potencial para uso industrial e consumo *in natura* de
Variedades cítricas e genômica comparativa de espécies da família
Rutaceae / Allan Deyws Francisco da Silva. – Recife, 2019.
137 f.: il.

Orientador(a): Rosimar dos Santos Musser.

Coorientador(a): Mairon Moura da Silva, Rômulo Maciel Moraes
Filho.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Agronomia –
Melhoramento Genético de plantas, Recife, BR-PE, 2019.

Inclui referências e anexo(s).

1. Porta-enxerto 2. Acidez 3. Filogenia 4. Bioinformática
I. Musser, Rosimar dos Santos, orient. II. Silva, Mairon Moura da,
coorient. III. Moraes Filho, Rômulo Maciel, coorient. IV. Título

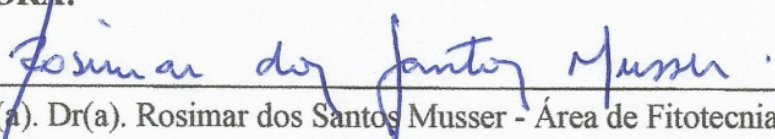
CDD 581.15

ALLAN DEYWS FRANCISCO DA SILVA


Potencial para uso industrial e consumo *in natura* de variedades cítricas e genômica comparativa de espécies da família Rutaceae

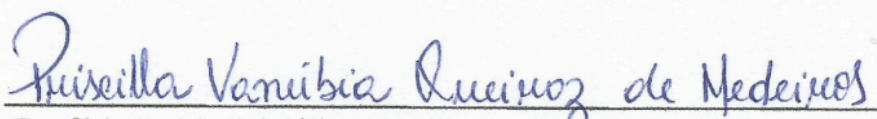
Tese defendida e aprovada pela banca examinadora em: 28/02/2019

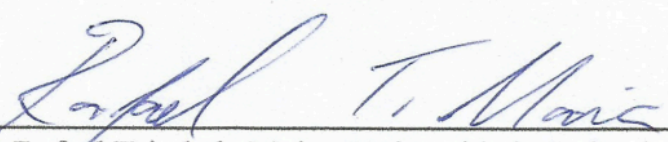
ORIENTADORA:

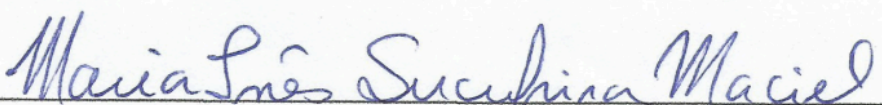

Prof(a). Dr(a). Rosimar dos Santos Musser - Área de Fitotecnia/DEPA/UFRPE

EXAMINADORES


Prof(a). Dr(a). Rejane Rodrigues da Costa e Carvalho - DEPA/UFRPE


Prof(a). Dr(a). Priscilla Vanúbia Queiroz de Medeiros - UAG/UFRPE


Prof. Dr. Rafael Trindade Maia - Universidade Federal de Campina Grande/UFCG


Prof(a). Dr(a). Maria Inês Sucupira Maciel - DCD/UFRPE

Recife
2019

Meu ar

És o meu ar, és minha vida
Tu és tudo para mim
És insondável e é sem medida
Tua glória e poder
Que amor é esse capaz de dar
A própria vida pra me salvar?
Mas sobre a morte ele triunfou
Reina pra sempre e é Senhor

Todo domínio e poder o Pai Ihe deu
E hoje sou livre pra adorar
Pra viver e dizer que...

Tu és o Cordeiro, Digno de louvor
Rei e Senhor pra sempre
Te adoraremos porque só Tu és
E não há outro em Teu lugar

Digno é o Cordeiro que foi morto e reviveu
A ele a honra, a ele a glória
O domínio e o poder

CASSIANE

Ofereço

A Deus o autor da minha vida.

DEDICO

A minha avó Irene Maria José (in memoriam),
aos meus pais Marinalva Maria da Conceição e
Otoniel Francisco da Silva, simplesmente pelo fato
de que sem eles nada disso seria possível.

“Renda-se, como eu me rendi. Mergulhe no que você não conhece como eu mergulhei. Não se preocupe em entender, viver ultrapassa qualquer entendimento”.

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus por ter me guiado e me sustentado em todos os momentos da minha vida.

À minha família por ser a base em que eu pude me apoiar em momentos difíceis durante esses anos de realização da pesquisa.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas (PPGMGP) por me conceder a oportunidade de aperfeiçoamento e crescimento profissional e pessoal.

À Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG-UFRPE) por disponibilizar o Laboratório de Biologia Vegetal para a realização da pesquisa.

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) e a Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMP) pela parceria e fornecimento das plantas essenciais para o desenvolvimento do estudo.

À minha orientadora a professora Dr^a Rosimar dos Santos Musser, pelos conselhos que se transformaram em ensinamentos que levarei para o resto da minha vida.

Ao coorientador Dr. Mairon Moura da Silva pela disponibilidade em auxiliar na realização do trabalho.

Ao meu co-orientador Rômulo Maciel de Moraes Filho pela paciência, incentivo e ensinamentos e por ter se tornado uma peça fundamental chegando no momento oportuno e contribuindo de forma significativa para a finalização da tese.

À professora Dr^a Luiza Suely Semen Martins pela grande ajuda cedendo seu bolsista de PNPd para a realização do terceiro artigo contribuindo de forma significativa com a pesquisa.

Aos professores Pericles de Albuquerque Melo Filho e Rejane Rodrigues da Costa e Carvalho pela grande força, auxílio e compreensão permitindo que esse trabalho fosse concluído.

À técnica do laboratório de Biologia Vegetal Wikilane Silva pela contribuição durante o período da pesquisa em laboratório.

Ao Bacharel Jesuito Bernardo de Araujo por conceder toda a ajuda necessária para a realização da etapa de campo.

Aos funcionários Francisco Soares, Kátia Araújo, Nivaldo Pereira, Manoel Macedo, Cosmo Barros e Cícero Barros não só pela ajuda a mim concedida mais também por diversos momentos de descontração.

Ao Engenheiro Agrônomo MSc. Horace Jimenez pela grande parceria e amizade contribuindo de forma relevante para a pesquisa.

Aos alunos Daniela Andrade e Maxwell Soares pelo apoio e ajuda com as plantas no campo.

Aos amigos do Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas que me deram forças para que cada obstáculo fosse ultrapassado.

Aos amigos de sempre e para sempre Alexsandro Oliveira, Alexsandro Silva, Fernando José, Rhyana Raysa, Elizabeth Albuquerque, Letonio, Joana Barros, Barbara Gonçalves, Jaqueline Ferreira, Luan, Karla Salles, Stella Áurea, Veruska Karla, Bianca Glauco e Paula pelos momentos de descontração, sorrisos e palavras de apoio e incentivo.

Afirmo que sem a ajuda de todos vocês nada disso seria possível, e posso com toda certeza dizer que essa tese pertence a todos, não só pelo trabalho mais pela amizade e ensinamentos que vamos levar para o resto de nossas vidas. E por fim a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente muito obrigado, Deus abençoe a todos.

**“MUITAS SÃO AS AFLIÇÕES DO JUSTO
MAIS O SENHOR DE TODAS
O LIVRARÁ”
(SALMOS 34:19)**

RESUMO

A família Rutaceae, conhecida principalmente pelas espécies cultivadas do gênero *Citrus*, possui aproximadamente 1730 espécies distribuídas em 158 gêneros. Destacam-se na família as espécies *Citrus sinensis* (laranjas) e *Citrus reticulata* (tangerinas) por sua grande importância econômica. Mundialmente, o Brasil se sobressai como o principal produtor de laranjas e maior exportador do suco da fruta. O objetivo deste trabalho foi de avaliar o potencial para consumo *in natura* e industrial de 14 variedades de laranjas (*C. sinensis*) e 12 variedades de tangerinas (*C. reticulata*) nas condições da microrregião de Garanhuns, no Agreste Pernambucano, como também realizar a análise comparativa de sequências completas de Plastomas de 18 espécies pertencentes à família Rutaceae. Para o potencial *in natura* e industrial de variedades de laranja e tangerina foram analisadas as seguintes características morfo-agronômicas: altura da planta; diâmetro e volume da copa; diâmetro do caule acima e abaixo da linha de enxertia; índice de compatibilidade; e as características de qualidade físicas e químicas dos frutos. O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso com três repetições e uma planta por parcela. Os resultados foram submetidos ao teste de médias de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Genomas plastidiais completos de 18 espécies de Rutaceae foram recuperados de bancos de dados e utilizados para uma análise comparativa do grupo. As variedades atendem as exigências para o consumo *in natura*. As variedades Hamlin 02, Sunstar, Pineapple, Pêra D6, Pêra D9 e Valência Tuxpan apresentaram tamanho dos frutos, rendimento do suco e acidez titulável adequados aos padrões mínimos exigidos para a indústria. Nas tangerinas as variedades 'Nova', Minneola, Ponkan e Piemonte atendem os requisitos mínimos para o consumo *in natura* já as variedades Mexerica, Robinson, Lee, Dancy, Murcott, Kinnow, Swatow e Fortune Iniasel apresentaram potencial industrial. Com base nos resultados das análises filogenéticas, recomenda-se a inclusão da espécie *Merrilia caloxylon* na tribo Citreae, resolvendo desta forma o parafiletismo de Clauseneae. Adicionalmente recomenda-se a inclusão das espécies *Orixa japonica*, *Ptelea trifoliata* e *Bauforodendron riedelianum*, que eram previamente classificadas como membros da subfamília Toddaloideae, dentro de Amyridoideae.

Palavras-chaves: Porta-enxerto, acidez, filogenia, bioinformática

ABSTRACT

The Rutaceae family, known mainly for cultivated species of the genus *Citrus*, has approximately 1730 species distributed in 158 genera. *Citrus sinensis* (oranges) and *Citrus reticulata* (tangerines) are notable for their great economic importance. Worldwide, Brazil stands out as the main producer of oranges and the largest exporter of fruit juice. The objective of this work was to evaluate the potential for *in natura* and industrial consumption of 14 varieties of oranges (*C. sinensis*) and 12 varieties of tangerines (*C. reticulata*) under the conditions of the Garanhuns microregion and perform a comparative analysis of complete Plastome sequences of 18 species belonging to the Rutaceae family. For the *in natura* and industrial potential of orange and mandarin varieties, the following morpho-agronomic characteristics were analyzed: plant height; shoots diameter and volume; stem diameter above and below the grafting line; compatibility index; and the physical and chemical quality characteristics of the fruits. The experimental design was in randomized blocks with three replications and one plant per plot. The results were submitted to the Scott-Knott averages test at 5% probability. Complete plastid genomes from 18 species of Rutaceae were retrieved from public databases and used for a comparative analysis of the group. Varieties meet the requirements for *in natura* consumption. The varieties Hamlin 02, Sunstar, Pineapple, Pear D6, Pear D9 and Valencia Tuxpan presented fruit size, juice yield and titratable acidity, which were adequate to the minimum standards required for the industry. Regarding the tangerines, the 'Nova', Minneola, Ponkan and Piemonte varieties meet the requirements for fresh consumption, and the varieties Mexerica, Robinson, Lee, Dancy, Murcott, Kinnow, Swatow and Fortune Iniasel presented industrial potential. Based on the results of the phylogenetic analyzes, the inclusion of the species *Merrillia caloxylon* in the Citreae tribe is recommended, thus solving the Clauséaeae paraphyletism. In addition, it is recommended to include the species *Orixa japonica*, *Ptelea trifoliata* and *Bauforodendron riedelianum*, which were previously classified as members of the subfamily Toddalioideae, within Amyridoideae.

Key-words: Rootstock, acidity, phylogeny, bioinformatics.

ÍNDICE DE TABELA

CAPÍTULO II

Tabela 1. Características morfoagronômicas de 14 acessos de laranja da coleção de Germoplasma de Citrus do IPA - Brejão/PE.....	69
Tabela 2. Copa e porta-enxerto de laranjeiras da coleção de citros do Instituto Agrônomico de Pernambuco, Brejão- PE.....	70
Tabela 3. Médias de altura da planta (AP), diâmetro da copa (DC), volume da copa (VC) diâmetro acima (DAc) e abaixo da enxertia (DAb), índice de compatibilidade (IC) entre enxerto e porta-enxerto de laranjeiras obtidas em abril/2016, Brejão – PE.....	71
Tabela 4. Médias de massa do fruto (MF), massa do suco (MS), rendimento de suco (RS), número de sementes (NS), diâmetro transversal do fruto (DTF), diâmetro longitudinal do fruto (DLF), espessura do epicarpo mais mesocarpo (EP+EM) e espessura do endocarpo (EEN), de laranjas obtidas em agosto/2016, Garanhuns PE.....	72
Tabela 5. Médias dos aspectos químicos dos frutos quanto a sólidos solúveis (SS), potencial hidrogeniônico (pH), acidez titulável (AT), razão SS/AT (Ratio) e teor de vitamina C de laranjas, agosto/2016, Garanhuns PE.....	73

CAPÍTULO III

Tabela 1. Características morfoagronômicas de 12 acessos de tangerina da coleção de Germoplasma de Citrus do IPA - Brejão/PE.....	88
Tabela 2. Copa e porta-enxerto de tangerineiras da coleção de citros do Instituto Agrônomico de Pernambuco, Brejão- PE.....	89
Tabela 3. Médias de altura da planta (AP), diâmetro da copa (DC), volume da copa (VC) diâmetro acima (DAc) e abaixo da enxertia (DAb), índice de compatibilidade (IC) entre enxerto e porta-enxerto de tangerineiras obtidas em abril/2016, Brejão – PE.....	90
Tabela 4. Médias de massa do fruto (MF), massa do suco (MS), rendimento de suco (RS), número de sementes (NS), diâmetro transversal do fruto (DTF), diâmetro longitudinal do fruto (DLF), espessura do epicarpo mais mesocarpo (EP+EM) e espessura do endocarpo (EEN), de tangerinas obtidas em agosto/2016, Garanhuns PE.....	91
Tabela 5. Médias dos aspectos químicos dos frutos quanto a sólidos solúveis (SS), potencial hidrogeniônico (pH), acidez titulável (AT), razão SS/AT (Ratio) e teor de vitamina C de tangerinas, agosto/2016, Garanhuns PE.....	92

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Número de pares de bases (PB), conteúdo de guanina e citosina (GC), genes que codificam proteínas (Protein), RNA ribossômico (rRNA), RNA transportador (tRNA), número de genes (Gene) Espaço gênico de espécies da família Rutaceae.....	113
Tabela 2. Número absoluto de microssatélites. Números entre parênteses representam a frequência (%) dos SSRs gênicos e intergênicos.....	114
Tabela 3. Microssatélites gênicos encontrados nos genomas plastidiais de espécies da família Rutaceae.....	115

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO IV

Figura 1. Alinhamento múltiplo de sequências dos genes contendo microssatélites, em estudos da família Rutaceae.....	116
Figura 2. Alinhamento de sequências completas de plastomas de 20 espécies da família Rutaceae.....	117
Figura 3. Filogenia e Árvore do tempo de 18 espécies da família Rutaceae, baseada em genomas plastidiais completos.....	118
Figura 4. Filogenia da ordem Sapindales baseada em genomas plastidiais completos	119
Figura 5. Filogenia da família Rutaceae baseada em sequências do gene plastidial MatK.....	120

ANEXO

Figura 6. Médias acumuladas mensalmente de precipitação na coleção de citros da Estação Experimental de Brejão - PE, entre o período de janeiro/2015 a dezembro/2017.....	122
Figura 7. Gráfico de temperatura na Estação Experimental de Brejão- PE.....	122
Figura 8. Vista aérea da coleção de citros da Estação Experimental de Brejão – PE.....	123

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO GERAL	
1. Introdução geral.....	16
2. Referencial teórico.....	18
2.1 Origem, introdução e aspectos botânicos.....	18
2.2 Família Rutaceae.....	21
2.3 Citricultura no Brasil.....	23
2.4 Qualidade dos frutos cítricos.....	25
2.4.1 Sólidos Solúveis.....	27
2.4.2 Acidez Titulável.....	27
2.4.3 Ratio (SS/AT)	28
2.4.4 Ácido ascórbico	28
2.5 Melhoramento genético.....	29
2.6 Bioinformática.....	32
2.7 Genoma Plastidial.....	34
2.8 Filotaxonomia.....	36
3. Referências Bibliográficas.....	40
CAPÍTULO II: Potencial para uso industrial e consumo <i>in natura</i> de variedades de laranja na Microrregião de Garanhuns	
1. Resumo.....	55
2. Abstract.....	56
3. Introdução.....	56
4. Material e Métodos.....	58
5. Resultados e Discussões.....	60
6. Conclusões.....	64
7. Agradecimentos.....	64
8. Referências Bibliográficas.....	64
CAPÍTULO III: Potencial para uso industrial e consumo <i>in natura</i> de variedades de tangerina na Microrregião de Garanhuns	
1. Resumo.....	75
2. Abstract.....	76
3. Introdução.....	76
4. Material e Métodos.....	77
5. Resultados e Discussões.....	80
6. Conclusões.....	83
7. Agradecimentos.....	83
8. Referências Bibliográficas.....	84
CAPÍTULO IV: Genômica Comparativa de Plastomas de Espécies da Família Rutaceae	
1. Resumo.....	94
2. Abstract.....	94
3. Introdução.....	95
4. Material e Métodos.....	97
5. Resultados.....	99
6. Discussões.....	102
7. Conclusões.....	106
8. Agradecimentos.....	106
9. Referências Bibliográficas.....	107
ANEXOS	
1. Normas de Redação de Tese / CBAB.....	124
2. Normas da Revista Ciência Rural.....	127
3. Normas da Revista Peer J.....	132

INTRODUÇÃO GERAL

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

As espécies do gênero *Citrus* ocorrem em diversas regiões do globo, sendo encontradas em mais de 140 países, com a maior parte em regiões de clima tropical e subtropical. As espécies mais encontradas são da laranja doce (*Citrus sinensis*) que dentre as espécies do gênero *Citrus* é a mais cultivada mundialmente, seguido de tangerina (*Citrus reticulata*), limão (*Citrus limon*), lima (*Citrus aurantiifolia*), pomelo (*Citrus paradisi*) e toranja (*Citrus grandis*) (Donadio et al. 2005).

O setor citrícola brasileiro é um dos mais representativos do mundo, logo seguido pelos Estados Unidos cujo setor se ocupa, majoritariamente, em produzir laranjas para o fornecimento de matérias-primas para as indústrias de sucos, enquanto a Europa se destaca na produção de frutos de alta qualidade para o mercado de frutas frescas (FAO 2015).

No Brasil, a região sudeste tem participação nacional de 70,2% na produção de citros, sendo o estado de São Paulo o maior produtor de frutas do gênero. Embora o estado de São Paulo seja o maior produtor, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), reporta que outros estados também contribuem para aumentar a produção brasileira no cenário da citricultura mundial, são eles: Bahia (7,5%), Minas Gerais (6,1%), Paraná (5,1%), Sergipe (3,3%) e Rio Grande do Sul (2,7%). Sendo estes estados responsáveis por 95,0% da produção de laranja do país (IBGE 2017).

Com grande potencial para o cultivo de citros, o Nordeste, com área colhida, quantidade produzida e rendimento médio de 125.803 ha, 1.751.295 t de frutas e 13,9 t ha⁻¹, respectivamente, é a região que responde por 10,77% da produção nacional de laranja doce, e tem como principais produtores a Bahia e Sergipe (IBGE 2017). No entanto, devido às condições edafoclimáticas, altitude, amplitude térmica e disponibilidade de grandes áreas para o cultivo, o município de Garanhuns com uma altitude de 750 m apresenta grande potencial para estudo e desenvolvimento de variedades cítricas visando a aumento da economia para todo o estado (Almeida e Passos 2011).

Outro grande problema da citricultura no Brasil são as condições de cultivo utilizadas, pois a maioria dos pomares brasileiros são baseados em plantas enxertadas, em que atributos favoráveis da copa são combinados com aqueles

pelo uso do porta-enxerto. No entanto, um número restrito de variedades-copa é utilizado nos pomares e um menor ainda de porta-enxertos (Carvalho et al. 2016). Portanto esses fatores tornam obrigatório um maior incentivo à diversidade e proporciona com isso uma nova vertente à exploração e produção de citros de mesa para o mercado interno e externo, não dependendo apenas do mercado de suco (Almeida e Passos 2011).

O uso do porta-enxerto exerce uma função muito importante principalmente sobre as características relacionadas aos frutos, como rendimento de suco, sólidos solúveis, tamanho dos frutos, coloração dos frutos e produtividade (Castle 1995, Fadel 2015). Diante disso muitas instituições de pesquisa voltadas para o melhoramento de citros vêm fazendo seleção e cedendo diversas variedades de porta-enxerto, como também de copa e suas combinações, buscando aqueles materiais mais adaptáveis a região Nordeste, com diversas pesquisas relacionadas à avaliação de potenciais genótipos de variedades-copa e porta-enxertos, principalmente relacionadas à produção de citros de mesa para dar uma continuidade ao desenvolvimento do setor citrícola brasileiro (Nascimento Júnior 2012, Medeiros et al. 2013).

As relações taxonômicas tanto no gênero *Citrus* como na família Rutaceae tem sido discutidos por vários autores, com base em caracteres morfológicos (Engler 1931), bioquímicos (Appelhans et al. 2018) e moleculares (Chase et al. 1999, Poon et al. 2007, Groppo et al. 2008, Morton e Telmer 2014). As relações filogenéticas dentro da família Rutaceae constituem um tema de extrema importância nos estudos de biologia evolutiva devido a controvérsias com relação à taxonomia e filogenia. Estudos evidenciaram que a problemática é devido à longa história de cultivo, poliembrionia na maioria das espécies, altas taxas de mutação e a ampla compatibilidade sexual entre o gênero *Citrus* e gêneros relacionados (Handa et al. 1986, Nicolosi et al. 2000, Pang et al. 2003).

Nos últimos anos novas técnicas de sequenciamento com o uso da plataforma bioinformática permitiram que estudos evolutivos e comparativos fossem realizados em larga escala, como também foi possível à obtenção de marcadores filogenéticos para plantas a um estágio superior, produzindo informações genômicas acuradas, rápidas e a baixos custos (Metzker 2010). Diversos estudos de evolução e comparação genômica tem sido realizados com

o objetivo de aumentar a resolução filogenética em diversos níveis tanto em angiospermas (Yang et al. 2013, Erguiluz et al. 2017, Zhu et al. 2018) como para a família Rutaceae (Groppo et al. 2012, Morton e Telmer 2014, Appelhans et al. 2018).

Diante do exposto o trabalho tem como objetivos: 1) classificar variedades cítricas quanto ao seu potencial de uso industrial e consumo *in natura*, visando dar suporte à seleção para diversificação de pomares brasileiros; 2) comparar os plastomas de espécies da família Rutaceae.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Origem, introdução e aspectos botânicos

A origem dos citros está compreendida entre 20 e 30 milhões de anos, nas regiões subtropicais e tropicais da Ásia e no arquipélago Malaio, de onde foram dispersos para as diversas regiões do mundo. As principais plantas de interesse comercial dentro do grupo dos citros pertencem aos gêneros *Citrus*, *Poncirus* e *Fortunella*. O gênero *Poncirus* tem seu provável centro de origem no norte da China e o gênero *Fortunella* tem seu centro de origem no Sul da China (Swingle e Reece 1967, Araújo e Roque 2005, Donadio et al. 2005).

As plantas do gênero *Citrus*, tem seu provável centro de origem em regiões úmidas tropicais e subtropicais do Sudeste asiático, com extensões que vão do centro da China, África Tropical ao Leste da Índia. Pesquisas indicam que a laranja azeda (*Citrus aurantium*) é nativa do Sul da Ásia, possivelmente da Índia e a laranja doce (*C. sinensis*) tem provável centro de origem na Indochina e no sul da China. A lima ácida (*C. aurantiifolia*) é provavelmente oriunda do leste da Índia, enquanto o limão da parte oriental do Himalaia, Índia e áreas adjacentes (Davis e Albrigo 1994, Donadio et al. 2005, Soriano et al. 2010).

As principais áreas citrícolas situam-se em regiões com climas tropicais e subtropicais entre os paralelos 20° e 40° de latitudes norte e sul, onde possuem condições que favorecem a produção e a qualidade de frutos, pois em regiões com baixas temperaturas pode se apresentar um fator limitante tanto para o desenvolvimento das plantas, baixa qualidade de frutos, redução na produtividade e morte das plantas (Koller 2006).

No mundo a introdução dos citros ocorreu através das forças armadas muçulmanas, comerciantes árabes e invasores. Estudos indicam que a cidra (*C. medica* L.) foi a primeira espécie cítrica a ser introduzida na Europa há aproximadamente 310 anos a.C. Estudos relatam que só por volta do ano de 1.150 d.C., a laranja doce (*C. sinensis* (L.) Osbeck) e os limões (*C. limon* (L.) Burm.F.) foram introduzidos nos continentes Europeu e Africano, entretanto, suas origens continuam desconhecidas. As tangerinas (*C. reticulata* Blanco) foram introduzidas na Europa no século XIX (Webber et al. 1967, Koller 1994, Donadio et al. 2005), através das sementes trazidas pelos portugueses e laranja-doce foi introduzida nas ilhas Madeira, ilhas Canárias e em outras colônias do leste do Atlântico (Almeida e Passos 2011).

No continente Americano, a laranja-doce foi introduzida em meados de 1493 por Cristóvão Colombo onde na sua segunda viagem, levou sementes desta espécie, que se encontravam nas ilhas Canárias, para a ilha do Haiti (Almeida e Passos 2011), dispersando-se por todo o continente americano. No Brasil a primeira introdução foi feita pelos jesuítas portugueses no século XIV, provavelmente por volta de 1530 nos estados da Bahia e São Paulo (Almeida e Passos 2011). Entretanto aqui, com melhores condições para vegetar e produzir do que nas próprias regiões de origem, as citrinas se expandiram para todo o país (Lopes et al. 2011, Oliveira et al. 2012).

O gênero *Citrus* pertence à família Rutaceae, subfamília Aurantioideae e tribo Citreae, na qual envolve quase a totalidade das espécies comerciais cultivadas, como as laranjas doces (*Citrus sinensis* L. Osbeck), a mais importante de todas as frutas cítricas; laranjas azedas (*C. aurantium*), tangerinas e mexericas (*C. reticulata* Blanco), limas ácidas (*C. aurantiifolia* S.), lima Tahiti (*C. latifolia* Tanaka), limões verdadeiros (*C. limon* Burn), pomelos (*C. paradisi* Macf), cidra (*C. medica*) e toranjas (*C. grandis*) (Lopes et al. 2011). O gênero *Citrus* no geral apresenta um conjunto cromossômico $x = 9$, sendo sua condição mais frequente a diploidia ($2n = 2x = 18$), embora que estudos indicam que existem indivíduos triploides e tetraploides (Araújo e Roque 2005).

A taxonomia do gênero *Citrus* é bastante controversa, onde ainda não existe um consenso estabelecido, porém a classificação mais utilizada pelos pesquisadores é o sistema Swingle (Swingle e Reece 1967) que reconhece 16

espécies, agrupadas em dois subgêneros: *Citrus* que inclui as espécies de valor econômico e *Papeda* que se constituem das espécies mais primitivas e sem valor econômico. Por outro lado, existe o sistema de classificação proposto por Tanaka (1977), que reconhece 162 espécies, agrupadas em segmentos dentro de dois subgêneros: *Archicitrus* e *Metacitrus*.

Estudo realizado por Asíns et al. (1998) baseado na diversidade isoenzimática de 198 variedades de *Citrus*, acarretou a separação informal das espécies cítricas de acordo com a afinidade das variedades entre si em dois grupos: tangerinas e laranjas (*C. reticulata*, *C. sinensis*, *C. aurantium*) e o das limas, limões, cidras e pomelos (*C. aurantiifolia*, *C. limon* (L.) Burm, *C. limettioides* Tan., *C. medica*, *C. maxima*, e *C. paradisi*).

O gênero *Citrus* no geral apresenta-se como plantas de porte médio, arbóreas ou arbustivas, copas com ramos angulares e com presença de espinhos axilares, folhas do tipo coriácea, alternada e simples, flores de coloração branca e aromáticas, hermafroditas, solitárias ou na forma de racimo, com 4-5 sépalas, e de 4-8 pétalas, com números que podem variar entre 100.000 a 200.000 flores/planta, porém estes não são garantia de uma ótima produção. Os frutos de coloração e formas variadas são do tipo baga, com epicarpo de espessura fina a média quase lisa, mesocarpo constituído pela parte branca da casca denominada de albedo, endocarpo dividido em um número variável de segmentos ou gomos reunidos ao redor de um eixo central denominado columela e a semente (Swingle e Reece 1967, Simão 1971, Castro et al. 2001, Lorenzi et al. 2006).

O sistema radicular é geralmente distribuído, em sua maior parte, cerca de 80%, no primeiro metro de profundidade sendo responsável pela absorção de nutrientes do solo. O crescimento vegetativo das plantas cítricas é influenciado principalmente pelo efeito residual do crescimento da estação anterior sendo que em plantas jovens, esse efeito exerce função no tamanho final e a futura capacidade de frutificação (Ortolani et al. 1991, Castro et al. 2002).

Para os citros terem um bom desenvolvimento e produção das plantas é desejável regiões de climas mais amenos, com temperaturas diurnas em torno de 25 a 30 °C, e noturna de 10 a 15 °C, com precipitação mínima em torno de 1.200 mm anuais, distribuídos durante todo o ano, em condições climáticas

favoráveis ocorrem o favorecimento da transpiração pela abertura dos estômatos (Rodriguez 1991, Carneiro et al. 2010).

No entanto, o clima exerce grande influência sobre os citros, dentre esses podemos citar adaptação das variedades, na taxa de crescimento, no comportamento fenológico, nas características físicas e químicas dos frutos, quantidade e qualidade dos frutos e na produtividade (Rodriguez 1991, Carneiro et al. 2010). Dentre os fatores climáticos podemos citar a temperatura que além de exercer influência sobre a qualidade dos frutos, também exerce efeito significativo sobre a duração do florescimento, onde sob condições de climas mais quentes os botões florais se abrem em poucos dias, com isso ocorre à concentração da floração, queda e pegamento dos frutos, portanto em temperaturas mais amenas esse período de abertura pode se estender, resultando em um florescimento distribuído durante o ano (Spiegel-Roy e Goldschmidt 1996).

A propagação comercial dos citros envolve a propagação assexuada para a copa e sexuada para o porta-enxerto devido principalmente ao melhor desenvolvimento do sistema radicular, no entanto tratando-se de mudas certificadas, os porta-enxertos podem ser produzidos também a partir da estaquia ou micropropagação, porém, sempre, em ambiente protegido, portanto esses métodos só estão sendo notadamente observados em experimentos de pesquisa (Oliveira et al. 2008). Outra característica importante é a poliembrionia que permite que propagação sexuada seja considerada assexuada devido à obtenção de plântulas de origem nuclear (Carvalho et al. 2005).

2.2 Família Rutaceae

A família Rutaceae é uma família de larga distribuição, predominantemente tropical e subtropical, possuindo cerca de 160 gêneros e 1900 espécies, distribuídas em regiões úmidas e temperadas, com grande ocorrência na América tropical, sul da África e Austrália. No Brasil a família é representada por 32 gêneros, sendo cinco endêmicos, e 195 espécies sendo 107 pertencentes ao país (Groppo et al. 2008, Pirani e Silva-Luz 2018). A família é formada em sua maioria por arbustos e árvores e tem como características folhas alternadas, simples ou compostas com presença de glândulas

translúcidas formadas por pequenos reservatórios produtores de óleos voláteis aromáticos a depender da espécie podem ser encontrados acúleos nas folhas ou no caule (Grosso et al. 2008, Aguiar 2013, Pirani e Silva-Luz 2018).

A família apresenta uma grande importância no que se refere a aspectos ecológicos e econômicos, no que diz respeito a frutas comestíveis estando incluídas espécies do gênero *Citrus* (laranjas, tangerinas, limas e limões). Na produção de óleos aromáticos se destacam as espécies dos gêneros *Boronia* e *Ruta*, com finalidades ornamentais temos os gêneros *Boronia*, *Ravenia*, *Choisya*, *Correa*, *Murraya*, *Triphasia*, como fonte de madeiras se destacam os gêneros *Flindersia*, *Zanthoxylum*, *Balfourodendron* e *Euxylophora* e na produção de bebidas amargas utilizadas para fins medicinais temos como representantes espécies dos gêneros *Angostura*, *Galipea*, *Pilocarpus* e *Ruta graveolens* (Yildizoglu-Ari et al. 1991, Abreu et al. 2005, Januário et al. 2009, Grosso et al. 2012).

Além das importâncias mencionadas acima a família também é importante devido à presença de uma composição química bastante abrangente, sendo capaz de produzir uma ampla variedade de metabólitos secundários como podemos citar as cumarinas, alcaloides e ligninas (Oliveira et al. 2016), flavonóides (Arruda et al. 2012), limonoides (Sun et al. 2015), amidas (Cerqueira et al. 2012) e terpenos (Barrera et al. 2014).

Essa grande quantidade de metabólitos fornece substâncias com variadas atividades biológicas, diante disso atualmente vem sendo realizado diversos estudos envolvendo principalmente a fitoquímica de espécies desta família com objetivo de encontrar espécies com fontes potenciais de compostos químicos para a obtenção de novos medicamentos de interesse terapêutico (Barrera et al. 2013, Matos et al. 2014, Silva et al. 2014, Marin et al. 2018).

A família também conta com gêneros entre eles o gênero *Citrus* que além de ter sua importância na indústria de suco, também apresenta importância alimentar e no que diz respeito a extração de diversos subprodutos da laranja os quais incluem fabricação de produtos químicos e solventes, aromas, fragrâncias, tintas, cosméticos e complementos para ração animal (Embrapa 2003, Silva et al. 2011).

2.3 Citricultura no Brasil

A Citricultura brasileira teve seu início nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro, com o principal objetivo de atender o mercado de exportação, portanto em 1930 com o apoio da Secretaria de Agricultura e Abastecimento, e também com alguns fatos históricos como a decadência do setor cafeeiro, a crise ocasionada pela segunda guerra mundial e o aparecimento da mosca-do-mediterrâneo levaram a expansão da citricultura paulista. Deste momento em diante configurava-se o potencial da citricultura para a balança comercial agrícola, com um aumento exponencial das áreas plantadas em São Paulo (Donadio et al. 2005).

Na estrutura socioeconômica brasileira a citricultura representa um importante segmento, podendo ser constituída como uma das importantes atividades agroindustriais (Silva et al. 2016). A importância brasileira, como produtora de citros, está focada principalmente na laranja, onde o Brasil responde com 60% da produção mundial de suco de laranja recebendo o título de maior produtor e exportador de suco concentrado de laranja, com safra para os anos de 2017/18 estimada em 364,47 milhões de caixas, e também um total de 191,69 milhões de plantas na safra incluindo as produtivas e em formação. De acordo com o Fundo da Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS) e o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos-United States Department of Agriculture (USDA), dentre os países importadores de suco concentrado em ordem decrescente estão: União Europeia (66,7 %), Estados Unidos (20,7 %), Japão (4,7 %) e por último a China com (2,9 %) (Fundecitrus 2017, USDA 2018).

A região Sudeste se caracteriza como a principal região produtora de laranja com cerca de 520 mil hectares plantados e uma produção de 11 milhões de toneladas, seguido da região Nordeste com 116 mil ha e produção de 1,5 milhão de toneladas, em terceiro temos a região Sul com 50 ha e aproximadamente 1 milhão de toneladas em quarto aparece a região Norte com área de 21 ha e 284 mil toneladas e por último temos a região Centro-Oeste com área de 355 ha e produção de 181 toneladas (IBGE 2017).

Segundo as informações do Instituto de Economia Agrícola do Estado de São Paulo (IEA), a produção de tangerina brasileira nos últimos anos vem se ampliando e ganhando mercado, sendo responsável por cerca de 3,5 % da

produção mundial. No Brasil as principais regiões em ordem decrescente são: Sudeste (61%), Sul (31%), Nordeste (3%), Norte (3%) e Centro-Oeste (2%). O cultivo da tangerina no Brasil contrapõe a laranja devido a sua produção ser voltada principalmente para o consumo *in natura*, visando atender principalmente o mercado interno (IBGE 2017, IEA 2018).

Com relação à área plantada e produção de laranja nas regiões do Brasil merece destaque o estado de São Paulo com aproximadamente 471 mil ha plantados e uma produção de 10 milhões de toneladas, seguido do estado de Minas Gerais com uma área de 43 mil ha plantados e uma produção de 918 mil toneladas. O mesmo pode ser observado na tangerina onde temos o estado de São Paulo caracterizado como maior produtor com área plantada de 10 mil ha e uma produção em torno de 370 mil toneladas, seguido de Minas Gerais com área colhida de 9 mil ha e uma produtividade média de 149 mil toneladas (IBGE 2017).

A região Nordeste é a segunda maior região produtora de laranja e a terceira maior produtora de tangerina no Brasil, nela se destacam os estados da Bahia com uma área de aproximadamente 61 mil ha plantados e uma produção de 930 mil toneladas de laranja, seguido do estado de Sergipe com uma área de 45 mil ha plantados e uma produção de 490 mil toneladas. Em relação à tangerina temos como principais produtores os estados da Paraíba com uma área de aproximadamente mil hectares e uma produção de 13 mil toneladas, seguido da Bahia com 946 hectares e uma produção em média de 10 mil toneladas. O estado de Pernambuco contribui com aproximadamente 494 ha e uma produção de aproximadamente 2.842 mil toneladas de laranja nas safras de 2016/2017 (Pereira et al. 2014, IBGE 2017).

Segundo Passos et al. (2002), a região Nordeste apresenta-se como uma região de grande potencial não só pelos estados da Bahia e Sergipe, mas também pela ausência de doenças endêmicas, pela sua proximidade dos principais mercados importadores como a Europa e os Estados Unidos. O estado de Pernambuco apesar de não ser o principal produtor na região Nordeste, possui uma grande extensão de áreas que apresentam alto potencial para a produção cítrica, como, por exemplo, podemos citar o município de Garanhuns como também municípios vizinhos, que devido à altitude acima de 750 metros e temperaturas amenas, apresenta grande potencial principalmente para o cultivo

de citros para o consumo *in natura* (Passos et al. 2005, Almeida e Passos 2011). Contudo as áreas de produção em Pernambuco somam um contingente de 150 a 200 mil pessoas envolvidas, ressaltando a importância econômica e social da citricultura para a região (Agrianual 2010).

Uma alternativa para os produtores consiste na diversificação da comercialização principalmente com variedades que atendam as exigências do mercado para o consumo *in natura*, com isso o mercado interno vem se firmando nos últimos anos como uma alternativa rentável para o futuro da citricultura no Brasil. Entretanto essa alternativa de escoamento de produtos para o mercado interno ainda enfrenta desafios como, por exemplo, a concorrência com outros tipos e frutas de excelente qualidade (Boteon e Neves 2005).

No entanto, a melhoria na qualidade dos frutos, organização na comercialização, redução das barreiras tarifárias e fitossanitárias e o aproveitamento das aberturas do mercado externo são condições essenciais para um bom desenvolvimento tanto do mercado interno como para a exportação de frutas frescas (Boteon e Neves 2005).

2.4 Qualidade dos frutos cítricos

A qualidade de um produto é atribuída a diversas características que diferenciam unidades individuais, as quais determinam o grau de aceitabilidade do produto pelo consumidor. Portanto devem-se considerar os atributos sensoriais, físicos e a composição química dos produtos, além disso, associações devem ser realizadas entre medidas diretas e indiretas, para um melhor conhecimento das transformações que ocorrem, afetando ou não os atributos de qualidade do produto final (Chitarra e Chitarra 1990). Os consumidores selecionam frutos considerando uma correlação de alguns atributos com a qualidade, estes atributos constituem o sabor, odor, aparência, valor nutritivo e textura (Rabelo 2000, Pereira et al. 2014).

No Brasil, a maior parte da produção é destinada à indústria de suco, porém autores vêm destacando a importância do mercado de citros *in natura* principalmente por se constituir um mercado dinâmico (Borges e Pio 2003, Donadio et al. 2005). Contudo diversas características são estabelecidas tanto para o mercado de consumo *in natura* quanto para o processamento industrial,

sendo as mais relevantes: textura, tamanho apropriado, coloração e espessura da casca que deve ser fina para facilitar o descascamento, relação entre sólidos solúveis e ácidos (ratio), rendimento do suco, cor intensa e uniforme, índice tecnológico, conservação pós-colheita e resistência ao transporte (Auler et al. 2008, Tazima et al. 2009).

Uma das principais características que afetam na qualidade dos frutos seja para processamento industrial ou consumo *in natura* é o número de sementes, no entanto, os citrinos apresentam particularidade dentro de suas espécies onde são classificadas em função do número médio de sementes observadas por fruto, em cinco categorias: variedades sem sementes, praticamente sem sementes, poucas sementes, com sementes e com muitas sementes. No entanto vale ressaltar que para atender os requisitos de qualidade os frutos devem possuir ausência ou baixo número de sementes (Oliveira e Svitlaro 2011).

O consumo de frutas *in natura* ou de seus sucos proporciona a ingestão de metabólitos secundários, ou seja, compostos com atividades antioxidante como ácido ascórbico, compostos fenólicos, flavonóides e limonóides (Barbasso et al. 2005, Couto e Canniatti-Brazaca 2010). De acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa 2003) e Silva et al. (2011), além da produção de suco e do consumo *in natura*, se investe também, em pequena escala, na extração de diversos subprodutos da laranja os quais incluem fabricação de produtos químicos e solventes, aromas, fragrâncias, tintas, cosméticos e complementos para ração animal.

Os atributos químicos, físicos e físico-químicos dos frutos influenciam diretamente na qualidade final de seus produtos seja para o consumo *in natura* ou subprodutos (Medina 2005, Sousa 2009). No entanto, para atender as exigências estabelecidas pelo mercado consumidor, as indústrias processadoras de sucos além de analisarem os parâmetros físico-químicos de acidez, pH, ratio, sólidos solúveis, ácido ascórbico, óleo essencial, cor e viscosidade, estão também adicionando a essas análises a análise sensorial, pois esta proporcionará dados relevantes para definir melhor as expectativas do consumidor (Janzantti et al. 2011). A composição química dos frutos influencia significativamente os atributos sensoriais, como aroma, sabor, textura e cor,

sendo tais atributos influenciados, principalmente, pelos ácidos e açúcares (Pacheco et al. 2014).

2.4.1 Sólidos solúveis (SS)

O teor de sólidos solúveis é um valor que tem sido utilizado como índice de maturidade para os frutos e são quantificados com o auxílio de um refratômetro expresso em °Brix. Os sólidos solúveis indicam a quantidade em gramas de todos os sólidos (açúcares, sais, proteínas, ácidos orgânicos) dissolvidos na água do suco, onde a leitura consiste no somatório do total desses sólidos.

A concentração de sólidos solúveis do fruto pode variar em função de fatores genéticos e ambientais, mesmo se colhidos com aparente maturidade fisiológica (Ting 1983, Martinsen e Schaare 1998, Moura 1998, Chitarra e Chitarra 2005, Moraes 2006). No entanto, os açúcares são os mais representativos dentro dos sólidos solúveis apresentando-se na forma de glicose, sacarose e frutose. São preferíveis frutos que apresentem altos teores de sólidos solúveis tanto para o consumo *in natura* quanto para a industrialização, pois propiciam maior rendimento no processamento, em razão da maior quantidade de glicose, sacarose e frutose produzidas por quantidade de polpa (Chitarra 2001, Santos 2009).

O Programa Brasileiro para Modernização da Horticultura (HORTIBRASIL) que instrui as normas de classificação dos citros, publicados pela Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) estabelece os requisitos mínimos para o teor de sólidos solúveis, 10 °Brix para laranjas, 9,0-10,5 °Brix para tangerinas e 7 °Brix para a lima ácida Tahiti (CEAGESP 2011).

2.4.2 Acidez titulável (AT)

A acidez titulável se constitui como principal fator que indica a qualidade dos frutos. A concentração de ácidos nos frutos aumenta no início do desenvolvimento, se tornam constantes nas fases iniciais de crescimento e diminui durante o amadurecimento. Esse decréscimo durante o amadurecimento se dá pela sua utilização como substrato da respiração ou como estrutura de

outras substâncias sintetizadas (Medina 2005, Sousa 2009, Salaya 2011). Para o consumo *in natura* são preferíveis frutos que tenham uma acidez titulável menor que um e para a indústria esse valor tem que ser maior que um (Montenegro et al. 1958).

2.4.3 Ratio (SS/AT)

O ratio ou relação sólidos solúveis (SS) e a acidez titulável (AT) é o indicador utilizado em pesquisas que envolvem qualidade de frutos por determinar o estágio de maturação comercial dos frutos, determinando o balanço entre o doce:ácido, sendo mais representativa que as análises isoladas da acidez e dos sólidos solúveis (Chitarra e Chitarra 2005, Couto e Canniatti-Brazaca 2010). A faixa de ratio nos frutos pode sofrer variação entre 6 e 20, sendo que o intervalo entre 15 e 18 são os preferidos pelos consumidores, já para o processamento a faixa varia entre 12 e 13 (Viégas 1991). O aumento do ratio verificado em laranjas doces pode ser explicado pela idade das plantas, relação copa/porta-enxerto, variações climáticas, floradas e produtividade (Volpe 2002, Shoffele e Barbosa 2002). Sartori et al. (2002) em um estudo para determinação da maturação de seis cultivares de laranjas doces consideraram maduros e adequados para o consumo *in natura*, frutos que obtiveram valores situados na faixa entre 8,8 e 15,4 para a relação SS/AT.

2.4.4 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico (vitamina C) além de ser um poderoso antioxidante pela facilidade de oxidação, também faz parte de um grupo de substâncias químicas complexas necessárias para o adequado funcionamento do organismo. Caracteriza-se como uma vitamina hidrossolúvel, sendo encontrada principalmente em hortaliças e frutas cítricas (Bobbio e Bobbio 1992, Zhang e Hamazu 2004).

O teor de vitamina C nas frutas pode variar em detrimento de diversos fatores como: variações genéticas, espécie, manuseio pós-colheita, tipo de processamento, condições de estocagem e estágio de maturação na época da colheita (Silva et al. 2006). O teor de vitamina C em variedades de laranja podem variar de 35 a 70 mg de ácido ascórbico/100 mL⁻¹ de suco, enquanto em

tangerinas esses valores variam entre 20 a 50 mg de ácido ascórbico 100 mL⁻¹ de suco (Varsel 1980, Detoni 2009).

A qualidade do fruto também é influenciada pela diversificação agroclimática do país e principalmente suas condições de cultivo, ressaltando uma grande quantidade de locais e ambientes onde são cultivados (Cerqueira et al. 2004). A composição das diversas variedades dos frutos cítricos tem influência principalmente do porta-enxerto, clima, altitude e tratos culturais, justificando assim as análises de cultivares nas diversas condições regionais para atender aos padrões do mercado nacional de frutas frescas e/ou de processamento industrial (Oliveira et al. 2005).

2.5 Melhoramento genético dos citros

No mundo o primeiro programa oficial de melhoramento genético dos citros foi iniciado na Flórida, em 1983 coordenado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). Após sua criação muitos avanços foram obtidos, sobretudo nos Estados Unidos, Brasil, Espanha, França, Itália, China, Japão, Israel, Austrália, África do Sul, dentre outros países (Soost e Roose 1996, Oliveira et al. 2014). O melhoramento genético clássico para os citros consiste principalmente na seleção de mutantes espontâneos ou induzidos e de híbridos naturais e na hibridação sexual controlada. Já as estratégias para o melhoramento via uso de ferramentas de biotecnologia temos: a fusão de protoplasto, mapeamento genético, transformação genética e sequenciamento de genoma (Oliveira et al. 2014). O melhoramento genético de citros é dirigido tanto a cultivares porta-enxertos, como a cultivares-copa e suas interações, com relação ao porta-enxerto buscam características como compatibilidade com as cultivares copa, indução de alta produtividade e qualidade de frutos, redução de porte, tolerância a fatores abióticos, como seca, salinidade e frio, tolerância/resistência a fatores bióticos, tais como tristeza dos citros, gomose de *Phytophthora*, declínio e morte súbita-dos-citros e com o de modernas técnicas de biotecnologia, envolve também a introdução e seleção de genótipos superiores, adaptados às diferentes condições edafoclimáticas (Oliveira et al. 2011a, Oliveira et al. 2011b, AGÊNCIA FAPESP 2016).

Outra vertente consiste no estudo da poliembrionia e apomixia nuclear que tem importância tanto no melhoramento e seleção de porta-enxertos, como para multiplicação comercial, pois a depender do grau de poliembrionia das sementes esse atributo vai determinar maior ou menor facilidade para a multiplicação por sementes. Sendo assim, um porta-enxerto comercial deve apresentar diversas características como: alto número de sementes por embrião, alta produção de sementes/fruto e alta taxa de poliembrionia. No que se refere à produção de híbridos utilizando métodos convencionais de melhoramento a preferência é pela monoembrionia do parental feminino devido à formação de indivíduos zigóticos (Passos et al. 2006, Nakano et al. 2013, Santos et al. 2015).

A variedade copa por ser responsável pelas características dos frutos é escolhida de acordo com o mercado a ser explorado, seja ele para o mercado de suco ou de consumo *in natura*, ou variedades com ambas as finalidades. O porta-enxerto, nesse contexto exerce influência importante sobre a copa, como vigor, produtividade, precocidade de produção, composições orgânica e inorgânica das folhas e frutos e absorção de nutrientes. Na escolha de um bom porta-enxerto além de características principais outras também devem ser consideradas como a adaptabilidade às características edafoclimáticas regionais e a tolerância e/ou resistência a pragas e doenças (Bastos et al. 2014).

Em relação as cultivares-copa para produção de frutos de mesa, o melhoramento genético de citros busca genótipos que produzam frutas saborosas, fáceis de descascar, sem sementes, de colorações intensas da casca, da polpa e do suco, com épocas de produção mais precoces e mais tardias, com alto teor de sólidos solúveis e acidez equilibrada (Oliveira et al. 2011a, Oliveira et al. 2011b). Quanto as cultivares-copa para indústria, têm-se direcionado o melhoramento genético para maior produção de sólidos solúveis (SS) por área cultivada, maior porcentagem de suco por fruto e ampliação do período de colheita (Spiegel-Roy e Goldschmidt 2008, Oliveira et al. 2014).

Os citros apresentam grande diversidade, em função de sua genética e biologia, parte dessa diversidade encontra-se armazenada em importantes bancos de germoplasma, localizados no Centro APTA Citros Sylvio Moreira, vinculado ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), em Cordeirópolis, SP, na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, BA, no Instituto

Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), em Valência, na Espanha, no USDA, em Riverside, na Califórnia, Estados Unidos, no National Citrus Germplasm Repository (NCGR), em Beibei, na China dentre outros (Machado et al. 2005, Oliveira et al. 2014).

A ampliação do número de variedades com potencial para utilização em plantios comerciais tem sido responsabilidade do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), através do Centro APTA Citros Sylvio Moreira, aonde vem desenvolvendo pesquisas com o objetivo de avaliar e ampliar acessos pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Citros, com o objetivo de ampliar a oferta de variedades para o segmento tanto industrial como para o consumo *in natura* (Petry 2017). O Centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC realiza também melhoramento genético de citros via cruzamentos dirigidos. Novos híbridos entre tangor (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*) cv. 'Murcott' e laranja (*Citrus sinensis*) cv. 'Pera' tem sido obtida pelo IAC. As novas variedades se encontram em fase de avaliação agrônômica e de qualidade de frutos e de suco (Petry 2017).

Devido à elevada ocorrência de mutações somáticas, culminando no surgimento de novos alelos favoráveis com características desejáveis e que se adaptam aos sistemas de produção utilizados pelos produtores, um dos métodos tradicionais mais utilizados objetivando o alcance mais rápido de tais características refere-se à introdução de material genético visando a posterior aplicação da seleção massal (Sobrinho et al. 2003).

Devido à particularidade das condições climáticas do Nordeste brasileiro, alguns autores recomendam para a citricultura a utilização de uma interação porta-enxertos/copa com boas características de adaptação às condições climáticas, principalmente tolerantes à seca, o que possibilita diversidade de respostas à deficiência hídrica, fato que possibilitará a diversificação de materiais que sustentem a citricultura (Brito et al. 2008).

Nesse cenário o sucesso de um pomar cítrico passa diretamente pela escolha do porta-enxerto. No entanto, ao se escolher o porta-enxerto deve-se considerar principalmente o surgimento futuro de pragas e doenças. A história da citricultura brasileira mesmo com seus problemas vem demonstrando à importância advinda da diversificação de variedades. E se observamos o atual

cenário mundial com graves mudanças climáticas, associado à globalização ressalta a importância em se diversificar os pomares dentro da citricultura levando em consideração tanto variedades copas quanto variedades porta-enxertos (Fialho Costa 2017).

2.6 Bioinformática

A bioinformática consiste em um campo interdisciplinar que une a informática a biologia e tem como meta aplicar e desenvolver técnicas computacionais que possam ser utilizados em estudos da biologia molecular, da genética e da bioquímica. Esse novo campo é de extrema importância para a construção de bases de dados contendo informações sobre genes e proteínas dos organismos. O uso da bioinformática além de permitir que novas técnicas para o armazenamento e mapeamento das informações extraídas dos genes sejam estudadas e estruturadas, proporciona análises mais rápidas de diferentes DNAs, no processo comparativo de variabilidade e na previsão de resultados de análises (Wieczorek e Leal 2002, Gasparino et al. 2008).

Essas informações tais como: sequências de aminoácidos, nucleotídeos e proteínas que foram geradas ao longo de vários anos, sejam disponibilizadas à comunidade científica através de grandes bancos de dados sendo eles públicos ou privados, permitindo interação entre diferentes grupos como também o acesso e adição de novos dados úteis para a manipulação. Sequências de nucleotídeos na ordem de milhões de pares de bases são adicionadas ao banco de dados públicos recebendo identificação única chamada de acessos, evitando a repetição de dados que serão disponibilizados aos pesquisadores (Moraes 2003, Reis et al. 2011).

O principal banco de dados é o banco de genes sediado nos EUA (GenBank), que disponibiliza todas as sequências publicamente disponíveis de DNA, RNA e proteínas de diversos organismos, estando acessível através do National Center for Biotechnology Information (NCBI). O GenBank além de informações com relação a genes e proteínas, também fornece dados sobre genomas completos, mapas gênicos, taxonomia e informações sobre estruturas proteicas (Benson et al. 2000, Reis et al. 2011). As análises computacionais também têm sido utilizadas em estudos de taxonomia, filogenia e na busca por

marcadores microssatélites de diferentes espécies (Tambarussi et al. 2009, Melotto-Passarin et al. 2011, Sorkheh et al. 2016, Liu et al. 2016, Moraes Filho e Martins 2016).

Várias são as ferramentas que podem ser utilizadas dentro do NCBI dentre elas temos o Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) que serve para realizar comparações entre as diferentes sequências de DNA estando envolvido em análises locais de similaridade e o Open Reading Frame Finder (ORF-Finder) que consiste em uma ferramenta gráfica responsável pela tradução de sequências de DNA/RNA. O algoritmo CLUSTAL diferentemente do BLAST tem como função a execução de alinhamentos múltiplos no qual as sequências envolvidas são analisadas em níveis globais de similaridade (Altschul et al. 1990, Page 1996, Thompson et al. 1997, NCBI 2018).

Estudos relacionados com a análise comparativa de sequências têm sido realizados com o objetivo de avaliar as similaridades entre as sequências como propiciar a reconstrução da história evolutiva das espécies e das famílias multigênicas, nesse âmbito foi desenvolvido o Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA), um programa importante para análise de caracteres relacionados com a evolução, que pode ser utilizado para análises com sequências nucleotídicas, proteicas e marcadores moleculares (Kumar et al. 2004, Tamura et al. 2007). Dentro do programa MEGA podem ser encontrados algoritmos como Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Means (UPGMA), máxima parcimônia e Neighbor-Joining (NJ) que possibilita a verificação de dados filogenéticos através da obtenção de dendrogramas (Eck e Dayhoff 1965, Fitch 1971, Sneath e Sokal 1973, Saitou e Nei 1987, Kumar et al. 2004).

O conjunto de genes de um organismo é denominado genoma. Nas últimas décadas grandes avanços nessa área têm sido obtidos com o desenvolvimento da bioinformática e de métodos de sequenciamento automático de DNA cada vez mais eficientes. Os primeiros trabalhos de sequenciamento do genoma no mundo para as espécies de *Citrus* e de gêneros próximos, foi realizado em diversos países para variedades de laranja-doce, “Clementinas”, na Espanha, tangerineira “Ponkan”, *Poncirus trifoliata* e limoeiro “Cravo”, no Brasil e nos

Estados Unidos, Brasil para variedades de toranja, e para o citrangeiro “Carrizo”, nos Estados Unidos (Oliveira et al. 2014).

A primeira espécie pertencente à família Rutaceae a ter o sequenciamento do genoma concluído foi à espécie *Citrus sinensis* cv. Valência no ano de 2013, sendo selecionado por se tratar de uma das laranjeiras mais importantes, cultivada no mundo todo e destinada principalmente para a produção de suco de laranja (Xu et al. 2013). O Consórcio Internacional do Genoma de *Citrus* (ICGC) no ano de 2014, publicou o sequenciamento de nove espécies do gênero *Citrus* incluindo a sequência de *Citrus sinensis* e *Citrus clementina* selecionada para sequenciamento no ano de 2009 (Aleza et al. 2009, Wu et al. 2014). Em 2015 foi sequenciado o genoma completo da espécie *Zantoxylum piperitum* uma espécie de planta com óleos aromáticos úteis na família Rutaceae (Lee et al. 2016). Atualmente existem no National Center for Biotechnology Information (NCBI) cerca de oito gêneros e dezoito espécies pertencentes à família Rutaceae, com sequenciamento completo do genoma disponível no banco de dados.

2.7 Genoma plastidial

Os plastídios se caracterizam por possuir organelas com funções armazenadoras, e são classificados de acordo com a coloração que adquirem quando maduros em cloroplastos, cromoplasto, amiloplastos e leucoplastos, possuem uma membrana dupla, da origem dos plastídeos em decorrência de uma relação endossimbiótica entre uma célula não-fotossintetizante e uma cianobactéria resultando nas duas membranas (Cavalier-Smith 2000, Raven et al. 2001).

O cloroplasto é uma organela presente em algas e plantas, tendo como principal função a realização da fotossíntese. O genoma dessa organela citoplasmática é independente do genoma nuclear e a herança é predominantemente materna, possui seu próprio DNA genômico (cpDNA) e conformação circular (Palmer 1991, Timmis et al. 2004, Raubeson e Jansen 2005, Bock 2007, Xiong et al. 2009). No entanto, os cloroplastos também são responsáveis por diversas vias metabólicas essenciais para planta, como biossíntese de aminoácidos, pigmentos e vitaminas (Taiz e Zeigler 2004).

No estudo da evolução das plantas, uma ferramenta muito útil e amplamente utilizada é o DNA de cloroplasto (cpDNA). Genomas de cloroplasto geralmente variam de 100 a 200 kb sendo composto por duas regiões repetidas e invertidas denominadas IRA e IRB que separam as duas regiões de cópia única: uma curta (SSC) e uma região longa (LSC). Essas regiões incluem genes ribossomais e genes plastidiais e se caracterizam por apresentar um alto grau de conservação em tamanho, estrutura, ordem linear dos genes e conteúdo genético (Provan et al. 2001, Chumley et al. 2006, Shaw et al. 2007, Avise 2009, Green et al. 2011).

Os genomas plastidiais geralmente possuem os genes 16S, 23S, 5S e 27-31 genes de RNA transportador (tRNA) que são suficientes para a tradução de todos os aminoácidos, três genes para a subunidade da RNA polimerase, genes para o fotossistema I, fotossistema II, citocromo e síntese de ATP com aproximadamente 80 proteínas (Green et al. 2011, Huang et al. 2013).

O cpDNA contém uma cápsula extracelular além de informações genéticas que são codificadas nas proteínas enzimáticas e estruturais. Suas sequências nucleotídicas são consideradas conservadas tornando esse DNA uma importante fonte de evidência no que tange as relações evolutivas entre taxas fotossintéticas. O cpDNA se tornou uma ferramenta bastante importante no que diz respeito a sua utilização principalmente em estudos que envolvem filogenia e evolução de espécies pois oferece diversas vantagens como possuir natureza não recombinante, herança uniparental e abundância na célula (Provan et al. 2001, Nishikawa et al. 2002, Dhingra e Foltá 2005, Provan 2008).

Os genomas plastidiais têm sido alvo de diversos estudos principalmente como em trabalhos de filogeografia com uso de genes e espaçadores intergênicos (Pfeil et al. 2008, Scarcelli et al. 2011, Apeelhans et al. 2018, Wu et al. 2018), como em trabalhos de filogenia com o objetivo de determinar as relações entre as espécies como para a identificação molecular de plantas (Chumley et al. 2006, Groppo et al. 2008, Tambarussi et al. 2009, Penjor et al. 2013, Morton e Telmer 2014, Fu et al. 2017) geralmente utilizando os genes *rbcl*, *matK* e o *trnH-psbA* (CBOL 2009).

2.8 Filotaxonomia

A família Rutaceae pertence à ordem Sapindales que consta de nove famílias, sendo representada no Brasil por seis famílias incluindo: Burseraceae com 18 gêneros e 540 espécies. No Brasil ocorrem 104 espécies sendo 21 delas de ocorrência restrita ao país. Meliaceae com cerca de 50 gêneros e 550 espécies, no Brasil consta de 88 espécies sendo 32 espécies endêmicas do país, Simaroubaceae com cerca de 22 gêneros e 109 espécies, no Brasil ocorrem 6 gêneros e 30 espécies, sendo 14 delas endêmicas ao país, com diversidade concentrada na Amazônia e na Mata Atlântica, Anacardiaceae com 81 gêneros e 800 espécies, sendo representada no Brasil por 14 gêneros e 55 espécies e Sapindaceae com aproximadamente 133 gêneros e 1.450 espécies, e no Brasil ocorrem 22 gêneros e 380 espécies. A ordem é composta por plantas lenhosas e um grande potencial secretor como, por exemplo, óleos, látex e resinas são observados dentro do grupo (Barroso et al. 1991, Daly e Perdiz 2017, Flores 2017, Silva-Luz e Pirani 2017, Pirani et al. 2017b; Pirani e Silva-Luz 2018).

A subfamília Aurantioideae pertence à família Rutaceae sendo composta por 33 gêneros e cerca de 200 espécies, com ampla distribuição mundial, mais especificamente em zonas tropicais e subtropicais (Swingle e Reece 1967). Em um estudo realizado por Carpenter e Reece (1969) com base em dados morfológicos e anatômicos dividiram a subfamília em duas tribos: Clauseneae e Citreae. A tribo Citreae é composta por três gêneros de interesse econômico (*Citrus*, *Poncirus* e *Fortunella*), e esses gêneros se caracterizam por apresentar semelhanças entre si, como por exemplo, fraca barreira reprodutiva culminando na geração de híbridos tornando-os taxonomicamente complexos (Guerra et al. 2000).

A família Rutaceae é uma família de larga distribuição, predominantemente tropical e subtropical, possuindo cerca de 160 gêneros e 1900 espécies, distribuídas em regiões úmidas e temperadas, com grande ocorrência na América tropical, sul da África e Austrália (Groppo et al. 2008, Pirani e Silva-Luz 2018).

Devido à ampla distribuição geográfica aliada à sua diversidade morfológica que inclui uma grande variedade de flores, frutos e hábitos de crescimento, os membros da família Rutaceae têm sido tradicionalmente

divididos em subfamílias, tribos e subtribos (Engler 1931). Embora estudos filogenéticos com base em dados moleculares tenham mostrado o monofilismo da subfamília Aurantoideae que envolve o gênero *Citrus* (Chase et al. 1999, Poon et al. 2007, Groppo et al. 2008, Groppo et al. 2012, Morton e Telmer 2014), no entanto todas as outras subfamílias com mais de um gênero como ocorre em Flindersioideae, Rutoideae e Toddalioideae quase todas as tribos não são monofiléticas e a partir dessas constatações vários rearranjos foram propostos com base em dados moleculares (Chase et al. 1999, Poon et al. 2007, Groppo et al. 2008, Salvo et al. 2008, Morton e Telmer 2014).

Filogenia molecular de acordo com Li (2000), é definida como sendo o uso de sequências de ácidos nucleicos e aminoácidos, elementos transponíveis, e outros marcadores para a obtenção de informações sobre as relações evolutivas entre os organismos e seus genes. O resultado de uma análise filogenética molecular é expresso numa árvore filogenética, sendo esta uma das principais formas de se representar a filogenia dentro de um grupo, outra forma seria através de uma matriz numérica onde esses números expressariam o quanto cada uma das espécies está próxima da outra dentro do grupo analisado (Hillis e Moritz 1996, Felsenstein 2004).

A aplicação de análises filogenéticas iniciou como uma ferramenta usada principalmente por taxonomistas na classificação de organismos. No entanto, esses sistemas filogenéticos procuram utilizar todas as informações disponíveis a respeito das espécies envolvidas, como também relacionar essas espécies segundo sua afinidade baseada em ancestralidade e descendência (Amorim 2002, Hall 2008).

Os tipos de análises utilizadas no desenvolvimento de árvores filogenéticas são as fenéticas e cladísticas (Avice 1994). A metodologia cladística se baseia na história evolutiva comum entre membros do mesmo grupo, sendo correlacionado mais com membros do mesmo grupo do que com outros organismos (Marouelli 2009). Entre os métodos cladísticos mais utilizados na reconstrução filogenética pode-se citar o método de Máxima parcimônia (Farris 1983), Máxima verossimilhança (Edwards e Cavalli-Sforza 1964), e análise bayesiana (Huelsenbeck et al. 2001). Portanto, o uso da metodologia cladística, com dados moleculares somados com os avanços na computação

tem sido bastante importante na realização de diversos trabalhos nos últimos anos principalmente na área de sistemática vegetal, sendo responsáveis por mudanças no panorama da visão interna de várias famílias botânicas, como por exemplo, a família Rutaceae (Bruniera 2010).

O método de máxima parcimônia faz a busca por árvores que minimiza o comprimento total da árvore ou o número de passos que se faz necessário para explicar os padrões verificados nos dados (Swofford et al. 1996). A análise de máxima parcimônia faz avaliações nas árvores, traçando perfis até a obtenção de uma árvore com menor escore. Como essas análises geram normalmente mais de uma árvore, deve-se escolher pela árvore de maior consenso que apresente o maior grau de concordância entre as árvores obtidas em uma dada análise filogenética (Marouelli 2009).

O método ainda permite que durante a busca sejam realizados diversos rearranjos com o objetivo de aumentar a probabilidade de efetuar todo o arranjo parcial das árvores obtidas (Marouelli 2009). A melhor árvore é aquela que apresenta um menor número de mudanças ao longo dos ramos e os testes de confiança para as árvores resultantes de uma análise filogenética e realizado geralmente pelo *bootstrap* (Yang e Rannala 2012).

A taxonomia e filogenia que envolve os gêneros da família Rutaceae, além de diversos estudos e ainda controversas devido, principalmente, a fatores como: longa história de cultivo, poliembrionia na maioria das espécies, altas taxas de mutação e a ampla compatibilidade sexual entre o gênero *Citrus* e gêneros relacionados (Handa et al. 1986, Nicolosi et al. 2000, Pang et al. 2003).

Devido a isto estudos realizados com marcadores moleculares vêm sendo explorados principalmente em espécies de *Citrus*, pois os sistemas de classificação tradicionais que são baseados em caracteres morfológicos são incapazes de resolver a história evolutiva da família (Swingle 1943, Tanaka 1977, Chase et al. 1999, Poon et al. 2007, Groppo et al. 2008, Morton e Telmer 2014).

Apesar de amplamente usados, marcadores baseados em características dos frutos não são adequados para estabelecer grupos em Rutaceae (Groppo et al. 2008). O estudo com marcadores moleculares tem mostrado grandes avanços na compreensão do status de classificação de numerosas espécies de

Citrus (Pang et al. 2003, Groppo et al. 2008, Groppo et al. 2012, Morton e Telmer 2014).

Os dados da sequência molecular revolucionaram os estudos evolutivos e aumentaram imensamente a resolução das árvores filogenéticas (Patil et al. 2015). Esses marcadores podem ser do tipo genes nucleares que são os introns ITS (Intenal Transcribed Spacer) do DNA ribossomal nuclear (nrDNA), que correspondem aos espaçadores ITS1 e ITS2, os quais separam os genes 18S; 5,8S e 26S ou marcadores plastidiais (matK, rbcL, trnL, trnI-F, ndhF e atpB) (Soltis et al. 1998). Genes mitocondriais, nucleares e de cloroplastos tem sido bastante empregado para o estudo da variação de sequências em nível de gênero entre esses podemos citar o gene rbcL analisado em diversos estudos para abordar a sistemática de plantas (Chase 1993, Groppo et al. 2008, Morton e Telmer 2014).

Os introns ITS por evoluírem rapidamente e apresentar um alto grau de polimorfismo são bastante utilizados em estudos filogenéticos com considerável resolução em níveis taxonômicos mais baixos como gênero e espécie. Já as regiões codificadoras do DNA ribossomal (rDNA) evoluem lentamente e são altamente conservadas com isto a resolução se dá em níveis taxonômicos mais elevados (Baldwin et al. 1995, Doyle e Luckow 2003). A utilização de sequências de ITS também tem sido bastante útil em estudos filogenéticos em níveis infragenéricos em plantas de várias famílias, devido as suas rápidas taxas de evolução de sequências como também alta taxa de substituição nucleotídica (Baldwin 1992, Baldwin et al. 1995).

O gene rbcL, que codifica a maior subunidade da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase oxidase (RuBisCO) é um gene bastante utilizado em estudos que envolvem a sistemática de plantas, por possuir taxa de evolução lenta, com isso apresenta uma considerável resolução em níveis taxonômicos mais elevados, como família (Chase et al. 1993, Pinto 2015). O gene rbcL também apresenta a vantagem de ser facilmente amplificado e sequenciado na maioria das plantas terrestres sendo considerado como um *locus* de referência em estudos filogenéticos, resultando em um posicionamento confiável de um táxon num gênero e/ou família (Kress e Erickson 2007).

A filogenia baseada em marcadores plastidiais têm revelado informações importantes para a compreensão da família Rutaceae. Além do *rbcL* o gene *matK* está sendo visto como potencial candidato para o estudo da sistemática e evolução das plantas. Esse gene apresenta um tamanho de 1500 pb e se localiza dentro do intron do *trnK* e codifica para a proteína maturase, que por conseguinte está envolvida no processamento dos introns do grupo II. Os exons do gene *trnK* que flanqueiam o *matK* foram perdidos deixando o gene intacto (Notredame et al. 2000, Selvaraj et al. 2008).

Penjor et al. (2013) conseguiram informações uteis a partir de um estudo filogenético utilizando o gene *matK* em espécies de *Citrus*. A análise do gene *matK* pode ser útil para estudar a filogenia dos gêneros incluídos em Aurantioideae, devido a possuir um tamanho ideal, alta taxa de substituição, grande proporção de variação no nível de ácido nucleico na primeira e segunda posição do códon e taxas de mutação mais rápida em comparação com outros marcadores utilizados para reconstruções filogenéticas, como o gene *rbcL*. Essas características do gene *matK* são exploradas para resolver os relacionamentos entre a família e a espécie (Olmstead et al. 1994, Hilu et al. 1997, Selvaraj et al. 2008).

3. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Abreu IN, Sawaya ACHF, Eberlin MN e Mazzafera P (2005) Production of pilocarpine in callus of jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* stapf). **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant** 41: 806-811.

Agência FAPESP (2016) **Laranja doce pode tornar-se geneticamente resistente a pragas agrícolas: 2016**. FAPESP, São Paulo. Disponível em: <<http://agencia.fapesp.br/24287/>> Acesso em 20 de abril de 2018.

AGRIANUAL (2010) **Anuário da Agricultura Brasileira**. 15^a ed, FNP Consultoria e Comércio, São Paulo, 520p.

Aguiar C (2013) Botânica para ciências agrárias e do ambiente. In: Rutaceae. Instituto Politécnico, **Bragança 1**: 48p.

Aleza P, Juárez J, Hernández M, Pina JA, Ollitrault P e Navarro L (2009) Recovery and characterization of a *Citrus clementina* Hort. ex Tan. 'Clemenules' haploid plant selected to establish the reference whole Citrus genome sequence. **BMC Plant Biology** 9: 1-17.

Almeida CO e Passos OS (2011) **Citricultura brasileira em busca de novos rumos: Desafios e oportunidades na região nordeste**. Editora Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, 160p.

Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers E e Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology** **215**: 403-410.

Amorim DS (2002) **Fundamentos de sistemática filogenética**. 3ª ed., Holos Editora, Ribeirão Preto, 136p.

Appelhans MS, Reichelta N, Groppo M, Paetzolda C e Wen J (2018) Phylogeny and biogeography of the pantropical genus *Zanthoxylum* and its closest relatives in the proto-Rutaceae group (Rutaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolutions** **126**: 31-44.

Araújo EF e Roque N (2005). Taxonomia dos citros. In Mattos Junior D, Negri JD, Pio RM e Pompeu Júnior, J (eds) **Citros**. Instituto Agronômico e Fundag, Campinas, p. 124-127.

Arruda AC e Cruz Silva S (2012) Fitoquímica e quimiosistemática de *Euxylophora paraensis* (Rutaceae). **Química Nova** **35**: 2119-2124.

Asíns MJ, Mestre PF, Herrero R, Navarro L e Carbonell EA (1998) Molecular markers: a continuously growing biotechnology area to help Citrus improvement. **Fruits** **53**: 293-302.

Auler PAM, Fiori-Tutida ACG e Tazima ZH (2008) Comportamento da laranja 'Valência' sobre seis porta-enxertos no noroeste do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura** **30**: 229-234.

Avise JC (2009) Phylogeography: retrospect and prospect. **Journal of Biogeography** **36**: 3-15.

Avise JC, Nelson WS., e Sibley CG (1994). DNA sequence support for a close phylogenetic relationship between some storks and New World vultures. **Proceedings of the National Academy of Sciences** **91**: 5173-5177.

Baldwin BG (1992) Phylogenetic utility of the Internal Transcribed Spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the Compositae. **Molecular phylogenetics evolutions** **1**: 3-6.

Baldwin BG, Sanderson MJ, Mark Porter J, Wojciechowski MF, Campbell CS e Donoghue MJ (1995) The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **82**: 247-277.

Barbasso DV, Júnior MJP e Pio RM (2005) Caracterização fenológica de variedades do tipo Murcott em três porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura** **27**: 399-403.

Barrera CAC, Andrés C, Suárez C, Enrique L e Londoño CQ (2013) Farmacognosia y farmacobotánica de especies pertenecientes a los géneros *Esenbeckia* y *Raputia* (Rutaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinales** **18**: 638-653.

Barrera CAC, Parra J e Suarez LEC (2014) Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (rutaceae). **Elementos** **4**: 31-39.

Barroso GM, Peixoto AL, Ichaso CLF, Costa CG, Guimarães EF e Lima HC (1991) **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v.2, Imprensa Universitária, Viçosa, 377p.

Bastos D, Ferreira EA, PASSOS OS, Sá JS, Ataíde EM e Calgaro M (2014) Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira. **Informe Agropecuário 35**: 36-45.

Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Rapp BA e Wheeler DL (2000) GenBank. **Nucleic Acids Research 28**: 15-18.

Bobbio PA e Bobbio FO (1992) **Química do processamento de alimentos**. 2ª ed, Varela, São Paulo, 151p.

Bock R (2007) Structure, function, and inheritance of plastid genomes. In: R. Bock (ed) **Cell and Molecular Biology of Plastids**. Göteborg University, Göteborg, p. 29-64.

Borges RS e Pio RM (2003) Comparative study of the mandarin hybrid fruit characteristics: Nova, Murcott and Ortanique in Capão Bonito – SP, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura 25**: 448-452.

Boore JL (2007) Analysis of 81 genes from 64 plastid genomes resolves relationships in angiosperms e identifies genome-scale evolutionary patterns. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104**: 19369-19374.

Boteon M e Neves EM (2005) Citricultura brasileira: aspectos econômicos. In: Mattos Junior D, Negri JD, Pio RM e Pompeu Júnior, J (eds) **Citros**. Instituto Agrônomo e Fundag, Campinas, p. 19-36.

Brito MEB, Fernandes PD, Gheyi HR, Melo AS, Cardoso JAF e Soares Filho WS (2008) Sensibilidade de variedades e híbridos de citrange à salinidade na formação de porta-enxertos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias 3**: 343-353.

Bruniera, CP (2010) **Estudos filogenéticos e sistemáticos em Rutaceae: análise cladística e posicionamento de *Almeidea* A. St.-Hil. entre as Galipeinae (Galipeae, Rutoideae) com o uso de dados morfológicos e moleculares**. 2010. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Carneiro JLS, Ferreira CF, Soares Filho WS, Passos OS e Gesteira AS (2010). Caracterização molecular de acessos do banco ativo de germoplasma de citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura. **Anais Jornada Científica Embrapa Mandioca e Fruticultura 4**: 034.

Carpenter JB e Reece PC (1969) **Catalog of genera, species, and subordinate taxa in the orange subfamily Aurantioideae (Rutaceae)**. Crops Research, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture Beltsville, Maryland, 500p.

Carvalho LM, Carvalho HWL, Soares Filho WS, Martins CR e Passos OS (2016) Porta-enxertos promissores, alternativos ao limoeiro 'Cravo', nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 51**: 132-141.

Carvalho R, Soares Filho WS, Brasileiro-Vidal AC e Guerra M (2005) The relationships among lemons, limes, and citron: A chromosomal comparison. **Cytogenetic and Genome Research 109**: 276-282.

Castle WS (1995) Rootstock as a fruit quality factor in citrus and deciduous tree crops. **Journal of Crop and Horticultural Science** **23**: 383- 394.

Castro PRC, Marinho CS, Paiva R, Menegucci JLP (2001) Fisiologia da produção de citros. **Informe agropecuário** **22**: 26-38.

Castro PRC, Marinho CS, Paiva R, Menegucci JLP (2002) Fisiologia da produção de citros. **Informe agropecuário** **23**: 26-38.

Cavalier-Smith T (2000) Membrane heredity and early chloroplast evolution. **Trends in Plant Science** **5**:174-182.

CBOL (2009) Plant Working Group. A DNA barcode for land plants. **Proceedings of the National Academics of science of the Unites States of America** **106**: 12794-12797.

CEAGESP (2011) Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo-CEAGESP, Programa Brasileiro para Modernização da Horticultura. **Normas de classificação de citros de mesa**. CEAGESP, São Paulo, 12 p.

Cerqueira EC, Castro Neto MT, Peixoto CP, Soares Filho WS, Ledo CAS, Oliveira JG (2004) Resposta de porta-enxertos de citros ao déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura** **26**: 515-519.

Cerqueira CDN, Santos DA, Malaquias KDS, Lima MMDC, Silva MFDGF, Fernandes JB e Vieira PC (2012) Novels N-benzoyltyramines of *Swinglea glutinosa* (Rutaceae). **Química Nova** **35**: 2181-2185.

Chase MW, Morton CM e Kallunki JA (1999) Phylogenetic relationships of Rutaceae: a cladistic analysis of the subfamilies using evidence from rbcL and atpB sequences variation. **American Journal of Botany** **86**: 1191-1199.

Chase MW, Soltis DE, Olmstead RG, Morgan D, Les DH, Mishler BD, Duvall MR, Price RA, Hills HG, Qiu Y-L, Kron KA, Rettig JH, Conti E, Palmer JD, Manhart JR, Sytsma HM, Kress WJ, Karol KG, Clark WD, Hedren M, Gaut BS, Jansen RK, Kim KJ, Wimpee CF, Smith JF, Furnier GR, Strauss SH, Xiang Q-Y, Plunkett GM, Soltis MS, Swensen SM, Williams SE, Gadek PA Quinn CJ, Eguiarte LE, Golenberg E, Learn Jr. GH, Graham SW, Barrett SCH, Dayanandan S and Albert VA (1993) Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene rbcL. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **80**: 528-580.

Chitarra AB (2001) **Tecnologia de pós-colheita para frutas tropicais**. Instituto de Desenvolvimento da Fruticultura e Agroindústria - SINDIFRUTA, Fortaleza, 314 p.

Chitarra MIF e Chitarra AB (1990) **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 1ª, ESAL/FAEPE, Lavras, 320p.

Chitarra MIF e Chitarra AB (2005) **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª ed, Editora UFLA, Lavras 785p.

Chumley TW, Palmer JD, Mower JP (2006) The complete chloroplast genome sequence of *Pelargonium x hortorum*: organization and evolution of the largest and most highly rearranged chloroplast genome of land plants. **Molecular biology and evolution** **23**: 2175-2190

Couto MAL, Canniatti-Brazaca SG (2010) Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos 30**: 15-19.

Daly DC e Perdiz RO (2017) Burseraceae. In **Flora do Brasil 2020 – Algas, Fungos e Plantas em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> > Acesso em: 05 dez. 2018.

Davies FS e Albrigo LG (1994) **Citrus**. CAB International, Wallingford, 254p.

Detoni A, Herzog NFM, Ohland T, Kotz T e Clemente E (2009) Influência do sol nas características físicas e químicas da tangerina Ponkan cultivada no Oeste do Paraná. **Ciência Agrotécnica 33**: 624-628.

Dhingra A e Folta KM (2005) ASAP: Amplification, sequencing & annotation of plastomes. **BMC Genomics 6**: 1-13.

Donadio LC, Mourão Filho FAA, Moreira CS (2005) Centros de origem, distribuição geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. In Mattos Júnior D, Negri JD, Pio RM, Pompeu Júnior J. (Ed.). **Citros**. Instituto Agrônomo e Fundag, Campinas, p.1-18.

Doyle JJ e Luckow MA (2003) The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. **Plant Physiology 131**: 900-910.

Eck RV e Dayhoff MO (1965) **Atlas of protein sequence and structure**. National Biomedical Research Foundation, Silver Spring, 95p.

Edwards AWF e Cavalli-Sforza LL (1964) Reconstruction of evolutionary trees. In Heywood V e McNeill J (eds.) **Phenetic and phylogenetic classification**. Systematic Association Publication 6. London, p. 67-76.

Eguiluz M, Rodrigues NF, Guzman F, Yuyama P e Margis R (2017) The chloroplast genome sequence from *Eugenia uniflora*, a Myrtaceae from Neotropics. **Plant Systematic Evolution 303**: 1199-1212.

EMBRAPA (2003) **Sistemas de Produção de Citros para o Nordeste**. (EMBRAPA Agroindústria Tropical, série Produção, No. 102). Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/>. 2003. Acesso em 05 jun. 2018.

Engler A (1931) Rutaceae. In Engler A e Prantl K (eds) **Die natürlichen Pflanzenfamilien**. Leipzig: Engelmann, p.187-359.

Fadel AL (2015). **Desempenho horticultural de laranjeira ‘Valencia’ sobre onze porta-enxertos na região norte do Estado de São Paulo**. 2015. 106 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2015) Disponível em www.fao.org.br. Acessado em 05/07/2018.

Farris JS (1983) The logical basis of phylogenetic analysis. In Platnick N e Funk V (eds.) **Advances in cladistics**. Columbia University Press: New York, p. 7-36.

Fialho Costa W L (2017) **Indução de resistência por *Bacillus amyloliquefaciens* e *Lactobacillus paracasei* à *Phytophthora nicotianae* em porta-enxertos de citros**. 2017. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural) - Universidade Federal de São Carlos, Araras.

Fitch WM (1971) Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. **Systematic Zoology** **20**: 406-416.

Flores TB (2017) **Meliaceae**. In Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB44>. Acesso em: 15 nov 2018.

Fu CN, Li HT, Milne R, Zhang T, Ma PF, Yang J, Li DZ e Gao LM. 2017. Comparative analyses of plastid genomes from fourteen *Cornales* species: inferences for phylogenetic relationships and genome evolution. **BMC Genomics** **18 (956)**: 1-14.

Fundecitros (2017) Orange production forecast upadte for the 2016-2017 season of São Paulo and west-southwest of Minas Gerais citrus belt – February/2017 forecast. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/pes/estimative>> Acesso em: 27 de nov. 2018.

Gasparino E, Sá Osório P, Menck Soares MA, Sommer MD, Veloso BD e Luizetti F (2008) Uso da bioinformática na diferenciação molecular da *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*. **Acta Scientiarum Health Sciences** **30**: 101-106.

Green BR (2011) Chloroplast genomes of photosynthetic eukaryotes. **The Plant Journal: for cell and molecular biology** **66**: 34-44.

Groppo M, Pirani JR, Salatino MLF, Blanco SR, Kallunki JA (2008) Phylogeny of Rutaceae based on two noncoding regions from cpDNA. **American Journal of Botany** **95**: 985-1005.

Groppo M e Pirani JR (2012) A revision of *Hortia* (Rutaceae). **Systematic Botany** **37**: 197-212.

Guerra M, Dos Santos KGB, Barros e Silva AE, Ehrendorfer F (2000) Heterochromatin Banding Patterns In Rutaceae-Aurantioideae - A Case Of Parallel Chromosomal Evolution, **American Journal of Botany** **87**: 735–747.

Hall, BG (2008) **Phylogenetic Trees Made Easy: A How-To Manual**. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, 275p.

Handa T, Ishizawa Y e Oogaki C (1986) Phylogenetic study of fraction I protein in the genus *Citrus* and its close related genera. **Japanese Journal of Genetics** **61**: 15-24.

Hilu KW e Liang G (1997) The matK gene: sequence variation and application in plant systematics. **American journal of botany** **84**: 830-839.

Huang YY, Matzke AJ e Matzke M (2013) Complete sequence and comparative analysis of the chloroplast genome of coconut palm (*Cocos nucifera*). **PLoS One** **8**: 1-12.

Huelsenbeck JP, Ronquist F, Nielsen R e Bollback JP (2001) Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. **Science** **294**: 2310-2314.

IEA (2018) Instituto de Economia Agrícola, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo. **A cultura da tangerina no estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=13565> Acesso em 20 de out de 2018.

IBGE (2017) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. **Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 30**: 1-81, 2017.

Jansen RK, Cai Z, Raubeson LA, Daniell H, Pamphilis CW, Leebensmack J, Muller KF, Guisinger-Bellian M, Haberle RC, Hansen AK, Chumley TW, Lee SB, Peery R, Mcneal JR, Kuehl JVE e Janzantti NS, Machado TV e Monteiro M (2011) Sensory acceptance of juice from FCOJ processing steps. **Journal of Sensory Studies 26**: 322-330.

Januário AH, Vieira PC, Silva MFGF e Fernandes JB (2009) Alcaloides β -indolopiridoquinazolínicos de *Esenbeckia grandiflora* Mart. (Rutaceae). **Química Nova 32**: 2034-2038.

Kalaki RB e Neves MF (2017) Plano estratégico para o sistema agroindustrial cítrica brasileira. **Gestão & Produção 24**: 338-354.

Koller OC (1994) **Citricultura: Laranja, Limão e Tangerina**. Rigel, Porto Alegre, 446p.

Kress WJ e Erickson DL (2007) A Two-Locus Global DNA Barcode for Land Plants: The Coding *rbcl* Gene Complements the Non-Coding *trnH-psbA* Spacer Region. **PLoS ONE 2**: 1-10.

Kubitzki K, Kallunki JA, Duretto M e Wilson PG (2011) Rutaceae. In Kubitzki K (ed.) **The Families and Genera of Flowering Plants. X. Flowering Plants: Eudicots, Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae**. Springer, Berlin, p.276–356.

Kumar S, Stecher G e Tamura K (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets, **Molecular Biology and Evolution 33**: 1870–1874.

Lee J, Lee HJ, Kim K, Lee SC, Sung SH e Yang TJ (2016). The complete chloroplast genome sequence of *Zanthoxylum piperitum*. **Mitochondrial DNA Part A 27**: 3525-3526.

Leite LA (1994) **A agroindústria do caju no Brasil: políticas públicas e transformações econômicas**. 1994. 176 f. Tese (Doutorado em Política Econômica) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Economia, Campinas.

Liu Y, Zhang J, Li W, Guo C e Shu Y (2016) In silico identification, phylogeny and expression analysis of expansin superfamily in *Medicago truncatula*. **Biotechnology & Biotechnological Equipment 30**: 197-203.

Lopes JMS, Déo TFG, Andrade BJM, Giroto M, Felipe ALS, Iago Júnior CE, Bueno CEMS, Silva TF, Lima FCC (2011) Importância econômica dos citros no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia 10**:1-3.

Lorenzi H, Bacher L, Lacerda M e Sartori S (2006) **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas: de consumo in natura**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo, 672p.

Machado MA, Cristofani M, Amaral AM e Oliveira AC (2005) Genética, Melhoramento e biotecnologia dos citros. In Matos Junior D, Negri JD, Pio RM e Pompeu Jr J (ed) **Citros**, IAC: FUNDAG, Campinas, p.221-277.

Marin FJ, Torres OL, Robledo SM e Doria ME (2018) Estudio Fitoquímico y Evaluación de la Actividad Antioxidante y Leishmanicida de la Especie *Pilocarpus alvaradoi* (Rutaceae). **Información tecnológica 29**: 177-186.

Marouelli LP (2009) **Análise filogenética de acessos do gênero *Heliconia* L. (Heliconiaceae) utilizando marcadores moleculares**. 2009. 88 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de Brasília, Brasília.

Martinsen P e Schaare P (1998) Measuring soluble solids distribution in kiwifruit using near infrared imaging spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology 14**: 271-281.

Matos LG, Fiuza TDS, Tresvenzol LMF, Rezende MH, Bara MTF, Silveira EM e Paula JR (2014) Pharmacognostic study of the leaves and roots of *Spiranthera odoratissima* A. St. Hil.(Rutaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais 16**: 574-584.

Medeiros RC (2012) **Aspectos Agronômicos e qualitativos de genótipos de citros cultivados no agreste meridional de Pernambuco**. 2012. 75 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Melhoramento Genéticos de Plantas), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

Medina C L (2005) Fisiologia dos citros. In Matos Junior D, Negri JD, Pio RM e Pompeu Jr J (ed) **Citros**, IAC:FUNDAG, Campinas, p.147-195.

Melotto-Passarin DM, Tambarussi EV, Dressano K, De Martin VF e Carrer H (2011) Characterization of chloroplast DNA microsatellites from *Saccharum* spp. and related species. **Genetics and Molecular Research 10**:2024-2033.

Metzker M L (2010) Sequencing technologies-the next generation. **Nature Review 11**: 31-46.

Montenegro HWS (1958) **Curso avançado de citricultura**. FEALQ-USP, Piracicaba 90p.

Moraes Filho R e Martins LSS (2016) In silico comparative analysis of tylenchid nematodes pectate lyases. **Genetics and Molecular Research 15**: 1-14.

Moraes RR (2006) **Refratometria** Disponível em: <<http://www.fapepi.pi.gov.br/ciencia/documentos/REFRAT%D4METRO.PDF>> Acesso em 27 Mar 2018

Morais DAL (2003) **Análise bioinformática de genes de resistência à patógenos no genoma exposto da cana-de-açúcar**. 2003. 217 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia/Biologia Celular e Molecular) Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Morton CM e Telmer C (2014) New subfamily classification for Rutaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden 99**: 620–641.

Moura CFH (1998) **Qualidade de pendúnculos de clones de cajueiro não-precoce (*Anarcadium occidentale* L. var. *Nanum*) irrigado**. 1998. 97f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

Nakano M, Kigoshi K, Shimizu T, Endo T, Shimada T, Fujii H e Omura M (2013) Characterization of genes associated with polyembryony and in vitro somatic embryogenesis in *Citrus*. **Tree Genetics & Genomes 9**: 795-803.

Nascimento Júnior IR (2012) **Aspectos Agronômicos e qualidade de frutos de tangerineiras e pomeleiros no agreste meridional de Pernambuco**. 2012. 44.f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Melhoramento Genéticos de Plantas). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

NCBI (2018) National Center for Biotechnology Information. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein>>. Acesso em: 3 nov 2018.

Nicolosi E, Deng ZN, Gentile A, LA Malfa, Continella G e Tribulato E (2000) *Citrus* phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. **Theoretical and Applied Genetics**, **100**: 1155-1166.

Nishikawa T, Salomon B, Komatsuda T, Von Bothmer R, Kadowaki K (2002) Molecular phylogeny of the genus *Hordeum* using three chloroplast DNA sequences. **Genome** **45**: 1157-1166.

Notredame C, Higgins DG e Heringa J (2000) T-coffee: a novel method for fast and accurate multiple sequence alignment1. **Journal of Molecular Biology**, **302**: 205-217.

Oliveira IP, Oliveira LC e Moura CSFT (2012) Frutas cítricas. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos** **5**: 78-94.

Oliveira RP, Cantillano RFF, Malgarim MB, Treptow RO e Gonçalves AS (2005) **Características dos citros apirênicos produzidos no Rio Grande do Sul**. EMBRAPA, Pelotas. (EMBRAPA Clima Temperado. Documento No. 141, 41p.)

Oliveira RP e Scivittaro WB (2011) **Cultivo de Citros sem Sementes**. Embrapa Clima No. 312 Temperado, Pelotas, 378 p.

Oliveira RP, Soares Filho WDS, Passos O, Scivittaro WB e Rocha PSG (2008) **Porta-enxertos para citros**. EMBRAPA Clima Temperado, Pelotas. 45p. (EMBRAPA Documentos No. 226).

Oliveira RP, Soares Filho WDS, Passos O, Scivittaro WB e Rocha PSG (2011a) Cultivares-copa In: Oliveira RP e Scivittaro WB (Ed.). **Cultivo de citros sem sementes**. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, p.65-108 (Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção, No. 21).

Oliveira RP, Soares Filho WDS, Passos O, Scivittaro WB e Rocha PSG (2011b) Porta-enxertos In: Oliveira RP e Scivittaro WB (Ed.). **Cultivo de citros sem sementes**. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, p.51-63 (Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção, No. 21).

Oliveira RP, Soares Filho WS, Machado MA, Ferreira EA, Scivittaro WB e Gesteira AS (2014) Melhoramento genético de plantas cítricas. **Informe Agropecuário** **35**: 22-29.

Oliveira LS, Araújo MF, Braz-Filho R e Vieira IJC (2016) Dois Novos Diterpenos do Tipo Labdano e outros Compostos de *Conchocarpus cyrtanthus* (Rutaceae). **Revista Virtual de Química** **8**: 87-96.

Olmstead RG, Palmer JD (1994) Chloroplast DNA systematics: a review of methods and data analysis. **American Journal of Botany** **81**: 1205-1224.

Ortolani AA, Pedro Junior MJ, Alfonsi RR (1991) Agroclimatologia e o cultivo dos citros. In: Rodrigues O, Viégas F, Pompeu Junior J e Amaro AA. **A Citricultura Brasileira**. 2ª ed, Fundação Cargill, São Paulo, 491 p.

Pacheco C, Schinor EH, Azevedo FA, Bastianel M e Cristofani-Yali M (2014) Caracterização de frutos do tangor TMXLP 290 para mercado de fruta fresca. **Revista Brasileira de Fruticultura** **36**: 805-812.

Page RDM (1996) TreeView: An application to display phylogenetic trees on personal computers. **Computer applications in the biosciences** **12**: 357-358.

Palmer JD (1991) Plastid chromossomes: Sctrutere and evolution. In Hermann RG (ed.) **The Molecular Biology of Plastids – Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants**. 7A ed., Springer-Verlag, Vienna, p.5-53.

Pang XM, HU CG e Deng XX (2003) Phylogenetic relationships among *Citrus* and its relatives as revealed by SSR markers. **Acta Genetica Sinica** **30**: 81-87.

Passos OS, Almeida CO e Peixoto LS (2005) Potencialidade da Chapada Diamantina para citricultura. **Bahia Agrícola** **7**: 32-36.

Passos OS, Peixoto LS, Santos LC, Caldas RC e Soares Filho WS (2006) Caracterização de híbridos de *Poncirus trifoliata* e de outros porta-enxertos de citros no Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura** **28**: 410-413.

Patil RG, Jadhao KR, Samal KC e Rout GR (2015) Molecular phylogeny of Indian indigenous aromatic rice based on sequence diversity of the chloroplast-encoded matK gene. **Rice Genomics and Genetics** **6**: 1-8.

Penjor T, Yamamoto M, Uehara M, Ide M, Matsumoto N, Matsumoto R e Nagano Y (2013) Phylogenetic relationships of *Citrus* and its relatives based on matK gene sequences. **PloS one** **8**: 1-13.

Petry FC (2017) **Carotenoids and carotenoid esters in different citrus cultivars: composition, changes during ripening and bioaccessibility**. 2017. 184 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas.

Pfeil BE e Crisp MD (2008) The age and biogeography of *Citrus* and the orange subfamily (Rutaceae: Aurantioideae) in Australasia and New Caledonia. **American Journal of Botany** **95**: 1621-1631.

Pinto IB (2015) **Caracterização dos genes matK e rbcL e da variabilidade genética entre os acessos de araruta (*Maranta arundinacea* L.)**. 2015. 58f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande.

Pirani JR, Devecchi MF e Thomas W. (2017 b) **Simaroubaceae**. In Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB44>. Acesso em 22 nov. 2018.

Pirani JR, Groppo M e Dias P (2017a) **Rutaceae**. In Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB44>. Acesso em 20 nov. 2018.

Pirani JR e Silva-Luz CL (2018) Check-list de Picramniales e Sapindales (exceto Sapindaceae) do estado de Mato Grosso do Sul. **Iheringia-Série Botânica** **73**: 300-307.

Poon WS, Shaw PCP, Simmons M e But PPH (2007) Congruence of molecular, morphological, and biochemical profiles in Rutaceae: A cladistic analysis of the subfamilies Rutoideae and Toddalioidae. **Systematic Botany** **32**: 837-846.

Provan J e Bennett K (2008) Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. **Trends in Ecology and Evolution** **23**: 564-571.

Provan J, Powell W e Hollingsworth PM (2001) Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution. **Trends in Ecology and Evolution** **16**: 142-147. 2001.

Rabelo GF (2000) **Avaliação da aplicação do Speckle Dinâmico no Monitoramento da qualidade da laranja**. 2000. 149f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas.

Raven P, Evert RF e Eichhorn SE (2001) **Biologia Vegetal**. 6ª ed, Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 906p.

Reys L, Macedo J e Damalio JCP (2011) **Dogma Central da Biologia Molecular e Introdução à Bioinformática**. W Educacional Editora e Cursos Ltda, Brasília, 76p.

Rodrigues O (1991) Aspectos fisiológicos, nutrição e adubação dos citros. In: Rodriguez O, Viégas F, Pompeu Junior J e Amaro AA. **A Citricultura Brasileira**. 2ª ed, Fundação Cargill, São Paulo, 491p.

Saitou N e Nei M (1987) The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution** **4**: 406-425.

Salaya GFG (2011) **Fruticultura: Madurez de La Fruta y Manejo Poscosecha. In Salaya GFG Fruta de clima temperado y subtropical y uva de vino**. 2ª ed. Edición Universidad Católica do Chile, Santiago, 413p.

Santos C, Girardi EA, Vieira EL, Ledo C e Soares Filho WD (2015) Tamanho ótimo de amostras de frutos e de sementes para determinação da poliembrião em citros. **Revista Brasileira Fruticultura** **37**:172-178.

Santos MB (2009) **Conservação da polpa de umbu-cajá (*Spondias sp.*) por métodos combinados**. 2009. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

Sartori IA, Koller OC, Schwarz SF, Bender RJ e Schafer G (2002). Maturação de frutos de seis cultivares de laranjas-doces na depressão central do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura** **24**: 364-369.

Scarcelli N, Barnaud A, Eiserhardt W, Treier UA, Seveno M, D'Anfray A, Vigouroux Y e Pintaud J-C (2011) A set of 100 chloroplast DNA primer pairs to study population genetics and phylogeny in monocotyledons. **PLoS ONE** **6**: 1-8.

Selvaraj D, Sarma RK e Sathishkumar R (2008) Phylogenetic analysis of chloroplast matK gene from Zingiberaceae for plant DNA barcoding. **Bioinformation** **3**: 24-27.

Shaw J, Lickey E, Schilling E e Small R (2007) Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose non-coding regions for phylogenetic studies in

angiosperms: the tortoise and the hare III. **American Journal of Botany** **94**: 275-288.

Silva HJT e Marques PV (2015) Preços e margens de comercialização da indústria de citros no Brasil. **Revista de Política Agrícola** **24**: 114-133.

Silva-Luz CL e Pirani JR (2017) **Anacardiaceae**. In Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB44>. Acesso em 18 nov. 2018.

Silva PG, Castro Machado FL e Costa JMC (2014) Aplicação de recobrimento prolonga a qualidade pós-colheita de laranja 'Valência Delta' durante armazenamento ambiente. **Revista Ciência Agrônômica** **45**: 520-527.

Silva PT, Lopes MLM e Valente-Mesquita VL (2006) Efeito de diferentes processamentos sobre o teor de Ácido ascórbico em suco de laranja utilizado na elaboração de bolo, pudim e geléia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** **26**: 678-682.

Silva TA, Rocha Amorim EP, Costa JPV, Costa MGS e Santos DV (2016) Influência da cobertura morta e da adubação no controle da podridão radicular em mudas de citros (*Phytophthora nicotianae*). **Revista Ciência Agrícola** **14**: 37-44.

Silva RA, Agra ADC, Aleixo DDL, Nóbrega VR e Dantas EA (2011) Situação Econômica e Produtiva da Cultura dos Citros no Estado da Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável** **6**: 39-48.

Simão S (1971) Cereja das Antilhas. In Simão S (ed) **Manual de fruticultura**. Ceres, São Paulo, p. 477-485.

Sneath PH e Sokal RR (1973) **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification**. W.H. Freeman, San Francisco, 573p.

Sobrinho APC, Gondim TMS e Rtzinger R (2003) Caracterização de laranjeiras-doces (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) no Estado do Acre. **Revista Brasileira de Fruticultura** **23**: 451-454.

Soltis DE, Soltis PS, Mort ME, Chase MW, Savolainen V, Hoot SB e Morton CM (1998) Inferring complex phylogenies using parsimony: an empirical approach using three large DNA data sets for angiosperms. **Systematic Biology** **47**: 32-42.

Soriano RL, Torres MJM e Rosaleñ RC (2010) Methodology for sustainability strategic planning and management. **Industrial Management & Data Systems** **110**: 249-268.

Soost RK e Roose ML (1996) In Janick J e Moore JN (ed) Fruit breeding: tree and tropical fruits. **Citrus**. 2ª ed, Wiley, New York, 257-323 p.

Sorkheh K, Kiani S e Sofo A (2016) Wild almond (*Prunus scoparia* L.) as potential oilseed resource for the future: Studies on the variability of its oil content and composition. **Food chemistry** **212**: 58-64.

Sousa PFC (2009) **Avaliação de laranjeiras doces quanto à qualidade de frutos, períodos de maturação e resistência a *Guignardia citricarpa***. 2009.

89 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, São Paulo.

Sun JB, Jiang N, Lv MY, Wang P, Xu FG, Liang JY e Qu W (2015) Limonoids from the root bark of *Dictamnus angustifolius*: potent neuroprotective agents with biometal chelation and halting copper redox cycling properties. **RSC Advances** **5**: 24750-24757.

Spiegel-Roy P e Goldschmidt EE (2008) **Biology of citrus**. 2.ed. Cambridge University Press, Cambridge, 230 p.

Spiegel-Roy P e Goldschmidt EE (2008) Reproductive physiology: flowering and fruiting. In: Spiegel-Roy P e Goldschmidt EE (eds) **Biology of citrus** Cambridge University Press, Cambridge, p.70-125.

Swingle WT (1943) The botany of citrus and its wild relatives of the orange subfamily. **The citrus industry 1**: 128-474.

Swingle WT e Reece PC (1967) The botany of citrus and its wild relatives. In Reuther W, Webber HJ, Batchelor LD (eds). **The Citrus Industry. History, World Distribution, Botany, and Varieties**. Vol.1, University of California Division of Agriculture Sciences, Berkeley, p.190-423.

Swofford DL, Olsen GJ, Waddell PJ e Hillis DM (1996) **Molecular Systematics**. Sinauer Associates, Sunderland, p.407-514.

Taiz L e Zeiger E (2004) **Fisiologia vegetal**. 3ª ed, Artmed, Porto Alegre, 719 p.

Tambarussi EV, Melotto-Passarim DM, Dressano K, Guidetti-Gonzalez S, Brigati JB, Jesus FA, Barbosa AL e Carrer H (2009) In silico analysis of simple sequence repeats from chloroplast genomes of Solanaceae species. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** **9**: 344-352.

Tamura K, Dudley J, Nei M e Kumar S (2007) MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular biology and evolution** **24**: 1596-1599.

Tanaka T (1977) Fundamental discussion of citrus classification. **Studia Citrologica** **14**: 1-6.

Tazima ZH, Vieira C, Neves J, Stenzel N, Yada I e Leite Júnior RP (2009) Produção e qualidade de frutos de cultivares de laranja-doce no norte do Paraná. **Revista Brasileira Fruticultura** **31**: 474-479.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F e Higgins DG (1997) The Clustal_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research** **25**: 4876-4882.

Timmis JN, Ayliffe MA, Huang CY e Martin W (2004) Endosymbiotic gene transfer: organelle genomes forge eukaryotic chromosomes. **Nature Reviews Genetics** **5**: 123-135.

Ting SV (1983) Citrus fruits. In Cha HTJ (ed) **Handbook of tropical foods**. Marcel Dekker, New York, p.201-253.

USDA (2018) United State of Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. Citrus: World market and trend. Disponível em <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>> Acesso em: 30 de jan de 2018.

Varsel C (1980) Citrus juice processing as related to quality and nutrition. In Nagy S e Tway JA (eds) **Citrus nutrition and quality**. American Chemical Society, Washington, p.225-271.

Volpe AC, Shoffele R e Barbosa JC (2002) Influência da soma térmica e da chuva durante o desenvolvimento de laranjas “Valência” e “Natal” na relação entre sólidos solúveis e acidez e no índice tecnológico do suco. **Revista Brasileira de Fruticultura 24**: 436-441.

Webber HJ (1967) History and development of the *Citrus* industry. In Webber HJ e Batchelor DL (eds) **The Citrus Industry**. vol 1, University of California, Berkeley, p.1-39.

Wieczorek EM e Leal E (2002) **Caminhos e Tendências do uso de Banco de Dados em Bioinformática - Prática de Sistemas de Informação I-Estágio**. Centro Universitário Luterano de Palmas-CEULP/ULBRA, Palmas, 101p.

Wug A, Simon P e Jerry J (2014) Sequencing of diverse mandarin, pummel and orange genomes reveals complex history of admixture during citrus domestication. **Nature Biotechnology 32**: 656-662.

Wu GA, Terol J, Ibanez V, García AL, Román EP, Borredá C, Domingo C, Tadeo FR, Caballero JC e Alonso R (2018) Genomics of the origin and evolution of Citrus. **Nature 554**: 311-316.

Xiong AS, Peng RH, Zhuang J, Gao F, Zhu B, Fu XB, Xue Y, Jin XF, Tian YS, Zhao W e Yao QH (2009) Gene duplication, transfer, and evolution in the chloroplast genome. **Biotechnology advances 27**: 340-347.

Xu Q, Chen LL e Ruan X (2013) The draft genome of sweet orange (*Citrus sinensis*). **Nature Genetics 45**: 59-66.

Yang X, Li H, Liang M, Xu Q, Chai L e Deng X (2015) Genetic diversity and phylogenetic relationships of citron (*Citrus medica* L.) and its relatives in southwest China. **Tree genetics & genomes 11**: 129.

Yang Z e Rannala B (2012) Molecular phylogenetics: principles and practice. **Nature Reviews. Genetics 13**: 303-314.

Yildizoglu-ari N, Altan VM, Altinkurt O e Ozturk Y (1991) Pharmacological effects of rutin. **Phytotherapy Research 5**: 19-23.

Zhang D e Hamazu Y (2004) Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. **Food Chemistry 88**: 503-509.

Zhu A, Fan W, Adams RP e Mower JP (2018) Phylogenomic evidence for ancient recombination between plastid genomes of the *Cupressus-Juniperus-Xanthocyparis* complex (Cupressaceae). **BMC evolutionary biology 18**: 1-10.

**Potencial industrial e consumo *in natura* de variedades
de laranja na Microrregião de Garanhuns**

CAPÍTULO II

Artigo a ser enviado para a revista Ciência Rural Qualis B1 – Agrárias

1 **Potencial para uso industrial e consumo *in natura* de laranja na Microrregião de**
2 **Garanhuns**

3 Allan Deyws Francisco da Silva¹; Mairon Moura da Silva²; Jesuito Bernardo de
4 Araujo³; Rômulo Maciel de Moraes Filho¹; Rosimar dos Santos Musser¹

5 **RESUMO**

6 O Brasil é atualmente o principal produtor mundial de laranjas e o maior exportador do
7 suco da fruta, sendo esta cultura de grande importância social e econômica para o país. O
8 Nordeste brasileiro apresenta grande potencial para o cultivo de espécies do gênero
9 *Citrus*, no entanto não apresenta grande representatividade nacional, onde a produção é
10 monopolizada pelo Estado de São Paulo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar
11 o potencial para consumo *in natura* e industrial de 14 variedades de laranjas (*Citrus*
12 *sinensis*) nas condições da microrregião de Garanhuns, no agreste pernambucano. Para
13 tal, foram analisadas as seguintes características morfo-agronômicas: altura da planta;
14 diâmetro e volume da copa; diâmetro do caule acima e abaixo da linha de enxertia;
15 índice de compatibilidade; características de qualidades físicas e químicas dos frutos. O
16 delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com três repetições e uma
17 planta por parcela. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias
18 comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As variedades atendem as
19 exigências para o consumo *in natura* exibindo como principais vantagens o tamanho dos
20 frutos e sólidos solúveis com valores superiores ao exigido pelo mercado. As variedades
21 Hamlin 02, Sunstar, Pineapple, Pêra D6, Pêra D9 e Valência Tuxpan apresentaram
22 tamanho dos frutos, rendimento do suco e acidez titulável adequados aos padrões
23 mínimos exigidos para a indústria, com restrição apenas no número de sementes que
24 revelaram valores superiores ao exigido pelas indústrias de suco.

25 **Palavras-chave:** *Citrus sinensis*, Qualidade de Frutos, Fruticultura.

26 ¹Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas; Departamento de
27 Agronomia; Universidade Federal Rural de Pernambuco; Recife - PE- Brasil. ²Unidade
28 Acadêmica de Garanhuns; Garanhuns - PE – Brasil. ³Instituto Agrônômico de
29 Pernambuco - IPA; Garanhuns - PE – Brasil. Autor para correspondência e-mail:
30 a.deyws09@gmail.com

31 **ABSTRACT**

32 Brazil is currently the world's largest producer of oranges and the largest exporter of fruit
33 juice, and this crop is of great social and economic importance for the country. The
34 Brazilian Northeast presents great potential for the cultivation of species of the genus
35 Citrus, however it does not present great national representability, where the production
36 is monopolized by the State of São Paulo. The objective of this work was to evaluate the
37 potential for *in natura* and industrial consumption of 14 oranges (*Citrus sinensis*) in the
38 Garanhuns microregion in the Pernambuco State. For this, the following morpho-
39 agronomic characteristics were analyzed: plant height; shoot diameter and volume; stem
40 diameter above and below the grafting line; compatibility index; characteristics of the
41 physical and chemical qualities of the fruits. The experimental design was in randomized
42 blocks with three replications and one plant per plot. The results were submitted to
43 analysis of variance and the means were compared by the Scott-Knott test at 5%
44 probability. The varieties meet the requirements for the *in natura* consumption, exhibiting
45 as main advantages the size of the fruits and soluble solids with values superior to the one
46 demanded by the market. The varieties Hamlin 02, Sunstar, Pineapple, Pear D6, Pear D9
47 and Valencia Tuxpan presented fruit size, juice yield and titratable acidity adequate to the
48 minimum standards required for the industry, with restriction only in the number of seeds
49 that revealed higher values than required by the juice industries.

50 **Key Words:** *Citrus sinensis*, Fruits Quality, Fruticulture

51

52 **INTRODUÇÃO**

53 O Brasil se destaca no cenário mundial como principal produtor de laranjas, com
54 aproximadamente 14 milhões de toneladas produzidas anualmente, sendo também no ano
55 de 2016 o maior exportador do seu suco, detendo 55% do mercado internacional (885 mil
56 toneladas por ano), resultando em um rendimento para o país de cerca de US\$ 860 (MAPA
57 2016, IBGE 2017). Os principais importadores do suco brasileiro de laranja são a União
58 Europeia (66,7%), Estados Unidos (20,7%), Japão (4,7%) e China (2,9%) (USDA, 2017).
59 No contexto atual, o Brasil possui uma área plantada de 738,658 mil ha ressaltando sua
60 grande importância social com a geração de 500 mil empregos no ano de 2017 (IBGE
61 2017).

62 No Brasil, o Estado de São Paulo se caracteriza como o principal polo citrícola,
63 respondendo por 70,2% da produção nacional, seguido de outros cinco estados que também
64 detêm uma parcela significativa de produtores de laranja, sendo eles: Bahia (7,5%), Minas
65 Gerais (6,1%), Paraná (5,1%), Sergipe (3,3%) e Rio Grande do Sul (2,7%). Unidos somam
66 cerca de 100% da produção de laranja do país (IBGE 2017). O Nordeste brasileiro
67 apresenta um alto potencial para a produção de citros, no entanto, é responsável por pouco
68 mais de 10% da produção nacional onde sua produção se concentra principalmente nos
69 Estados da Bahia, com 83 mil ha e 1,28 milhão de toneladas anuais, e no do Estado de
70 Sergipe (3,3%), com 44,7 mil ha cultivados e produção anual de 508 mil toneladas (IBGE
71 2017).

72 A identificação de novas variedades adaptadas à região Nordeste é de grande
73 importância e se justifica pela grande diversidade de clima da região. Como também por
74 problemas fitossanitários, a baixa incidência de doenças em relação a outras regiões do país
75 e a vulnerabilidade no que se refere ao mercado de suco, que entre os anos de 2003 a 2016
76 apresentou uma queda de 18,54% (Almeida e Passos 2011, Anuário da citricultura 2017).

77 Devido às exigências do mercado, tanto para o consumo *in natura* como para o
78 processamento industrial, acompanhado da necessidade de diversificação de cultivares, o
79 citricultor está cada vez mais buscando a inovação de seus pomares através de variedades
80 que atendam às demandas de qualidade do mercado com boas características. A avaliação
81 da qualidade do fruto é uma tarefa essencial, principalmente, na obtenção de cultivares com
82 alta produtividade, coloração atraente, alto teor de suco, frutas com poucas sementes, bem
83 como um equilíbrio entre o teor de açúcar e acidez, com o objetivo de obter uma melhor
84 aparência e qualidade sensorial elevada (Machado et al. 2011, Schwarz 2011, Almeida et
85 al. 2012, Negreiros et al. 2014, Couto et al. 2018).

86 Estudos que envolvem a produção de frutas cítricas bem como a avaliação de
87 caracteres quantitativos se referem a características diretas de qualidade quanto à forma,
88 tamanho e peso dos frutos, sólidos solúveis, acidez e rendimento em suco. Em paralelo
89 esses trabalhos visam à caracterização dessas diversas espécies em diferentes condições
90 ambientais a fim de aumentar a eficiência no manejo da cultura (Fidalski et al. 2007,
91 Medeiros et al. 2013).

92 A coleção de germoplasma de *Citrus* do Instituto Agronômico de Pernambuco
93 (IPA), Brejão-PE reúne genótipos que podem ser de grande importância para a citricultura

94 nordestina devido à sua alta diversidade genética (Moraes Filho et al. 2011) e de
95 características morfoagronômicas (Moreira et al. 2013).

96 No citros os porta-enxertos afetam diversas características hortícolas e patológicas
97 onde pode-se destacar: porte, longevidade das plantas, maturação, permanência dos frutos
98 na planta, peso, coloração do suco, teores de açúcares, ácidos e outros componentes do
99 suco, absorção, síntese e utilização de nutrientes, tolerância a pragas e doenças como
100 também fatores abióticos, como salinidade, seca, frio, produtividade; conservação pós-
101 colheita e qualidade das frutas (Pompeu Junior 2005, Oliveira 2008).

102 Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo a avaliação de variedades
103 cítricas quanto ao seu potencial industrial e consumo *in natura*, visando dar suporte à
104 seleção para diversificação de pomares brasileiros.

105

106 MATERIAL E MÉTODOS

107 A pesquisa foi realizada em um pomar com dez anos de idade e em plena produção,
108 na Estação Experimental de Brejão do IPA, localizado no município de Brejão que pertence
109 a Microrregião de Garanhuns. Esta Microrregião apresenta altitude média de 820 m,
110 latitude 8° 53' S, longitude 36° 31' W, clima seco sub-úmido, temperatura do ar média
111 mensal que varia entre 17 e 22°C ao longo do ano, com amplitude térmica média mensal
112 variando de 7 a 12°C e precipitação anual entre 850 a 1.300 mm. A microrregião possui
113 como solo predominante o Argissolo Vermelho Amarelo (Secretaria de Ciência,
114 Tecnologia e Meio Ambiente de Pernambuco 2006, INMET 2011).

115 No experimento foram utilizadas 14 variedades de laranjeiras (Tabela 1) enxertadas
116 sobre diversos porta-enxertos (Tabela 2), provenientes do Centro Nacional de Pesquisa de
117 Mandioca e Fruticultura Tropical (Embrapa-CNPMF). O experimento foi irrigado por
118 microaspersão, com base no monitoramento da água no solo. Os tratos culturais e
119 operações de manejo foram realizados de acordo com as recomendações para a cultura.

120 O experimento foi conduzido de março de 2016 a novembro de 2016 com
121 delineamento em blocos ao acaso, três repetições e uma planta por parcela, em
122 espaçamento 6x4m. Em abril de 2016 foram realizadas mensurações do crescimento das
123 diversas variedades estudadas. As avaliações compreenderam:

124 Altura da planta (AP): tomada desde o solo até o topo da copa com o auxílio de
125 uma régua graduada em centímetros (cm), expresso em metros (m).

126 Diâmetro da copa (DC): obtido através da mensuração no sentido paralelo e
127 perpendicular à linha de plantio, com uma régua graduada em centímetros, de acordo com
128 a metodologia proposta por Stenzel et al. (2005), expresso em metros (m).

129 Diâmetro acima (DAc) e diâmetro abaixo (DAb) da linha de enxertia: a avaliação
130 da relação enxerto/porta-enxerto foi realizada a cinco centímetros acima e abaixo da linha
131 de enxertia com o auxílio de uma fita métrica. Obtendo-se a circunferência sendo
132 transformada, posteriormente, em diâmetro pela fórmula $C = 2 \pi R$, expresso em
133 centímetros (cm).

134 Volume da copa (VC): com base nos dados de altura da planta e diâmetro da copa
135 foi calculado o volume da copa pela fórmula $VC = AP \times (DC/2)^2 \times (2/3 \times \pi)$, expresso em
136 m^3 .

137 Índice de compatibilidade (IC): com base nos dados de diâmetro do caule obteve-
138 se o índice de compatibilidade, consistindo na razão aritmética entre porta-enxerto e
139 enxerto.

140 As análises físicas, físico-químicas e químicas foram realizadas em quatro frutos
141 colhidos por parcela, de forma aleatória, nos quatro quadrantes das plantas, na parte externa
142 da copa, a partir do início da maturação fisiológica segundo a metodologia adaptada
143 (Stenzel et al. 2005).

144 O período de colheita dos frutos compreendeu de abril a setembro de 2016. A
145 colheita dos frutos foi realizada mensalmente, a partir do início da maturação do fruto,
146 sendo observadas pela coloração uniformemente amareladas, semanalmente durante um
147 ano de produção.

148 As amostras de frutos foram acondicionadas em sacos plásticos transparentes
149 devidamente identificados e levadas ao Laboratório de Biologia Vegetal da UFRPE-UAG,
150 em Garanhuns-PE para as respectivas análises. As amostras foram transportadas em sacolas
151 térmicas para evitar o aquecimento e conseqüente perda de qualidade. As avaliações físicas
152 compreenderam:

153 Massa do fruto (MF): medido com balança digital com capacidade para 10 Kg,
154 expresso em gramas (g).

155 Diâmetro transversal (DTF) e Diâmetro longitudinal do fruto em milímetros (mm)
156 (DLF): obtido com auxílio de um paquímetro digital, expresso em centímetros (cm).

157 Espessura do endocarpo (EEN) e espessura do pericarpo mais mesocarpo
158 (EP+EM): realizada em quatro pontos distintos e semelhantes perfazendo a circunferência,
159 expresso em milímetros (mm).

160 Número de sementes (NS): contagem e pesagem do número de sementes de cada
161 repetição, expresso em gramas (g).

162 Rendimento do suco (RS): obtido através de esmagamento dos frutos em extratora
163 manual, posteriormente foi obtido o rendimento do suco por meio da relação massa do
164 suco/massa do fruto x 100, expresso em porcentagem (%).

165 Quanto às características físico-químicas e químicas dos frutos, as análises
166 compreenderam:

167 Sólidos solúveis (SS): obtido através da leitura direta de uma alíquota de
168 aproximadamente 2 mL em refratômetro manual (RHB-32ATC), expresso em °Brix.

169 Acidez titulável (AT): determinada segundo metodologia descrita pelo AOAC
170 Official Methods of Analysis (AOAC, 2005), que utiliza 5 g de suco para ser titulado com
171 solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1N e indicador fenolftaleína 1% sendo o
172 resultado expresso em porcentagem de ácido cítrico.

173 Teor de vitamina C (ácido ascórbico): determinado pelo método titulométrico,
174 utilizando 2,6 diclofenol indofenol, segundo metodologia descrita pela AOAC Official
175 Methods of Analysis (AOAC 2005) em triplicata, sendo expresso em mg de ácido
176 ascórbico por 100 mL de suco.

177 Ratio (ou índice de maturação): que é a razão aritmética entre os sólidos solúveis
178 totais e a acidez, calculado pela fórmula (SS/AT);

179 Potencial Hidrogeniônico (pH): obtido pelo método direto em potenciômetro (Modelo
180 Jenway) higienizado e calibrado.

181 Os dados de crescimento das plantas e das análises físicas, físico-químicas e
182 químicas dos frutos foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de
183 médias de Scott-Knott a 5% de probabilidade, processados pelo software SISVAR versão
184 5.6 (Ferreira 2011).

185

186 **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

187 Com base na ANOVA observaram-se diferenças significativas ($p \leq 0,05$) pelo teste
188 de Scott-Knott para as variáveis: altura da planta, diâmetro abaixo da linha de enxertia e
189 índice de compatibilidade (Tabela 3).

190 A avaliação realizada em abril de 2016 em relação à altura da planta (AP) mostrou
191 valores que variaram entre 2,40 m e 4,20 m (Tabela 3). Com destaque para a variedade
192 Salustiana com maior crescimento em abril/2016 em contrapartida temos e a Westin com
193 o menor crescimento (Tabela 3). O maior crescimento observado na variedade Salustiana,
194 está de acordo com suas características morfológicas que segundo Agustí (2000) apresenta
195 porte médio e tendência a crescer verticalmente. O menor crescimento da variedade Westin
196 (Tabela 3), pode ser confirmado também por suas características morfológicas que de
197 acordo com Oliveira et al. (2014), apresenta copa de grande porte e que cresce mais no
198 diâmetro do que na altura. Vale ressaltar a importância da obtenção de plantas com porte
199 baixo a médio devido principalmente a facilidade nos tratamentos culturais e colheita, pois esta
200 exerce influência principalmente na produção (Westphalen 2008).

201 Para os parâmetros, diâmetro de copa (DC), volume de copa (VC) e diâmetro acima
202 da linha de enxertia (DAc), não houve diferenças significativas entre as variedades
203 estudadas, mostrando a estabilidade das plantas com relação a esses parâmetros,
204 evidenciando que os mesmos não podem contribuir para a escolha de variedade (Tabela 3).

205 Na avaliação de abril/2016 para o DAb houve a formação de dois grupos, sendo o
206 maior diâmetro obtido pela variedade Valência Tuxpan (17,55 cm), revelando que houve
207 um maior crescimento do porta-enxerto, e o menor diâmetro obtido pela variedade Pêra D6
208 (12,12 cm), mostrando que houve uma pequena variação no crescimento do porta-enxerto
209 (Tabela 3).

210 Valores de índice de compatibilidade (IC) mais próximos a um refletem um bom
211 pegamento entre o porta-enxerto e a copa (Negreiros et al. 2010), e os resultados mostraram
212 que as variedades Hamlin 02, Lima, Pêra D6, Pêra D9 e Pêra D12 (Tabela 3) apresentaram
213 um índice mais próximo de um, indicando um maior grau de compatibilidade na relação
214 enxerto/porta-enxerto.

215 Para a massa dos frutos (MF), as variedades Baianinha 03 e Midsweet apresentaram
216 a maior média (237,50 g) entre as variedades (Tabela 4). Para o mercado de laranjas *in*
217 *natura* os frutos não devem apresentar peso menor que 150 g (Domingues et al. 2003),
218 portanto neste estudo pode-se observar que a laranjeira Pêra D6 (137,08 g) não atendeu ao
219 padrão exigido (Tabela 4).

220 Para o rendimento do suco (RS) foi observado uma variação entre 65,22% a 78,94%
221 (Tabela 4), estando acima da média, de acordo com Negreiros et al. (2014). Os valores
222 observados na Tabela 3 indicam que os frutos apresentaram valores superiores ao mínimo

223 exigido pela indústria que é de 40% (Koller 1994), e também mostraram valores superiores
224 ao mínimo exigido para o consumo *in natura* que de acordo com o Programa Brasileiro
225 para Modernização da Horticultura é de 35% (CEAGESP, 2011).

226 Não foram observadas sementes nos frutos nas variedades Bahia 101 e Baianinha
227 03 (Tabela 4). Em um estudo realizado por Medeiros et al. (2013) com as variedades
228 Bahia 101 e Baianinha 03, foi evidenciada a ausência de sementes em seus frutos. É
229 importante destacar que o pequeno número ou a ausência de sementes é um dos requisitos
230 de qualidade de frutos cítricos (Oliveira e Scivittaro 2011).

231 A avaliação externa dos frutos engloba atributos geométricos e físicos, os quais
232 influenciam diretamente a aceitabilidade por parte dos consumidores (Reis et al. 2016). As
233 dimensões externas apresentaram diferenças significativas entre as variedades. O diâmetro
234 transversal do fruto (DTF) variou entre 60,09 mm (Pêra D6) a 74,90 mm (Baianinha 03) e
235 o diâmetro longitudinal dos frutos (DLF) entre 63,53 mm (Pêra D6) a 78,78 mm
236 (Midsweet) (Tabela 4). Todas as variedades estão dentro dos limites satisfatórios de
237 comercialização que é de 53 mm (Irtwange 2006). Com base nos dados os frutos se
238 mostraram promissores tanto à indústria que têm preferência por frutos com valores por
239 volta de 70 mm, quanto ao consumo *in natura* que tem preferência por frutos maiores que
240 70 mm (Petto Neto e Pompeu Júnior 1991).

241 Frutos com menor espessura de casca exibem um maior aproveitamento do produto
242 tanto para a indústria no que diz respeito ao rendimento de suco como também para o
243 consumo *in natura*, atribuído à facilidade no descascamento (Oliveira et al. 2010). A menor
244 espessura do epicarpo mais mesocarpo (EP+EM), foi obtida pela variedade Pêra D6 (2,74
245 mm) e a maior espessura foi obtida na variedade Midsweet (4,98) (Tabela 4). Na espessura
246 do endocarpo (EEN) não foi observada diferença significativa entre as variedades
247 estudadas, portanto esse parâmetro não serve para auxiliar na classificação das variedades
248 em questão (Tabela 4).

249 Os valores para sólidos solúveis (SS) evidenciaram a laranja Bahia 101 (12,93
250 °Brix) (Tabela 5) com a maior média entre as variedades. Os resultados apresentados na
251 Tabela 4 indicam que todas as variedades estão dentro do mínimo estabelecido para o
252 consumo *in natura* que é de 9,0 °Brix (CEAGESP 2011). Para frutos com finalidades
253 industriais o padrão mínimo exigido é de 10,50° Brix (Brasil 2009). De acordo com os
254 resultados as variedades Lima (9,86 °Brix), Pêra D6 (9,93 °Brix) e Valência Tuxpan (9,46
255 °Brix) não se enquadram nos padrões mínimos exigidos (Tabela 5).

256 A acidez titulável (AT) mínima observada foi de 0,07% de ácido cítrico para a
257 variedade Lima, e máxima de 1,62% de ácido cítrico para a variedade Hamlin 02 (Tabela
258 5). Esse valor mínimo observado para a variedade Lima confirma sua classificação de
259 laranja de baixa acidez de acordo com o Programa Brasileiro para Modernização da
260 Horticultura (CEAGESP 2011). Com base na AT as variedades Bahia 101, Baianinha 03,
261 Lima, Pêra D12, Westin, Salustiana e Rubi se enquadram no mercado de fruta *in natura*
262 devido ao valor menor que um para a AT. Já as variedades Hamlin 02, Sunstar, Pineapple,
263 Pêra D6, Pêra D9, Valência Tuxpan e Midsweet, se direcionam mais para a indústria por
264 apresentar porcentagens de ácido cítrico acima de um (Pereira et al. 2006).

265 Os valores recomendados para a relação SS/AT se dão entre 10,0 a 18,0 para a
266 indústria e 8,0 a 15,4 para o consumo *in natura* diante disto apenas a variedade Hamlin 02
267 (6,89) não se enquadrou dentro do intervalo estabelecido tanto para a indústria como para
268 o consumo *in natura*. Já as variedades Bahia, Rubi, Sunstar, Pêra D12, Westin, Salustiana
269 e Pineapple com valores entre 10,42 a 17,47, estão dentro dos limites estabelecidos para
270 ambas às finalidades. No entanto as variedades Baianinha 03, Pêra D6, Pêra D9, Valência
271 Tuxpan e Midsweet com valores que variaram de 8,56 a 9,65 (Tabela 5), se enquadram nos
272 limites estabelecidos apenas para frutas de mesa (Salibe 1977, Chitarra e Chitarra 2005,
273 Ceagesp 2011). Devido à sua baixa acidez, a variedade Lima (133,33) obteve um alto valor
274 na relação sólidos solúveis/acidez titulável (Tabela 5), resultado que também foi observado
275 por Medeiros et al. (2013).

276 O teor de vitamina C (ácido ascórbico) variou entre 31,45 mg/100 mL e 48,41
277 mg/100 mL de suco (Tabela 5), resultado que difere do observado por Medeiros et al.
278 (2013) trabalhando com as mesmas variedades. Os autores observaram um maior teor de
279 ácido ascórbico na variedade Pêra D9 (69,71 mg/100 mL de suco) e o menor teor na
280 variedade Hanlim 02 com 25,16 mg/100 mL de suco. Em um estudo com seis variedades
281 cítricas Couto et al. (2018) observaram na variedade Baianinha um valor de 55, 36 mg/100
282 mg de suco, diferindo do valor para a variedade observada no estudo.

283 Nos citros os porta-enxertos exercem influências significativas sobre as diversas
284 características morfo-agronômicas e no que tange aspectos físicos, químicos e fisico-
285 químicos (Pompeu Junior 2005). Portanto com base nos dados apresentados nas Tabelas 3;
286 4 e 5 verificasse que os porta-enxertos utilizados exerceram influências positivas nas
287 variedades estudadas, com destaque para o porte das plantas, tamanho dos frutos,

288 rendimento do suco, teores de açúcar e acidez acima do padrão mínimo exigido para o
289 consumo *in natura* e/ou processamento industrial.

290

291 **CONCLUSÕES**

292 Existe diversidade fenotípica nas variedades estudadas com possibilidades de ganho
293 genético pela seleção de indivíduos superiores.

294 Para as condições edafoclimáticas da Microrregião de Garanhuns as variedades
295 Bahia 101 e Baianinha 03 enxertadas sobre o híbrido CLEO-SW-264, as variedades Westin
296 e Lima enxertadas sobre o híbrido LVK-CLEO-264, a variedade Salustiana enxertada sobre
297 o híbrido LCR-CLEO-264, e a variedade Pêra D12 enxertada sobre o híbrido LVK-CLEO-
298 226 atendem as exigências para o consumo *in natura* exibindo como principais vantagens
299 competitivas que elevam o potencial dessas variedades.

300 Apesar do número de sementes dos frutos das variedades Hamlin 02, Sunstar,
301 Pineapple, Pêra D6, Midsweet e Rubi enxertadas sobre o híbrido LVK-CLEO-264, a
302 variedade Pêra D9 enxertada sobre o híbrido LCR-LVK-CLEO e a Valência Tuxpan
303 enxertada sobre o híbrido LVK-CLEO-226 encontradas não serem adequados, o tamanho
304 dos frutos, rendimento do suco e acidez titulável são adequados aos padrões mínimos
305 exigidos pela indústria.

306

307 **AGRADECIMENTOS**

308 O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento
309 de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Silva ADF
310 foi financiado por uma bolsa de doutorado CAPES, e Moraes Filho RM foi financiado por
311 uma bolsa de pós-doutorado CAPES.

312

313 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

314 AGUSTÍ, M (2000) **Citricultura**. Madrid: Mundi-Prensa. 416 p.

315 ALMEIDA, CO e PASSOS, OP (2011) Citricultura brasileira em busca de novos rumos:
316 **Desafios oportunidades na região nordeste**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz
317 das Almas. 160 p.

318 ALMEIDA, EL et al. (2012) Elaboração de licor de casca de tangerina. **Alimentos e**
319 **Nutrição**, v. 365 23, n. 2, p. 259-265.

- 320 AOAC (2005) **Association of Official Analytical Chemists Official methods of**
321 **analysis of the association of official analytical chemists.** Washington. 1015 p.
- 322 BASTOS D et al. (2014) Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira.
323 **Informe Agropecuário**, v. 35, n. 281, p. 36-45. Disponível em:< [https://www.alice.](https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1007492/1/Debora214.pdf)
324 [cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1007492/1/Debora214.pdf](https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1007492/1/Debora214.pdf)>
- 325 BRASIL (2009) Decreto n. 6.871, de 4 de junho de 2009. **Padronização, classificação,**
326 **registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas.** Diário Oficial da República
327 Federativa do Brasil, Brasília, 2009. Disponível em:< [http://www.agricultura.gov.br/](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/decreto-no-6-871-de-4-de-junho-de-2009.doc/view)
328 [assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/decreto-no-6-871-de-4-de-](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/decreto-no-6-871-de-4-de-junho-de-2009.doc/view)
329 [junho-de-2009.doc/view](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/decreto-no-6-871-de-4-de-junho-de-2009.doc/view)> Acesso em: 21 jan de 2019.
- 330 CEAGESP (2011) **Programa Brasileiro para Modernização da Horticultura. Normas**
331 **de classificação de citros de mesa.** São Paulo: CEAGESP. 12 p.
- 332 CHITARRA, MIF e CHITARRA, AB (2005) **Pós-colheita de frutos e hortaliças:**
333 **fisiologia e manuseio.** Ed. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 785 p.
- 334 COUTO, CAD et al. (2018) Citrus Sinensis cultivars: alternatives for diversification of
335 brazilian orchards. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.40, n.5. Disponível
336 em:<[http://www.scielo.br/](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010029452018000500302&lng=en&tlng=en)
337 [scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01002945201800050030](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010029452018000500302&lng=en&tlng=en)
338 [2&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010029452018000500302&lng=en&tlng=en)> Acesso em: 28 dez 2018. doi: 10.1590/0100-29452018097.
- 339 DOMINGUES, ET et al. (2003) Seleção de variedades de laranja quanto à qualidade do
340 fruto e período de maturação. **Laranja**, v.24, n.2, p.471-470.
- 341 Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (2003). **Sistema de Produção de Citros para**
342 **o Nordeste**, versão eletrônica, Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/variedades.htm)
343 [embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/variedades.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/variedades.htm)> acesso em 25 de nov
344 de 2018.
- 345 FIDALSKI, J et al. (2007) Divergence of ‘folha murcha’ orange tree rootstocks as
346 influenced by two groundcover crops. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, n.2,
347 p 353-360. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832007000200017)
348 [S0100-06832007000200017](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832007000200017)> Acesso em: 28 dez 2018. doi:10.1590/S0100-
349 06832007000200017.
- 350 IBGE (2017) Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. 2017. **Produção**
351 **Agrícola Municipal de 2016.** Disponível em:<[https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/](https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas)
[tabelas.](https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas)> Acesso em: 27 dez de 2018.

- 352 INMET – Instituto Nacional de Meteorologia (2018) **Agricultura**: balanço hídrico
353 climático. Disponível em:<<http://www.inmet.gov.br/html/agro.html>.> Acesso em: 02
354 mar de 2018.
- 355 IRTWANGE, SV (2006) Maturity, quality and marketing of fruits and vegetables. **CIGR**
356 **Ejournal**, v. 8, n. 7, p. 1-9. Disponível em:< [http://www.cigrjournal.org/index.php/](http://www.cigrjournal.org/index.php/Ejournal/article/view/694/688)
357 [Ejournal/article/view/694/688](http://www.cigrjournal.org/index.php/Ejournal/article/view/694/688)> Acesso em: 21 jan de 2019.
- 358 KOLLER, OC (1994) **Citricultura**: limão e tangerina. Rige, Porto Alegre. 446 p.
- 359 MACHADO, MA et al. (2011) Breeding, genetic and genomic of citrus for disease
360 resistance. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 158-172. Disponível em:
361 http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452011000500019>
362 Acesso em: 27 dez de 2018. doi:10.1590/S0100-29452011000500019.
- 363 **MAPA** (2016). Disponível em:<<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/citrus>>
364 Acesso em: 07 nov de 2017.
- 365 MATTOS JUNIOR D et al. (2005) CITROS: principais informações e recomendações de
366 cultivo. Texto preparado para a versão eletrônica do Boletim Técnico 200 (IAC). **IAC**,
367 v.1. Disponível em <<http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Citros/Ci-tros.htm>> Acesso
368 em: 23 de nov de 2018.
- 369 MEDEIROS, RC et al. (2013) Análise exploratória das características morfológicas e
370 qualitativas de variedades de laranjeiras de mesa da coleção em Brejão–PE. **Revista**
371 **Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n.2, p. 500-507. Disponível em: [http://www.scielo.br/](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010029452013000200020&script=sci_abstract&tlng=pt)
372 [scielo.php?pid=S010029452013000200020&script=sci_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010029452013000200020&script=sci_abstract&tlng=pt) Acesso em:
373 25 dez de 2018. doi:10.1590/S0100-29452013000200020.
- 374 MORAES FILHO, RMM et al. (2011) Variabilidade genética em genótipos da coleção
375 de germoplasma de Citrus, do Instituto Agrônomo de Pernambuco Brejão-PE, por meio
376 de marcadores moleculares ISSR. **Citrus Research and Technology**, v. 32, p. 67-76.
377 Disponível em: [http://s3.amazonaws.com/host-article assets/citrusrt/5964e5d80e8825](http://s3.amazonaws.com/host-article-assets/citrusrt/5964e5d80e88254833082b39/fulltext.pdf)
378 [4833082b39/fulltext.pdf](http://s3.amazonaws.com/host-article-assets/citrusrt/5964e5d80e88254833082b39/fulltext.pdf)> Acesso em: 25 dez de 2018.
- 379 NEGREIROS, JRS et al. (2014) Estimativa de repetibilidade para caracteres de qualidade
380 de frutos de laranjeira-doce. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 1, p. 40-48.
381 Disponível em: <http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/18289/12499>
382 Acesso em: 25 dez de 2018. doi:10.1590/S0100-204X2014000100006.

- 383 NEGREIROS, JRS et al. (2010) Caracterização agrônômica de diferentes porta-enxertos
384 cítricos enxertados sob laranja Pêra. Disponível em:<[https://ainfo.cnptia.embrapa.br/
385 digital/bitstream/item/36083/1/ID27142pdf1167.pdf](https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/36083/1/ID27142pdf1167.pdf)> Acesso em: 07 nov de 2018.
- 386 OLIVEIRA, RP et al. (2008) **Porta-enxertos para citros**. EMBRAPA Clima
387 Temperado, Pelotas. 45p. (Embrapa Documentos No. 226). Disponível
388 em:[https://www.infoteca.cnptia.
389 embrapa.br/bitstream/doc/744475/1/documento226.pdf](https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/744475/1/documento226.pdf)
Acesso em: 21 jan de 2019.
- 390 OLIVEIRA, RP et al. (2010) **Laranjeiras sem acidez**. Pelotas: Embrapa Clima
391 Temperado Pelotas. 23p, (Embrapa Documentos, 298). Disponível em:<
392 [https://www.infoteca.cnptia.
393 embrapa.br/bitstream/doc/884533/1/documento298.pdf](https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/884533/1/documento298.pdf)>
Acesso em: 21 jan de 2019.
- 394 OLIVEIRA RP et al. (2011) Cultivares-copa In: OLIVEIRA RP & SCIVITTARO WB
395 (eds). **Cultivo de citros sem sementes**. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, p.65-108.
396 (Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção, No. 21). Disponível em:<
397 [https://www.alice.cnptia.
398 embrapa.br/bitstream/doc/940971/1/Sistemas21.pdf](https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/940971/1/Sistemas21.pdf)> Acesso
em: 21 jan de 2019.
- 399 OLIVEIRA, RP et al. (2014) Cultivares de Citros Recomendadas pela Embrapa Clima
400 Temperado para o Rio Grande do Sul em 2014. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, p.1-
401 41. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 339). Disponível em:<
402 [https://www.infoteca.
404 cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1052695/1/Versao
atualizadaDocumento399.pdf](https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1052695/1/Versao
403 atualizadaDocumento399.pdf)> Acesso em: 21 jan de 2019.
- 404 PEREIRA, MEC et al. (2006) **Procedimentos pós-colheita na produção integrada de**
405 **citros**. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, 40 p. (Embrapa.
406 Documentos, 156).
- 407 PETTO NETO, A e POMPEU JUNIOR, J (1991) Colheita, beneficiamento e embalagem
408 da laranja. In: RODRIGUEZ, O. et al. **Citricultura brasileira**. Campinas: Fundação
409 Cargill, p.892-897.
- 410 POMPEU JUNIOR, J (2005) Porta-enxertos. In: MATTOS JUNIOR, D et al. (eds.).
411 **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag. p. 61-104.
- 412 REIS, RC et al. (2016) Physicochemical and sensorial quality of banana genotypes.
413 **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 1, p. 89-95. Disponível em:<[http://www.
414 scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S19834063201600010089](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S19834063201600010089)> Acesso em: 25
415 dez de 2018. doi: 10.1590/1983-40632016v4639553.

SILVA, A. D. F. da. Potencial para uso industrial e consumo *in natura* de variedades cítricas...

- 416 SALIBE, AA (1977) **Curso de especialização em fruticultura: cultura de citros.**
417 Recife, SUDENE/UFRPE, 200 p.
- 418 SCHWARZ, SF (2011) Melhoramento genético e variedades. In: Koller, O.C. (Org.).
419 **Citricultura: 1. Laranja: tecnologia de produção, pós-colheita, industrialização e**
420 **comercialização.** 2ª ed. Porto Alegre: Cinco Continentes. p. 9-18.
- 421 SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E MEIO AMBIENTE DE
422 PERNAMBUCO (2006). **Atlas de bacias hidrográficas de Pernambuco.** Recife. 104 p.
- 423 STENZEL, NMC et al. (2005) Desenvolvimento vegetativo, produção e qualidade dos
424 frutos da laranjeira “Folha Murcha” sobre seis porta-enxertos no Norte do Paraná.
425 **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1281-1286.
- 426 WESTPHALEN, F (2008) **Citricultura. Rio Grande do Sul:** Editora da Universidade
427 Federal de Santa Maria. p.02-05.
- 428 USDA (United States Department of Agriculture) (2017) Foreign Agricultural Service.
429 **Reports and data:** Citrus. Disponível em: <[https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/](https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/downloads)
430 [index.html#/app/downloads](https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/downloads).> Acesso em: 27 dez de 2017.

431 **Tabela 1.** Características morfoagronômicas de 14 variedades da coleção de *Citrus* do
 432 IPA - Brejão/PE

Nº	Variedades	Características*
1	Bahia 101	Conhecida como laranja de umbigo, maturação precoce sem sementes, casca amarela, polpa succulenta, sabor ácido e adocicado. Alto teor de vitamina C.
2	Baianinha 03	Semelhante à Bahia 101, porém com fruto menor.
3	Hamlin 02	Apresenta fruto pequeno, maturação precoce, casca fina e amarelada, baixo teor de suco, poucos açúcares e ligeiramente ácido. Indicada para produção de suco concentrado. Altamente produtiva.
4	Lima	Pertence ao grupo das laranjas sem acidez, maturação precoce, casca fina, amarela esverdeada, doce e succulenta. Indicada para consumo <i>in natura</i> .
5	Rubi	Apresenta frutos esféricos, maturação precoce, casca pouco espessa, cor laranja intensa, com suco bastante saboroso, servindo para o consumo ao natural ou industrializado. Altamente produtiva.
6	Sunstar	Maturação em meia-estação, frutos com acidez, muitas sementes, produtividade alta.
7	Pineapple	
8	Pêra D6	As três variedades apresentam maturação tardia, formato alongado casca lisa, fina, amarela. Polpa succulenta, de sabor adocicado e levemente ácido. Indicado para consumo <i>in natura</i> .
9	Pêra D9	
10	Pêra D 12	
11	Valência Tuxpan	Casca grossa suco amarelo forte e adocicado, frutos ovalados. Indicados para consumo <i>in natura</i> e produção de suco concentrado.
12	Westin	Frutos esféricos casca pouco espessa, cor laranja intensa, suco bastante saboroso, servindo para o consumo ao natural ou industrializado. Altamente produtiva.
13	Midsweet	Frutos de meia-estação, com acidez, muitas sementes, produtividade alta.
14	Salustiana	Maturação precoce, frutos com acidez, produtividade alta.

433 *Características descritas por Mattos Júnior et al. (2005), Embrapa Mandioca e Fruticultura (2003) e Bastos
 434 et al. (2014).

435 **Tabela 2.** Copa e porta-enxerto de laranjeiras da coleção de citros do Instituto
436 Agrônomico de Pernambuco, Brejão- PE

Laranjeiras	Porta-enxerto
Bahia 101	Tangerina Cleópatra x Citrumelo Swingle - 264
Baianinha 03	Tangerina Cleópatra x Citrumelo Swingle - 264
Hamlin 02	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra -264
Lima	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra - 264
Rubi	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra - 264
Sunstar	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra - 264
Pineapple	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra - 264
Pêra D6	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra - 264
Pêra D9	Limoeiro Cravo x Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra
Pêra D 12	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra - 226
Valência Tuxpan	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra - 226
Westin	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra - 264
Midsweet	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra - 264
Salustiana	Limoeiro Cravo x Tangerina Cleópatra - 264

437

438 **Tabela 3.** Características morfoagronômicas de variedades de laranja da coleção de
 439 *Citrus* em Brejão-PE

Variedades	AP (m)	DC (m)	VC (m³)	DAc (cm)	DAb (cm)	IC
Bahia 101	3,32 a*	3,66 a	24,14 a	13,89 a	17,18 a	1,27 a
Baianinha 03	2,86 a	3,69 a	21,16 a	9,76 a	16,56 a	1,75 a
Hamlin 02	3,14 b	3,78 a	25,59 a	12,89 a	15,21 b	1,18 b
Lima	3,58 a	3,61 a	25,24 a	13,41 a	14,28 b	1,08 b
Rubi	3,00 b	3,13 a	16,39 a	10,31 a	13,74 b	1,40 a
Sunstar	3,05 b	3,83 a	23,48 a	12,25 a	14,59 b	1,19 a
Pineapple	3,46 a	3,83 a	27,19 a	10,85 a	14,17 b	1,33 a
Pêra D6	2,55 b	2,99 a	12,17 a	11,98 a	12,12 b	1,01 b
Pêra D9	2,67 b	2,83 a	12,43 a	10,74 a	13,49 b	1,28 b
Pêra D12	3,13 b	3,34 a	18,73 a	13,46 a	13,22 b	0,98 b
Valência Tuxpan	3,72 a	3,96 a	30,65 a	16,02 a	17,55 a	1,09 a
Westin	2,40 b	3,08 a	12,88 a	10,74 a	14,09 b	1,31 a
Midsweet	3,47 a	3,24 a	19,19 a	12,84 a	15,63 a	1,21 a
Salustiana	4,20 a	3,54 a	28,41 a	14,37 a	16,18 a	1,14 a
C V (%)	13,91	17,11	40,61	16,30	11,33	17,88

440 AP: altura da planta, DC: diâmetro da copa, VC: volume de copa, DAc: diâmetro acima da linha de
 441 enxertia, DAb: diâmetro abaixo da linha de enxertia, IC: índice de compatibilidade entre enxerto e porta-
 442 enxerto. *Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de comparação de
 443 médias de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

444 **Tabela 4.** Características dos frutos de variedades de laranja da coleção de Citrus em
 445 Brejão-PE

Variedades	MF (g)	MS (g)	RS (%)	NS	DTF (mm)	DLF (mm)	EP+M (mm)	EEN (mm)
Bahia 101	211,75 a*	153,19 a	72,33 b	0,16 d	68,71 a	73,04 a	3,49 b	65,32 a
Baianinha 03	237,50 a	171,19 a	72,41 b	0,50 d	74,90 a	76,27 a	4,16 a	67,30 a
Hamlin 02	162,50 b	119,85 b	73,83 b	5,25 c	66,08 b	66,11 b	3,55 b	59,60 a
Lima	160,00 b	107,33 b	67,43 c	11,66 b	63,50 b	66,70 b	3,67 b	58,00 a
Rubi	187,50 b	127,61 b	68,05 c	10,91 b	67,22 b	72,05 a	4,30 a	62,10 a
Sunstar	165,41 b	115,05 b	69,90 c	10,75 b	62,38 b	69,40 b	3,69 b	60,41 a
Pineapple	192,50 b	138,92 a	71,67 b	14,30 a	66,43 b	72,98 a	3,90 a	63,27 a
Pêra D6	137,08 b	101,80 b	73,87 b	6,25 c	60,09 b	63,5 b	2,74 b	58,39 a
Pêra D9	161,25 b	123,00 b	76,66 a	6,08 c	65,05 b	68,4 b	3,12 b	60,74 a
Pêra D12	175,41 b	137,61 a	78,94 a	8,41 b	68,34 a	68,8 b	2,81 b	63,77 a
Valência Tuxpan	210,00 a	161,19 a	77,02 a	7,50 c	66,18 b	75,02 a	3,31 b	67,90 a
Westin	228,33 a	166,17 a	72,70 b	4,16 c	72,13 a	76,76 a	3,26 b	64,03 a
Midsweet	237,50 a	155,59 a	65,22 c	13,91 a	72,20 a	78,78 a	4,98 a	65,49 a
Salustiana	219,58 a	150,82 a	68,89 c	1,91 d	71,36 a	75,25 a	4,64 a	65,60 a
CV (%)	17,23	17,38	4,11	25,25	6,01	6,24	19,15	6,46

446 MF: massa do fruto, MS: massa do suco, RS: rendimento de suco, NS: número de sementes, DTF:
 447 diâmetro transversal do fruto, DLF: diâmetro longitudinal do fruto, EP+EM: espessura do epicarpo mais
 448 mesocarpo, EEN: espessura do endocarpo. *Médias seguidas da mesma letra não diferem
 449 significativamente pelo teste de comparação de médias de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

450 **Tabela 5.** Características físico-químicas de variedades de laranja da coleção de Citrus
 451 em Brejão-PE

Variedades	SS (°Brix)	pH	AT (%)	SS/AT	VIT. C (mg/100g)
Bahia 101	12,93 a*	3,71 c	0,97 b	13,33 b	41,47 a
Baianinha03	11,33 a	3,66 c	0,87 b	9,65 b	42,42 a
Hamlin 02	11,00 a	3,26 d	1,62 a	6,89 b	36,13 a
Lima	9,86 b	5,96 a	0,07 d	133,33 a	41,87 a
Rubi	11,33 a	3,73 c	0,98 b	11,60 b	39,40 a
Sunstar	11,60 a	3,61 c	1,12 b	10,42 b	48,21 a
Pineapple	11,26 a	3,67 c	1,01 b	11,65 b	44,17 a
Pêra D6	9,93 b	3,56 d	1,08 b	8,97 b	34,98 a
Pêra D9	10,20 b	3,47 d	1,07 b	9,55 b	37,47 a
Pêra D12	10,13 b	3,76 c	0,88 b	11,58 b	35,28 a
Valência Tuxpan	9,46 b	3,32 d	1,17 b	8,53 b	48,41 a
Westin	10,60 b	4,09 b	0,69 c	15,46 b	31,45 a
Midsweet	11,26 a	3,52 d	1,19 b	9,55 b	41,74 a
Salustiana	12,26 a	3,76 c	0,70 c	17,47 b	35,56 a
CV (%)	9,42	4,53	18,04	22,08	15,74

452 SS: sólidos solúveis, pH: potencial hidrogeniônico, AT: acidez titulável, SS/AT: razão sólidos
 453 solúveis/acidez titulável e teor de vitamina C. *Médias seguidas da mesma letra não diferem
 454 significativamente pelo teste de comparação de médias de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

**Potencial industrial e consumo *in natura* de variedades de tangerina na
Microrregião de Garanhuns**

CAPÍTULO III

Artigo a ser enviado para a revista Ciência Rural Qualis B1 – Agrárias

1 **Potencial para uso industrial e consumo *in natura* de variedades de tangerina na**
2 **Microrregião de Garanhuns**

3 Allan Deyws Francisco da Silva¹; Mairon Moura da Silva²; Jesuito Bernando de
4 Araujo³; Rômulo Maciel de Moraes Filho¹; Rosimar dos Santos Musser¹

5 **RESUMO**

6 O trabalho objetivou a seleção e classificação de variedades de tangerineiras nas
7 condições edafoclimáticas do Agreste Meridional de Pernambuco tendo em vista a
8 diversificação de pomares brasileiros no que tange aspectos agrônômicos e características
9 físicas, físico-químicas e químicas visando à classificação das variedades com finalidades
10 industriais e/ou consumo *in natura*. Utilizou-se na experimentação 12 variedades de
11 tangerinas cedidas pela Embrapa Mandioca e Fruticultura implantadas na Estação
12 Experimental do Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), Brejão-PE. Foram
13 avaliadas a altura da planta; diâmetro e volume da copa; diâmetro do caule acima e
14 abaixo da linha de enxertia; índice de compatibilidade e as características de qualidades
15 físicas e químicas dos frutos. O delineamento foi em blocos ao acaso com três repetições
16 e uma planta por parcela. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste
17 de comparação de médias de Scott-Knott a 5% de probabilidade. As variedades, Nova,
18 Minneola, Ponkan e Piemonte atendem os requisitos para o consumo *in natura*, já as
19 variedades Mexerica, Robinson, Lee, Dancy, Murcott, Kinnow, Swatow e Fortune Iniasel
20 apresentaram potencial industrial.

21 **Palavras-chave:** Rendimento; variedades; vitamina C, fruticultura.

22 ¹Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas; Departamento de
23 Agronomia; Universidade Federal Rural de Pernambuco; Recife - PE- Brasil. ²Unidade
24 Acadêmica de Garanhuns; Garanhuns - PE – Brasil. ³Instituto Agrônômico de
25 Pernambuco - IPA; Garanhuns - PE – Brasil. Autor para correspondência e-mail:
26 a.deyws09@gmail.com.

27 **ABSTRACT**

28 The objective of this work was the selection and classification of mandarin varieties in
29 the soil and climatic conditions of the Southern *Agreste* of Pernambuco, considering the
30 diversification of Brazilian orchards in terms of agronomic aspects and physical, chemical
31 and chemical characteristics aiming at the classification of varieties with industrial and /
32 or *in natura* consumption. Twelve varieties of mandarins ceded by Embrapa Mandioca
33 and Fruticultura were used in the experimentation at the Experimental Station of the
34 Agronomic Institute of Pernambuco (IPA), Brejão-PE. The height of the plant was
35 evaluated; shoots diameter and volume; stem diameter above and below the grafting line;
36 compatibility index and the characteristics of physical and chemical qualities of the fruits.
37 The design was in randomized blocks with three replications and one plant per plot. The
38 results were submitted to analysis of variance and Scott-Knott averages comparison test
39 at 5% probability. The varieties New, Minneola, Ponkan and Piedmont meet the
40 requirements for *in natura* consumption, since the varieties Mexerica, Robinson, Lee,
41 Dancy, Murcott, Kinnow, Swatow and Fortune Iniasel presented industrial potential.

42 **Key words:** Income; varieties; vitamin C, fruit growing.

43

44 **INTRODUÇÃO**

45 O Brasil se destaca como o maior produtor mundial de frutas cítricas, e o terceiro
46 maior produtor mundial de tangerina, com aproximadamente 52 mil hectares plantados e
47 produção de um milhão de toneladas/ano, contribuindo com 3% da produção mundial,
48 seguido da China, Índia e Estados Unidos (Turra et al. 2014a, FAO 2015, Turra e Santos
49 2016, FAOSTAT 2017). As principais características que fazem com que o Brasil seja
50 considerado o maior produtor são suas dimensões continentais, diversidades
51 agroclimáticas, particularidades de solos, aspectos fisiológicos das espécies, incidência
52 de doenças e pragas e umidade local (Cerqueira et al. 2004, Turra et al. 2014b).

53 A citricultura brasileira nos últimos anos vem apresentando uma expansão, pois
54 além da laranja, o cultivo da tangerina vem crescendo e ganhando mercado nos últimos
55 anos. Os principais pomares estão nos estados do Sudeste que contribui com 61% e Sul
56 com 31 % da produção nacional de tangerina, onde os maiores produtores são os estados
57 de São Paulo (38%), Minas Gerais (15%) e Paraná (15%). A região Nordeste contribui
58 com apenas 3% da produção nacional, seus maiores produtores são os estados da Bahia,
59 Sergipe e Ceará (IBGE, 2017). A produção da tangerina no Brasil diferentemente da

60 laranja, está voltada principalmente para o consumo *in natura* devido principalmente
61 casca mais fina e pouco aderente resultando em facilidade para descascar, sabor e odor
62 suaves, casca e polpa de coloração alaranjada que conferem ao fruto uma melhor
63 aceitação pelo consumidor (Detoni et al. 2009, Michielin et al. 2016).

64 No que se refere aos aspectos de mercado tanto para o consumo *in natura* como
65 para industrialização deve-se considerar fatores intrínsecos e extrínsecos, como: tamanho,
66 peso, espessura da casca, cor, textura, rendimento em conteúdo de suco, sólidos solúveis,
67 acidez titulável, relação sólidos solúveis/acidez (ratio) (Borges e Pio 2003, Pacheco et al.
68 2014).

69 O cultivo da tangerina apresenta uma pequena variabilidade a respeito das
70 variedades que são comercializadas tanto para a indústria quanto para o mercado de frutas
71 frescas, sendo a tangerina Ponkan e o tangor Murcott as mais notáveis, ficando assim os
72 produtores com poucas alternativas no momento de escolher a variedade a ser cultivada,
73 tornando sua cultura bastante vulnerável principalmente aos problemas fitossanitários.
74 Contudo com a demanda de maior oferta do produto, para minimizar o problema se faz
75 necessário o cultivo de novas variedades comerciais, somadas a boas características
76 morfológicas (Santos 2011, Michiellin et al. 2016, Pacheco et al. 2017).

77 O porta-enxerto afeta diversas características morfológicas como também aspectos
78 físicos, químicos e físico-químicos que incluem o porte, longevidade das plantas,
79 maturação, peso, permanência dos frutos na planta, coloração do suco, teores de açúcares,
80 ácidos, absorção, síntese e utilização de nutrientes, tolerância a pragas e doenças,
81 produtividade e conservação pós-colheita e na qualidade das frutas (Pompeu Junior 2005,
82 Oliveira 2008).

83 Diante do contexto, o objetivo deste trabalho foi classificar variedades de
84 tangerineiras nas condições edafoclimáticas do Agreste Meridional de Pernambuco
85 quanto ao seu potencial para a industrialização e o consumo *in natura*.

86

87 MATERIAL E MÉTODOS

88 A pesquisa foi realizada na coleção de citros com doze anos de idade localizada na
89 Estação Experimental de Brejão - PE, pertencente ao Instituto Agrônomo de
90 Pernambuco (IPA). Esta Microrregião apresenta altitude média de 820 m, latitude 8° 53'
91 S, longitude 36° 31' W, clima seco sub-úmido, temperatura do ar média mensal que varia

92 entre 17 e 22°C (Figura 7) ao longo do ano e precipitação média anual de 782,4 mm, de
93 acordo com os dados da Agência Pernambucana de Águas e Climas (APAC).

94 Os tratamentos foram compostos por 12 variedades de tangerinas (Tabela 1)
95 enxertadas sobre diversos porta-enxertos (Tabela 2). O experimento foi irrigado por
96 microaspersão, com base no monitoramento da água no solo. Os tratos culturais e
97 operações de manejo foram realizados de acordo com as recomendações para a cultura.

98 A condução do experimento foi compreendida entre março de 2016 a novembro de
99 2016 com delineamento experimental em blocos ao acaso, três repetições e uma planta
100 por parcela, em espaçamento 6 x 4 m. As mensurações do crescimento das diversas
101 variedades de tangerineiras estudadas foram realizadas em abril de 2016. As avaliações
102 compreenderam:

103 Altura da planta (AP): obtida desde o solo até o topo da copa com o auxílio de uma
104 régua graduada em centímetros, expresso em metros (m);

105 Diâmetro da copa (DC): obtido através da mensuração no sentido paralelo e
106 perpendicular à linha de plantio, com uma régua graduada em centímetros, de acordo com
107 a metodologia proposta por Stenzel et al. (2005), expresso em metros (m);

108 Diâmetro acima da linha de enxertia (DAc) e diâmetro abaixo da linha de enxertia
109 (DAb): a avaliação da relação enxerto/porta-enxerto foi realizada a cinco centímetros
110 acima e abaixo da linha de enxertia com o auxílio de uma fita métrica. Obtendo-se a
111 circunferência, esta foi transformada, posteriormente, em diâmetro pela fórmula $C=2\pi.R$,
112 expresso em centímetros (cm).

113 Volume da copa (VC): com base nos dados de altura da planta e diâmetro da copa
114 foi calculado o volume da copa pela fórmula $VC = AP \times (DC/2)^2 \times (2/3 \times \pi)$, expresso em
115 m^3 .

116 Índice de compatibilidade (IC): com base nos dados de diâmetro do caule obteve-
117 se o índice de compatibilidade, consistindo na razão aritmética entre enxerto e porta-
118 enxerto.

119 O início da maturação fisiológica dos frutos serviu de indicativo para a colheita e
120 posterior avaliação da qualidade física, química e físico-química dos frutos, onde foram
121 coletados quatro frutos por planta, de modo aleatório por toda a extensão da copa. A
122 colheita ocorreu entre abril a setembro de 2016, sendo observada a uniformidade da
123 coloração nos frutos.

124 Imediatamente após a colheita as amostras de frutos foram acondicionadas em sacos
125 plásticos transparentes devidamente identificadas e transportadas para o Laboratório de
126 Biologia Vegetal da UFRPE-UAG, em Garanhuns-PE. As amostras foram transportadas
127 em sacolas térmicas para evitar o aquecimento e conseqüente perda de qualidade. Foram
128 realizadas as seguintes análises físicas nos frutos:

129 Massa do fruto (MF): medido com balança digital, expresso em gramas (g).

130 Diâmetro transversal (DTF) e Diâmetro longitudinal do fruto (DLF): obtido com
131 auxílio de um paquímetro digital, expresso em milímetros (mm).

132 Espessura do endocarpo (EEN) e espessura do pericarpo mais mesocarpo
133 (EP+EM): realizada em quatro pontos distintos e semelhantes perfazendo a
134 circunferência, expresso em milímetros (mm).

135 Número de sementes (NS): contagem e pesagem do número de sementes de cada
136 repetição, expresso em gramas (g).

137 Rendimento do suco (RS): obtido através de esmagamento dos frutos em extratora
138 manual, posteriormente foi obtido o rendimento do suco por meio da relação massa do
139 suco/massa do fruto x 100, expresso em porcentagem (%).

140 Quanto às características físico-químicas e químicas dos frutos, as análises
141 compreenderam:

142 Sólidos solúveis (SS): obtido através da leitura direta de uma alíquota de
143 aproximadamente 2 mL em refratômetro manual (RHB-32ATC), expresso em °Brix.

144 Acidez titulável (AT): determinada segundo metodologia descrita pelo Official
145 Methods of Analysis of Internacional (AOAC, 2005), que utiliza 5 g de suco para ser
146 titulado com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1N e indicador fenolftaleína 1%,
147 sendo o resultado expresso em porcentagem de ácido cítrico.

148 Teor de vitamina C (ácido ascórbico): determinado pelo método titulométrico,
149 utilizando 2,6 diclofenol indofenol, segundo metodologia descrita pela Official Methods
150 of Analysis of Internacional (AOAC 2005) em triplicata, sendo expresso em mg de ácido
151 ascórbico por 100 mL de suco.

152 Relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT): que é a razão aritmética entre os
153 sólidos solúveis e a acidez.

154 Potencial Hidrogeniônico (pH): obtido pelo método direto em potenciômetro
155 (Modelo Jenway) higienizado e calibrado.

156 Os dados de crescimento das plantas e das análises químicas e físicas dos frutos
157 foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias de Scott-Knott
158 a 5% de probabilidade, processados pelo programa SISVAR versão 5.6 (Ferreira 2011).

159

160 **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

161 Na avaliação de abril/2016, a altura da planta variou entre 2,78 m a 5,08 m entre as
162 variedades estudadas. A variedade Swatow (5,08 m) obteve a maior média diferindo
163 significativamente de todas as variedades estudadas (Tabela 3). Para o diâmetro de copa
164 em abril/2016 as variedades não apresentaram diferença significativa, portanto este não
165 pode ser um parâmetro decisivo na classificação das variedades de tangerineiras
166 estudadas (Tabela 3).

167 As variedades Swatow (51,91 m³) e Ponkan (48,78 m³) obtiveram as maiores
168 médias com relação ao volume de copa diferindo significativamente de todas as outras
169 variedades estudadas (Tabela 3). Em um estudo com base no vigor, produtividade e
170 qualidade de frutos de quatro tangerineiras e híbridos sobre quatro porta-enxertos, foi
171 encontrado um maior volume de copa para a variedade Swatow enxertada sobre a
172 tangerina Cleópatra (Stuchi et al. 2008). O menor valor para o volume de copa foi
173 observado na variedade Nova (18,03 m³), mais não diferindo de outras variedades (Tabela
174 3). De acordo com Donadio e Stuchi (2001), plantas com menor volume de copa, reflete
175 em diversas vantagens como facilidade no controle de pragas e doenças, melhor
176 manutenção da planta, eficácia na colheita e consequentemente permitindo um maior
177 adensamento no plantio.

178 Não foi observado diferenças significativas entre as variedades para o diâmetro
179 acima da linha de enxertia (DAc) em abril/2016. Entretanto para o diâmetro abaixo da
180 linha de enxertia (DAb), mostrou a formação de dois grupos com valores variando entre
181 12,57 cm (Murcott) a 18,46 cm (Lee e Swatow) (Tabela 3).

182 Valores do índice de compatibilidade (IC) mais próximos a um reflete um bom
183 pegamento entre o porta-enxerto e a copa (Negreiros et al. 2010). Os resultados
184 mostraram que as variedades por não apresentarem diferenças significativas mostraram
185 bons resultados de IC, indicando um maior grau de compatibilidade na relação
186 enxerto/porta-enxerto entre as tangerineiras.

187 Para a variável massa dos frutos merece destaque a variedade Minneola (317,50 g)
188 com o maior média, não diferindo significativamente das variedades Nova, Ponkan,

189 Piemonte e Swatow (Tabela 4). No entanto, todas as variedades se encontram dentro dos
190 padrões estabelecidos para a comercialização que é de 138 g (Mendonça et al. 2006).

191 O rendimento do suco apresentou médias que variaram entre 61,64% (Kinnow) a
192 81,82% (Mexerica), no entanto todas estão dentro dos padrões estabelecidos tanto para o
193 consumo *in natura* que é de 35% (Ceagesp 2011), como para a indústria que prefere frutos
194 com rendimento de suco superior a 40% (Koller et al. 1994).

195 As variedades Kinnow e Piemonte apresentaram o maior número de sementes/fruto
196 com valores de 36,50 e 28,83, respectivamente, diferindo significativamente de todas as
197 outras variedades estudadas. No entanto, podemos ressaltar que todas as variedades
198 apresentaram um alto número de sementes por fruto.

199 De acordo com Miranda e Campelo Junior (2015), essa alta quantidade de
200 sementes/fruto pode ser devido à polinização cruzada que ocorre em plantas de coleção,
201 que diferentemente de plantios comerciais com o controle da polinização esse número de
202 sementes tenderia a ser menor.

203 A avaliação externa dos frutos engloba atributos geométricos e físicos, os quais
204 influenciam diretamente na aceitabilidade por parte dos consumidores (Reis et al. 2016).
205 A variedade Minneola apresentou a maior média para o diâmetro transversal e diâmetro
206 longitudinal dos frutos, com valores de 73,17 mm e 92,01 mm respectivamente, mas não
207 diferindo de outras variedades (Tabela 4). No entanto, todas as variedades estão dentro
208 dos padrões exigidos tanto para a indústria que prefere frutos com até 70 mm (Miranda
209 et al. 2012), como para citros de mesa que prefere frutos acima de 70 mm (Petto Neto e
210 Pompeu Junior 1991).

211 A maior espessura do epicarpo mais mesocarpo (EP+EM) foi observada na
212 variedade Minneola (4,79 mm). A menor espessura foi obtida pela variedade Murcott
213 (1,92 mm), no entanto não diferindo de outras variedades pertencentes ao mesmo grupo.
214 Na espessura do endocarpo (EEN) a variedade Ponkan (83,25 mm) obteve a maior média
215 dentre as variedades (Tabela 4). A importância desses parâmetros se dá principalmente
216 pelo maior aproveitamento no rendimento de suco quer seja para a indústria como para o
217 consumo *in natura*, pois frutos com maior espessura do epicarpo mais mesocarpo resultam
218 em baixo aproveitamento da matéria-prima (Oliveira et al. 2010).

219 Os valores de sólidos solúveis (SS) variaram entre 9,20 °Brix a 12,60 °Brix (Tabela
220 5), no entanto todas estão dentro dos padrões mínimos estabelecidos para citros de mesa
221 que é de 9 °Brix (Ceagesp 2011). Os valores observados nesse trabalho para as variedades

222 Kinnow (11,66 °Brix) e Nova (10,53 °Brix) diferem de um estudo realizado por Singh et
223 al. (2016) que encontraram nas mesmas variedades valores de 9,76 °Brix para a variedade
224 Kinnow e 9,59 °Brix para a variedade Nova. Os sólidos solúveis representa um
225 importante fator de qualidade por estar diretamente relacionado com o sabor do produto,
226 sendo utilizado como medida indireta do teor de açúcares presentes nos frutos, pois a
227 partir do momento em que os teores de açúcares vão se acumulando no fruto, os sólidos
228 solúveis também tendem a aumentar (SILVA et al. 2014).

229 De acordo com o potencial hidrogênionico (pH) os alimentos são classificados
230 como de baixa acidez (pH > 4,5), ácidos (pH de 4,0 a 4,5) e muito ácidos (pH < 4,0). Essa
231 classificação se baseia no pH mínimo para a multiplicação e produção de toxina do
232 *Clostridium botulinum* (pH=4,5) e no pH mínimo para a multiplicação da grande maioria
233 das bactérias (pH=4,0). Desta forma todas as variedades foram classificadas como ácidas
234 e muito ácidas (Tabela 5) favorecendo a estabilidade microbiológica do suco (Dionisio et
235 al. 2016).

236 De acordo com Brunini et al. (2013) o pH também se caracteriza como grande aliado
237 tanto do consumidor como da agroindústria, principalmente por estar relacionado com a
238 estabilização da vitamina C. Nesse estudo através dos dados da tabela 5 pode-se verificar
239 que o pH variou entre 2,94 para a variedade Fortune Iniasel e 4,05 para a variedade Lee.

240 A acidez titulável variou entre 1,99 % a 0,60% de ácido cítrico (Tabela 5). De
241 acordo com Montenegro (1958) o mercado de fruto *in natura* prefere frutos com acidez
242 menor que um, se enquadrando nesse parâmetro as variedades (Lee, Nova, Robinson,
243 Minneola, Ponkan, Mexerica, Piemonte e Swatow), já para a indústria a preferência é por
244 uma acidez titulável maior que um e se encaixa nesse padrão as variedades (Dancy,
245 Murcott, Kinnow e Fortune Iniasel) (Tabela 5).

246 O ratio é a relação entre o teor de sólidos solúveis (°Brix) e o teor acidez titulável
247 (AT), sendo este um indicador utilizado para determinar o estágio de maturação,
248 determinando o balanço do sabor doce/ácido (Texeira et al. 2017). A literatura estabelece
249 valores acima de 8,5 para o consumo *in natura*, no entanto todas as variedades estão
250 dentro dos padrões mínimos exigidos para citros de mesa (Ceagesp 2011), já a indústria
251 requer valores entre 12 e 15 segundo Steger (1990), no entanto as variedades Robinson e
252 Minneola estão dentro dos limites estabelecidos.

253 O teor de vitamina C (ácido ascórbico) variou entre 13,04 mg/100 mL e 39,34
254 mg/100 mL de suco (Tabela 3). De acordo com Detoni (2009) tangerinas apresentam em

255 média de 20 a 50 mg de ácido ascórbico por 100 mL⁻¹ de suco. Nesse estudo com base
256 nos dados da tabela 5 podemos observar que as variedades Nova, Robinson, Minneola,
257 Ponkan, Dancy, Piemonte, Kinnow Swatow e Fortune Iniasel estão dentro do limite
258 estabelecido.

259 Os porta-enxertos utilizados para as doze variedades de tangerinas além de
260 apresentarem um bom índice de compatibilidade (Tabela 3), exerceram influências
261 positivas sobre diversas características (Tabelas 3; 4 e 5) incluindo como vantagem uma
262 boa longevidade por se tratar de um pomar com treze anos de idade, peso, tamanho,
263 rendimento de suco, SS e acidez dos frutos que foram superiores ao padrão de
264 aceitabilidade tanto para o consumo *in natura* quanto para o processamento industrial.

265

266 **CONCLUSÕES**

267 Nas condições edafoclimáticas da Microrregião de Garanhuns as variedades,
268 Novas, Minneola, Ponkan e Piemonte atendem os requisitos mínimos exigidos para o
269 consumo *in natura*, com atributos importantes que as diferenciam e as tornam
270 competitivas dentro do mercado estando o tamanho dos frutos e sólidos solúveis
271 adequados.

272 Nas condições edafoclimáticas da Microrregião de Garanhuns as variedades de
273 tangerina: Mexerica, Robinson, Lee, Dancy, Murcott, Kinnow, Swatow e Fortune Iniasel
274 apresentaram tamanho do fruto, rendimento de suco e acidez titulável dentro dos padrões
275 mínimos exigidos para o processamento industrial.

276 As variedades Lee, Robinson e Murcott enxertadas sobre o híbrido LVK-CLEO-
277 264, Nova enxertada sobre o híbrido LVK- 264-256, Minneola enxertada sobre o híbrido
278 LVK-SKT-264, Ponkan enxertada sobre o híbrido LVK-264, Dancy enxertada sobre o
279 híbrido LVK-CLEO -SKT, Piemonte enxertada sobre o híbrido CLEO-SKT-264, Kinnow
280 enxertada sobre o híbrido LVK –SW-264, Swatow enxertada sobre o híbrido CLEO-SW-
281 264 e Fortune Iniasel enxertada sobre o híbrido CLEO-264 apresentam diversas
282 características agrônômicas dentro do esperado para esse grupo de citros na referida região.

283

284 **AGRADECIMENTOS**

285 O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento
286 de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Silva

287 ADF foi financiado por uma bolsa de doutorado CAPES, e Moraes Filho RM foi
288 financiado por uma bolsa de Pós-Doutorado CAPES.

289

290 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

291 AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (2005) **Official**
292 **methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 18ª ed.
293 Washington, DC, 2005, 1015 p.

294 ALMEIDA, CD et al. (2011) In ALMEIDA, C.O & PASSOS, O.S (eds). **Citricultura**
295 **brasileira: em busca de novos rumos desafios e oportunidades na região Nordeste**.
296 Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, p. 73-100.

297 ALTAF, N e KHAN, AR (2008) Variation within kinnow (*Citrus reticulata*) and rough
298 lemon (*Citrus jambhiri*). **Pakistan Journal Botany**, v. 40, n. 2, p. 589-598. Disponível
299 em:< [http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/40\(2\)/PJB40\(2\)589.pdf](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/40(2)/PJB40(2)589.pdf)>.

300 BASTOS D et al. (2014) Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira.
301 **Informe Agropecuário**, v. 35, n. 281, p. 36-45. Disponível em:< [https://www.alice.
302 cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1007492/1/Debora214.pdf](https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1007492/1/Debora214.pdf)>

303 BORGES, RDS e PIO, RM (2003) Comparative study of the mandarin hybrid fruit
304 characteristics: Nova, Murcott and Ortanique in Capão Bonito SP, Brazil. **Revista**
305 **Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 448-452. Disponível em:< [http://www.
306 scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452003000300022](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452003000300022)> Acesso em:
307 21 jan de 2019. doi:10.1590/S0100-29452003000300022

308 BRUNINI, MA et al. (2013) Qualidade de laranja Hamlin armazenada em diferentes
309 temperaturas. **Nucleus**, v. 10, n. 2, p. 307-321. Disponível em: [http://www.nucleus.
310 feituverava.com.br/index.php/nucleus/article/view/981/1212](http://www.nucleus.feituverava.com.br/index.php/nucleus/article/view/981/1212). Acesso em: 21 jan de 2018.
311 doi:10.3738/1982.2278.981.

312 CEAGESP (2011) **Programa Brasileiro para Modernização da Horticultura. Normas**
313 **de classificação de citros de mesa**. CEAGESP, São Paulo, 12 p.

314 CERQUEIRA, EC et al. (2004) Resposta de porta-enxertos de citros ao déficit hídrico.
315 **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 515-519. Disponível em:< [http://www.
316 scielo.br/pdf/rbf/v26n3/23158.pdf](http://www.scielo.br/pdf/rbf/v26n3/23158.pdf)> Acesso em: 21 jan de 2019.

317 DETONI, AM et al. (2009) Influência do sol nas características físicas e químicas da
318 tangerina Ponkan cultivada no Oeste do Paraná. **Ciência Agrotécnica**, v. 33, n.2, p. 624-
319 628. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext &pid=S1413-

- 320 70542009 000200041&l ng=en& nrm=iso&tlng=pt> Acesso em: 28 jan de 2019.
321 doi:10.1590/S1413-70542009000200041.
- 322 DIONISIO, A P; WURLITZER, N J; GOES, TS; BORGES, MF; GARRUTI, D;
323 ARAUJO, IMS (2016) Estabilidade de uma bebida funcional de frutas tropicais e yacon
324 (*Smallanthus sonchifolius*) durante o armazenamento sob refrigeração. **Archivos**
325 **Latinoamericanos de Nutricion**, Venezuela, v. 66, n. 2, p. 148-155.
- 326 DONADIO, LC (2001) **Tangerinas ou mandarinas**. Editora Funep, Jaboticabal, 100 p.
327 1998. DONADIO, L.C. & STUCHI, E.S. **Adensamento de plantio e ananicamento de**
328 **400 citros**. Editora Funep. 70p.
- 329 FAO (2018) **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Production.
330 Disponível em: <<http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anco>>.
331 Acesso em: 23 jan. 2018.
- 332 IAC (2003) **Tangelo Nova IAC 1583: variedade para citricultura de mesa**. Campinas.
333 Folder. Disponível em:< [http://www.iac.sp.gov.br/cultivares/inicio/folders/Tangerina/](http://www.iac.sp.gov.br/cultivares/inicio/folders/Tangerina/TangeloNovaIAC-1583.htm)
334 [TangeloNovaIAC-1583.htm](http://www.iac.sp.gov.br/cultivares/inicio/folders/Tangerina/TangeloNovaIAC-1583.htm)> Acesso em: 21 jan de 2018.
- 335 IEA (2018) Instituto de Economia Agrícola, Secretaria de Agricultura e Abastecimento
336 do Estado de São Paulo. **A cultura da tangerina no estado de São Paulo**. Disponível
337 em:<[http:// www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=13565](http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=13565)> Acesso em 18 jan
338 de 2018.
- 339 ISHFAQ, M et al. (2004) **Citriculture and its chartactered trees in Sargodha**. In
340 Proceedings of international conference on citriculture, University of Agriculture,
341 Faisalabad, 62 p.
- 342 KOLLER, OC (1994) **Citricultura: limão e tangerina**. Rige, Porto Alegre. 446 p.
- 343 MEDINA, AL et al. (2005) El Banco de Germoplasma de Cítricos del IVIA: colección
344 de campo. Levante Agrícola: **Revista internacional de cítricos**, n.378, p.329-332.
- 345 MENDONÇA, V et al. (2006) Qualidade de frutos da tangerineira 'Ponkan' após poda de
346 recuperação. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.2, p.271-276. Disponível em:<
347 [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542006000200012&](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542006000200012&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)
348 [lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542006000200012&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)> Acesso em: 28 jan de 2018. doi:10.1590/S1413-
349 70542006000200012.
- 350 MIRANDA, MN (2012) Qualidade de Frutos de Laranjeira 'Pêra' Colhidos nas
351 Condições Ambientais do Município de Colorado do Oeste–Rondônia. **Uniciências**, v.16,
352 n.1, p.39-43. Disponível em:< [http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/](http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/uniciencias/article/view/544)
353 [uniciencias/article/ view/544](http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/uniciencias/article/view/544)> doi: /10.17921/1415-5141.2012v16n1p%25p.

- 354 NEGREIROS, JRS et al. (2010) **Caracterização agrônômica de diferentes porta-**
355 **enxertos cítricos enxertados sob laranja Pêra, Natal-RN.** In: Congresso Brasileiro de
356 Fruticultura, 21, Natal. Frutas: saúde, inovação e responsabilidade: **anais.** Natal:
357 Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2010.
- 358 OLIVEIRA, RP et al. (2008) **Porta-enxertos para citros.** EMBRAPA Clima
359 Temperado, Pelotas. 45p. (Embrapa Documentos No. 226). Disponível
360 em:[https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/ bitstream/doc/744475/1/documento226.pdf](https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/744475/1/documento226.pdf)
361 Acesso em: 21 jan de 2019.
- 362 OLIVEIRA, RP et al. (2010) **Laranjeiras sem acidez.** Pelotas: Embrapa Clima
363 Temperado Pelotas. 23p. (Embrapa Documentos, 298). Disponível em:<
364 [https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/ bitstream/doc/884533/1/documento298.pdf](https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/884533/1/documento298.pdf)>
365 Acesso em: 21 jan de 2019.
- 366 PACHECO, C et al. (2014) Caracterização de frutos do tangor TMXLP 290 para mercado
367 de fruta fresca. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.4, p.805-812. Disponível
368 em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452014000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=pt> Acesso em: 28 jan de 2019 doi:10.1590/0100-2945-
369 219/13.
- 371 PETTO NETO, A e POMPEU JUNIOR, J (1991) Colheita, beneficiamento e embalagem
372 da laranja. In: RODRIGUEZ, O. et al. **Citricultura brasileira.** Fundação Cargill,
373 Campinas, p.892-897.
- 374 POMPEU JUNIOR, J (2005) **Porta-enxertos.** In: MATTOS JUNIOR, D. et al. (eds).
375 Citros. Instituto Agrônômico e Fundag, Campinas, p. 61-104.
- 376 REIS, RC et al. (2016) Physicochemical and sensorial quality of banana genotypes.
377 **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 1, p. 89-95. Disponível em:<
378 [http://www.scielo.br/scielo.php? script=sci_arttext&pid=S1983-40632016000100089](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-40632016000100089)>
379 Acesso em: 28 jan de 2019. doi:10.1590/1983-40632016v4639553.
- 380 RUBÉN, RV (2010) **Tangelo Minneola.** Amarre de frutos. Desplegable para produtores,
381 n.3, Fundacion Baja California, Mexicali. Disponível em:< [http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/](http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/1600/Tangelo%20Minneola.%20Amarre%20de%20frutos.pdf?sequence=1)
382 [bitstream/handle/123456789/1600/Tangelo%20Minneola.%20Amarre%20de%20frutos.pdf?sequence=1](http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/1600/Tangelo%20Minneola.%20Amarre%20de%20frutos.pdf?sequence=1) > Acesso: 21 jan 2018.
- 385 SANTOS, LO (2011) **Armazenamento refrigerado, atmosfera controlada e**
386 **desverdecimento de tangerinas.** 143 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade
387 Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP.

- 388 SILVA, SEL et al. (2007) **Comportamento de citros no Amazonas**. Embrapa Amazônia
389 Ocidental, Manaus, 31p. (Embrapa Documentos 55). Disponível em:[https://ainfo.](https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/46502/1/Doc-55.pdf)
390 [cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/46502/1/Doc-55.pdf](https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/46502/1/Doc-55.pdf) Acesso: 01 fev de 2019.
- 391 SILVA, APG et al. (2014) Índices de identidade e qualidade de tangerina ‘Ponkan’
392 produzida no estado da Paraíba. **Agropecuária Técnica**, v.35, n.1, p.143-149. doi:
393 10.25066/agrotecv35i1.20404.
- 394 SINGH, G et al. (2016) Genetic divergence of indigenous and exotic mandarin (*Citrus*
395 *reticulata* Blanco) accessions based on fruit morphological and physiological traits.
396 **Research on Crops**, v.17, n.3, p. 538-544. doi:10.5958/2348-7542.2016.00090.5.
- 397 STEGER, E (1990) Trinta anos de desenvolvimento em processamento de citros:
398 histórico, estado de arte e visão geral. **Laranja**, v.11, n.2, p.463-502.
- 399 STENZEL, NMC et al. (2005) Desenvolvimento vegetativo, produção e qualidade dos
400 frutos da laranjeira “Folha Murcha” sobre seis porta-enxertos no Norte do Paraná.
401 **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1281-1286. Disponível em:< [http://www.scielo.br/](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782005000600009&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)
402 [scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782005000600009&lng=en&nrm=iso&tlng](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782005000600009&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)
403 [=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782005000600009&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)> Acesso em: 01 jan de 2019. doi: 10.1590/S0103-84782005000600009
- 404 STUCHI, ES et al. (2008) Vigor, produtividade e qualidade de frutos de quatro
405 tangerineiras e híbridos sobre quatro porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**,
406 v. 30, n. 3, p. 741-747. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452008000300030>.
- 407 TEIXEIRA, PDL et al. (2017) Caracterização morfológica e físico-químico dos frutos
408 das tangerineiras ‘Okitsu’, ‘Marisol’ e do tangoreiro ‘Ortanique’. **Investigación Agraria**,
409 v.19, n.1, p. 1-8, 2017. Disponível em: [http://www.agr.una.py/revista/index.php/](http://www.agr.una.py/revista/index.php/ria/article/view/348)
410 [ria/article/view/348](http://www.agr.una.py/revista/index.php/ria/article/view/348). Acesso em 01 fev de 2019. [http://dx.doi.org/ 10.18004](http://dx.doi.org/10.18004).
- 411 TURRA, C et al. (2014a) Overview of the Brazilian citriculture certification. **Journal of**
412 **Agricultural and Environmental Ethics**, v.27, n.4, p.663-679. doi:10.1007/s10806-
413 013-9484-5.
- 414 TURRA, C et al. (2014b) Chemical composition of agricultural supplies used in Brazilian
415 organic fruticulture. **Biological Agriculture e Horticulture**, v.30, n.1, p.1-7.
416 doi:10.1080/01448765.2013.838908.
- 417 TURRA, C e SANTOS, PS (2016) Characteristics of organic citriculture in Brazil.
418 **European Journal of Sustainable Development**, v.5, n.3, p.113-118. doi:
419 10.14207/ejsd2016.v5n3p113.

420 **Tabela 1.** Características morfoagronômicas de 12 variedades da coleção de *Citrus* do
 421 IPA - Brejão/PE

Nº	Variedades	Características*
1	Lee	Planta de porte alto, copa globosa, frutos de tamanho médio, forma intermediária entre oblata e globosa, casca lisa e aderente, coloração externa e polpa laranja-avermelhado, com média de 18 sementes por fruto. Maturação precoce.
2	Nova	As plantas apresentam porte de médio alto, são vigorosas, bem desenvolvidas e frondosas, frutos são de tamanho médio e de forma achatada com coloração laranja-avermelhado muito atrativa casca lisa, porém aderente, o que dificulta o descascamento, mas facilita o transporte a longas distâncias. Maturação precoce a meia-estação.
3	Robinson	Planta de porte alto, copa globosa, fruto de tamanho médio, casca lisa e aderente, com média de 17 sementes, coloração externa e polpa laranja-avermelhado. Maturação precoce.
4	Minneola	Planta com porte médio a alto, fruto com coloração laranja, fácil de descascar, gosto apurado e com poucas ou nenhuma sementes. Maturação precoce.
5	Ponkan	Plantas de porte médio, com crescimento ereto, produtivas, frutos grandes, com casca solta e sabor bastante doce, o que os torna muito apreciados para consumo <i>in natura</i> e maturação meia-estação.
6	Mexerica	Planta de porte médio, copa arredondada a aberta, possuem frutos pequenos a médios, pouco achatados, e uma variedade que apresenta muitas sementes, a fruta apresenta polpa de coloração laranja clara, sucosa, com sabor típico, adocicado, mas forte e bastante aromática.
7	Dancy	Planta de porte alto, copa com crescimento ereto, fruto de tamanho médio, forma achatada e sabor doce, com média de 16 sementes. Possui casca lisa, fácil de descascar, de cor alaranjado-intenso, uniforme, polpa fortemente alaranjada. Maturação meia-estação a tardia.
8	Murcott	Planta de porte médio, copa ereta, possui fruto achatado, amarelo, com casca aderente e fina com peso médio de 226 g, com sementes, com alta aderência da casca resultando em uma maior dificuldade no descascamento. Maturação tardia.
9	Piemonte	Planta de pequeno a médio porte, copa arredondada, frutos de tamanho médio, de forma achatada, com cerca de 20 sementes, casca lisa e aderente, coloração laranja avermelhada. Maturação tardia.
10	Kinnow	Planta com crescimento vigoroso, de porte alto, apresenta frutos grandes, coloração laranja, com peso aproximado de 200 g, casca lisa e brilhante, cor laranja amarelo e aproximadamente 24 sementes por frutos. Maturação precoce.
11	Swatow	Planta de porte baixo e copa frondosa. A produção de frutos é intensa, porém seus frutos apresentam gomos secos, mesmo antes de completar a maturação.
12	Fortune Iniasel	Planta de porte médio a grande apresenta frutas de tamanho médio, com um peso aproximado de 100 g, possui casca lisa com adesão ao fruto de leve a moderada.

422 *Características descritas por Donadio et al. (1998), IAC (2003), Ishfaq et al. (2004), Medina et al. (2005),
 423 Silva et al. (2007), Altaf et al. (2008), Rubén (2010), Almeida e Passos (2011), e Bastos et al. (2014).

424 **Tabela 2.** Copa e porta-enxerto de tangerineiras da coleção de citros do Instituto
425 Agrônomico de Pernambuco, Brejão- PE

Tangerineiras	Porta-enxerto
Lee	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra -264
Nova	Limão Volkameriano - 264 - 256
Robinson	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra -264
Minneola	Limão Volkameriano x Sunki Tropical - 264
Ponkan	Limão Volkameriano - 264
Mexerica	Tangerina Cleópatra - 264 - 256
Dancy	(Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra) x Tangerina Sunki Tropical - 264
Murcott	Limão Volkameriano x Tangerina Cleópatra - 264
Piemonte	Tangerina Cleópatra x Tangerina Sunki Tropical - 264
Kinnow	Limão Volkameriano x Citrumelo Swingle - 264
Swatow	Tangerina Cleópatra x Citrumelo Swingle - 264
Fortune Iniasel	Tangerina Cleópatra - 264

426

427 **Tabela 3.** Características morfoagronômica de variedades de tangerina da coleção de
 428 Citrus em Brejão-PE

Variedades	AP (m)	DC (m)	VC (m ³)	DAc (cm)	DAb (cm)	IC
Lee	3,59 c*	3,71 a	26,55 b	15,06 a	18,46 a	1,23 a
Nova	2,78 c	3,47 a	18,03 b	12,36 a	15,49 a	1,28 a
Robinson	3,10 c	3,56 a	21,03 b	15,54 a	15,59 a	1,23 a
Minneola	3,97 b	3,80 a	30,12 b	15,16 a	17,66 a	1,15 a
Ponkan	4,46 b	4,51 a	48,78 a	12,74 a	15,75 a	1,25 a
Mexerica	2,86 c	4,04 a	24,63 b	9,49 a	12,94 b	1,37 a
Dancy	3,71 c	3,76 a	27,94 b	13,74 a	14,53 b	1,06 a
Murcott	3,21 c	3,36 a	19,01 b	11,35 a	12,57 b	1,10 a
Piemonte	2,90 c	3,81 a	22,59 b	11,03 a	13,74 b	1,24 a
Kinnow	4,19 c	3,94 a	34,48 b	12,83 a	16,28 a	1,28 a
Swatow	5,08 a	4,42 a	51,91 a	14,58 a	18,46 a	1,30 a
Fortune Iniasel	2,96 c	4,26 a	31,53 b	12,41 a	17,13 a	1,38 a
CV%	12,06	11,77	29,71	19,41	10,40	15,20

429 AP-altura da planta, DC-diâmetro da copa, VC-volume da copa Dac-diâmetro acima da linha de enxertia,
 430 DAb- diâmetro abaixo da linha de enxertia, IC-índice de compatibilidade entre enxerto e porta-enxerto.
 431 *Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de comparação de médias de
 432 Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

433 **Tabela 4.** Características dos frutos de variedades de tangerina da coleção de Citrus em
 434 Brejão- PE

Variedades	MF (g)	MS (g)	RS (%)	NS	DTF (mm)	DLF (mm)	EP+M (mm)	EEN (mm)
Lee	162,08 b*	127,81 b	78,29 a	14,66 b	63,17 a	67,76 b	2,87 b	62,81 b
Nova	270,00 a	201,74 a	74,65 b	10,02 c	66,61 a	85,81 a	3,45 a	75,60 a
Robinson	155,00 b	121,29 b	78,31 a	8,00 c	51,21 b	74,06 b	2,34 b	69,65 b
Minneola	317,50 a	219,11 a	68,87 c	17,50 b	73,17 a	92,01 a	4,79 a	80,74 a
Ponkan	248,33 a	166,02 a	67,22 c	19,33 b	63,46 a	89,55 a	4,17 a	83,25 a
Mexerica	126,66 b	102,18 b	81,23 a	10,33 c	58,02 a	63,96 b	2,27 b	60,71 b
Dancy	120,00 b	87,31 b	73,91 b	16,58 b	47,47 b	69,53 b	2,56 b	62,20 b
Murcott	129,58 b	106,06 b	81,82 a	22,00 b	49,05 b	66,35 b	1,92 b	62,24 b
Piemonte	230,83 a	178,54 a	77,25 a	28,83 a	60,77 a	80,90 a	2,86 b	74,94 a
Kinnow	143,33 b	89,56 b	61,64 c	36,50 a	53,41 b	70,81 b	4,50 a	62,59 b
Swatow	222,08 a	144,70 b	65,26 c	12,83 c	60,69 a	88,06 a	3,83 a	80,56 a
Fortune Iniasel	183,75 b	133,32 b	72,53 b	17,16 b	57,87 a	77,10 b	3,16 b	71,32 a
C V (%)	20,63	21,84	3,96	27,83	9,88	8,10	17,46	8,14

435 MF-massa do fruto, MS-massa do suco, RS-rendimento de suco, NS-número de sementes, DTF-diâmetro
 436 transversal do fruto DLF-diâmetro longitudinal do fruto, EP+EM-espessura do epicarpo mais mesocarpo,
 437 EEN-espessura do endocarpo. *Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste
 438 de comparação de médias de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

439 **Tabela 5.** Características físico-químicas de variedades de tangerinas da coleção de
 440 Citrus em Brejão-PE

Variedades	SS (°Brix)	pH	AT (%)	SS/AT	VIT. C (mg/100g)
Lee	9,20 b*	4,01 a	0,60 c	17,00 a	18,28 c
Nova	10,53 b	3,94 a	0,69 c	16,71 a	39,34 a
Robinson	11,26 a	3,65 b	0,78 c	14,79 a	37,11 a
Minneola	10,06 b	3,82 a	0,79 c	13,49 a	21,78 b
Ponkan	11,46 a	3,70 b	0,74 c	15,56 a	24,69 b
Mexerica	9,40 b	3,50 b	0,96 c	9,93 b	13,04 c
Dancy	11,20 a	3,00 c	1,18 c	9,63 b	38,31 a
Murcott	10,26 b	3,37 b	1,13 c	9,03 b	19,51 c
Piemonte	11,00 a	3,48 b	0,98 c	11,22 b	34,30 a
Kinnow	11,66 a	2,99 c	1,99 a	6,14 b	29,91 b
Swatow	12,60 a	3,62 b	0,85 c	16,14 a	29,01 b
Fortune Iniasel	12,06 a	2,94 c	1,47 b	8,59 b	27,11 b
C V (%)	6,54	5,58	27,48	24,17	7,71

441 SS-sólidos solúveis, pH-potencial hidrogeniônico AT-acidez titulável, SS/AT-razão sólidos solúveis/acidez
 442 titulável e teor de vitamina C. *Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste
 443 de comparação de médias de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

**Genômica Comparativa e Filogenia de Plastomas de
Espécies da Família Rutaceae**

CAPÍTULO IV

**Artigo a ser enviado para a revista PeerJ
Fator de Impacto (ISI) - 2.2 – Qualis A1 – Agrárias**

1 **Genômica Comparativa e Filogenia de Plastomas de Espécies da Família Rutaceae**

2 Allan Deyws Francisco da Silva^{1,2}, Horace Jose Jimenez^{1,2}, Luiza Suely Semen Martins^{1,3},

3 Rômulo Maciel de Moraes Filho^{1,2}, Rosimar dos Santos Musser^{1, 2}.

4
5 ¹Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas, Universidade Federal
6 Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil;

7 ²Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife,
8 Pernambuco, Brazil;

9 ³Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco,
10 Brazil. Autor para correspondência e-mail: romulommfilho@yahoo.com.br.

11
12 Corresponding Author: Rômulo Moraes Filho

13 Rua Manoel de Medeiros, Recife, Pernambuco, 52171-900, Brazil Email address:
14 romulommfilho@yahoo.com.br

15 16 **RESUMO**

17 **Objetivo:** Conhecida principalmente pelas espécies cultivadas do gênero *Citrus*, a família
18 Rutaceae possui aproximadamente 1730 espécies distribuídas em 158 gêneros. A genômica
19 comparativa de genomas plastidiais fornece informações para compreender as relações entre as
20 espécies de um grupo através de análises filogenéticas com uso diversos, dentre os quais, de
21 aplicabilidade para o melhoramento genético vegetal.

22 **Métodos:** Genomas plastidiais completos de 18 espécies de Rutaceae foram recuperados de
23 bancos de dados e utilizados para uma análise comparativa do grupo.

24 **Resultados** Os plastomas das 18 espécies exibiram alta similaridade tanto em sequências
25 quanto na organização de suas regiões gênicas, não sendo observado nenhum grande rearranjo.
26 Foi observada a presença de microssatélites em quatro genes (*rpoC2*, *ndhD*, *ndhF* e *psbC*). Não
27 foi observado polimorfismo de tamanho nestes microssatélites, sendo observadas substituições
28 em dois dos microssatélites observados. As árvores filogenéticas obtidas por meio do
29 alinhamento dos plastomas completos, e do gene plastidial *matK*, revelaram consistência com
30 a proposta de classificação para a família, observada na literatura.

31 **Conclusão** Com base nos resultados das análises filogenéticas, recomenda-se a inclusão da
32 espécie *M. caloxylon* na tribo Citreae, resolvendo desta forma o parafiletismo de Clauseneae.

33 Adicionalmente recomenda-se a inclusão das espécies *Orixa japonica*, *Ptelea trifoliata* e
34 *Bauforodendron riedelianum*, que eram previamente classificadas como membros da
35 subfamília Toddalioideae, dentro de Amyridoideae.

36 **Assunto Geral:** Genômica, *Citrus*, melhoramento genético, biotecnologia

37 **Palavras Chave:** Filogenia, Aurantioideae, Amyridoideae, Citreae, Clauseneae.

38 39 **ABSTRACT**

40 **Background:** Known mainly by cultivated species of the genus *Citrus*, the Rutaceae family has
41 approximately 1730 species distributed in 158 genera. A comparative genome of plastid
42 genomes provides information to understand how the species of a group through phylogenetic
43 analyzes can be found, among which, of applicability to plant genetic improvement

44 **Methods:** Complete plastid genomes from 18 species of Rutaceae were retrieved from
45 databases and used for a comparative analysis of the group.

46 **Results:** The plastomas of the 18 species exhibited high similarity both in sequences and in the
47 organization of their gene regions, and no large rearrangement was observed. The presence of

48 microsatellites in four genes (*rpoC2*, *ndhD*, *ndhF* and *psbC*) was observed. No size
49 polymorphism was observed in these microsatellites, with substitutions observed in two of the
50 observed microsatellites. Phylogenetic trees obtained through alignment of complete plastomas
51 and plastidial *matK* gene revealed consistency with the family classification proposal, observed
52 in the literature.

53 **Conclusion:** Based on the results of the phylogenetic analyzes, it is recommended the inclusion
54 of the *M. caloxylon* species in the *Citreae* tribe, thus solving *Clauséaeae* para-ilery. In addition,
55 it is recommended to include the species *Orixa japonica*, *Ptelea trifoliata* and *Bauforodendron*
56 *riedelianum*, which were previously classified as members of the subfamily *Toddalioideae*,
57 within *Amyridoideae*.

58 **Subjects:** Genomic, *Citrus*, genetic improvement, biotechnology

59 **Keywords:** Phylogeny, *Aurantioideae*, *Amyridoideae*, *Citreae*, *Clauseneae*.

60

61 INTRODUÇÃO

62 A família *Rutaceae* é constituída por cerca de 160 gêneros e, aproximadamente, 1900
63 espécies (Pirani et al. 2017a), em sua maioria árvores e arbustos (Aziz et al. 2010). *Citrus* se
64 constitui como o mais conhecido gênero da família, devido a seus frutos comercialmente
65 importantes e amplamente consumidos. É caracterizada como uma grande família com
66 distribuição mundial e ampla diversidade de caracteres morfológicos. Esse gênero encontra-se
67 distribuído em regiões tropicais e subtropicais do sudeste asiático, com extensões que vão do
68 centro da China, África Tropical ao Leste da Índia (Donadio et al. 2005, Groppo et al. 2008).

69 No estudo da evolução das plantas, uma ferramenta muito útil e amplamente utilizada é
70 o DNA de cloroplasto (cpDNA). Genomas de cloroplasto geralmente variam de 108 e 218 kb
71 e se caracterizam por apresentar um alto grau de conservação em tamanho, estrutura, ordem
72 linear dos genes e conteúdo genético (Provan et al. 2001, Chumley et al. 2006, Shaw et al.
73 2007). As principais características que tornam ideal a utilização do DNA plastidial, em análises
74 filogenéticas e evolutivas, são a sua natureza não recombinante, herança uniparental e
75 abundância na célula, enquanto os genomas nucleares têm herança biparental e variações em
76 ploidia que podem causar dificuldades para estas análises (Provan et al. 2001, Nishikawa et al.
77 2002, Provan 2008). O plastoma, no geral, é constituído por duas repetições invertidas idênticas
78 (IV, 20-76 kb) que separam uma grande cópia única (LSC, 60-90 kb) e uma pequena região de
79 cópia única (SSC, 7-27 kb) (Chumley et al. 2006).

80 Sequências completas de plastomas podem fornecer informações relacionadas a história
81 evolutiva e servir de base para o desenvolvimento de marcadores genéticos moleculares que
82 além de favorecer estudos ecológicos, são uteis na identificação das espécies (Hand et al. 2013).
83 Essas sequências vêm sendo usada no estudo de genômica comparativa (Hand et al. 2013, Talat
84 et al. 2015, Erguiluz et al. 2017), estudos filogenéticos (Bayer et al. 2009, Penjor et al. 2013,

85 Mittapelli et al. 2014, Yang et al. 2015) e na busca por marcadores microssatélites (Varshney
86 et al. 2002, Cheng et al. 2005, Tambarussi et al. 2009).

87 A filogenia e taxonomia que envolve os gêneros da família Rutaceae ainda são
88 controversas devido, principalmente, a fatores como: longa história de cultivo, poliembrionia
89 na maioria das espécies, altas taxas de mutação e a ampla compatibilidade sexual entre o gênero
90 *Citrus* e gêneros relacionados (Handa et al. 1986, Nicolosi et al. 2000, Pang et al. 2003).
91 Marcadores moleculares vem sendo explorados em estudos taxonômicos de espécies de *Citrus*,
92 devido principalmente aos sistemas de classificação tradicionais que são baseados em
93 caracteres morfológicos e que são incapazes de resolver a história evolutiva da família (Chase
94 et al. 1999, Poon et al. 2007, Groppo et al. 2008, Monton e Telmer 2014, Swingle 1943, Tanaka
95 1977). Apesar de amplamente usados, marcadores baseados em características dos frutos não
96 são adequados para estabelecer grupos em Rutaceae (Groppo et al. 2008). Os estudos com
97 marcadores moleculares têm mostrado grandes avanços na compreensão do status de
98 classificação de numerosas espécies de *Citrus* (Handa et al. 1986, Nicolosi et al. 2000, Pang et
99 al. 2003).

100 A família Rutaceae é dividida em sete subfamílias (Engler 1931), baseada principalmente
101 em características morfológicas como características dos frutos, grau de conotação e número
102 de carpelos (Groppo et al. 2008). Essa divisão proposta por Engler (1931) tem sido revista por
103 diversos estudos envolvendo principalmente dados moleculares, revelando que várias
104 subfamílias não são monofiléticas. Desde então novas classificações foram sugeridas para a
105 subfamília de Rutaceae (Chase et al. 1999, Scott et al. 2000, Groppo et al. 2008, Salvo et al.
106 2008).

107 A filogenia baseada em marcadores plastidiais têm revelado informações importantes
108 para a compreensão da família Rutaceae. Penjor et al. (2013) conseguiram informações uteis a
109 partir de um estudo filogenético utilizando o gene matK em espécies de *Citrus*. A análise do
110 gene matk pode ser útil para estudar a filogenia dos gêneros incluídos em Aurantioideae, devido
111 a taxa de mutação mais rápida em comparação com outros marcadores utilizados para
112 reconstruções filogenéticas, como o gene rbcL (Olmstead et al. 1994, Hilu et al. 1997, Penjor
113 et al. 2013).

114 Metodologias *in silico* para análises filogenéticas têm sido usadas com sucesso para
115 diversos grupos botânicos e tem refletido precisamente a filogenia e história evolutiva das
116 espécies estudadas (Ouzounis 2002, Groppo et al. 2008, Hand et al. 2013, Morton e Telmer
117 2014, Erguiluz et al. 2017).

118 Uma excelente ferramenta para a avaliação da distância genética entre populações, para
119 a identificação de cultivares, está baseada em marcadores microssatélites (Priolli et al. 2002).
120 A importância desses marcadores microssatélites está em sua contribuição no acesso à
121 informações genéticas, permitindo a construção de mapas genéticos e para a compreensão de
122 padrões de fluxo gênico e parentescos e, por último, o estabelecimento da seleção assistida por
123 marcadores (SAM), superando as limitações da seleção fenotípica (Zucchi 2002, Oliveira et al.
124 2008).

125 A grande desvantagem na utilização de marcadores microssatélites consiste no processo
126 trabalhoso e de alto custo, no entanto sequenciamento de DNA das diferentes espécies aliados
127 a plataforma bioinformática vem facilitando o processo, pois permitiu que o desenvolvimento
128 de primers de sequências simples repetidas (SSRs), ocorra sem que as etapas que tornavam o
129 processo trabalhoso e de alto custo, necessite ser realizado, tornando o processo com um custo
130 menor e menos trabalhoso do que o da estratégia tradicional (Caixeta et al. 2013).

131 Diante do exposto, sequências de DNA plastidial de 18 espécies pertencentes à família
132 Rutaceae, disponíveis em bancos de dados públicos, foram analisadas com base em ferramentas
133 *in silico* com os seguintes objetivos: 1) realizar uma análise comparativa entre os genomas
134 plastidiais de espécies de Rutaceae, com base no levantamento de sequências completas de
135 genoma plastidial no banco de dados do GenBank; 2) observar a ocorrência de SSRs em
136 genomas plastidiais; 3) realizar uma reconstrução filogenética de espécies da família Rutaceae,
137 com base em sequências de genoma plastidial para compreender as relações entre as espécies
138 do grupo; 4) realizar análise filogenética com base na ordem Sapindales a fim de compreender
139 as relações entre as espécies dessa ordem; 5) realizar análise filogenética com base em um gene
140 plastidial (*matK*) para espécies da família Rutaceae e compreender suas relações a nível de
141 subfamília.

142

143 MATERIAL E MÉTODOS

144 Recuperação e caracterização de sequências de genomas de cloroplasto de espécies da 145 família Rutaceae

146 As sequências de genoma de cloroplasto foram recuperadas do banco de dados da NCBI
147 (National Center for Biotechnology Information) em formato FASTA, totalizando dezoito
148 espécies pertencentes à família Rutaceae e duas espécies *Spondias bahiensis* e *Mangifera indica*
149 (números de acesso do GenBank NC_0305261 e NC_0352391) que pertencem a família
150 Anacardiaceae incluídos como grupo externo.

151 **Anotação do genoma e identificação de regiões microssatélites**

152 Para localização das regiões de microssatélites foram utilizadas as sequências de
153 genomas de cloroplasto das espécies de Rutaceae obtidas pelo GenBank. Os microssatélites
154 foram identificados e localizados usando o servidor Gramene SSRtool (Temnykh et al. 2001),
155 que identifica repetições de di-, tri-, tetra e pentanucleotídeos. Para o estudo foram consideradas
156 apenas dímeros com no mínimo cinco repetições e tri-, tetra e pentanucleotídeos com no mínimo
157 quatro repetições. As repetições em regiões gênicas e intergênicas foram identificadas com base
158 nas informações de anotação de sequências disponíveis no servidor DOGMA (Dual Organellar
159 Genome Annotation) (Wyman et al. 2004). As sequências dos genes, onde foram localizados
160 os microssatélites foram analisadas através do servidor ORFfinder (Open Reading Frame
161 Finder), para verificar as regiões codificantes (ORFs) e a presença de microssatélites nessas
162 regiões. O alinhamento dos genes contendo os microssatélites foi realizado, utilizando o
163 *software* usando o algoritmo de alinhamento múltiplo CLUSTAL W (Thompson et al. 1994).

164 **Alinhamento e Reconstrução filogenética**

165 Os plastomas foram alinhados usando o algoritmo mLAGAN baseado no servidor
166 mVISTA (Brudno et al., 2003). Os parâmetros padrões foram aplicados, e a estrutura de
167 anotação do genoma do cloroplasto de *C. aurantiifolia* foi utilizada como referência. A
168 porcentagem de identidade entre cada plastoma, todas relativas à *C. aurantiifolia*, foram
169 posteriormente visualizadas através de um gráfico VISTA (Frazer et al. 2004). A filogenia
170 baseada em plastoma foi reconstruída para as dezoito espécies de Rutaceae, usando o
171 alinhamento de plastoma total gerado por mLAGAN. Plastomas da espécie *S. bahiensis* e *M.*
172 *indica* (Anacardiaceae) também foram incluídos como grupo externo. Por meio do software
173 MEGA 7.0 foi calculado o número de sítios variáveis, de acordo com a espécie *C. aurantiifolia*
174 utilizada como referência.

175 O alinhamento foi importado para software MEGA7, versão 7.0 (Kulmar et al. 2016),
176 para a análise filogenética pelo método de Maxima Parsimônia (MPsearch level 3). O suporte
177 estatístico foi obtido por meio de *bootstrapping*, usando 1000 replicatas (Felsenstein 1985). Os
178 bootstrap de 90-100 foram considerados fortemente suportados, 80-89 moderadamente
179 suportados e 50-79 fracamente suportados. Uma análise filogenética distinta foi estimada pela
180 máxima parcimônia com as 20 espécies.

181 A verificação da escala evolutiva do tempo entre as espécies da família Rutaceae foi
182 realizada utilizando o método Realtime (Tamura et al. 2012) e o modelo de Tamura-Nei
183 (Tamura et al. 1993).

184 A árvore foi avaliada utilizando três pontos de calibração obtidos pelas escalas
185 disponíveis no site Timetree (<http://www.timetree.org/>).

186 A análise filogenética da ordem Sapindales com base em genoma plastidiais completos
187 incluiu além das espécies da família Rutaceae, dez sequências de espécies pertencentes às
188 famílias: Simaroubaceae, Meliaceae, Burseraceae, Anacardiaceae e Sapindaceae e como grupo
189 externo foram incluídas três espécies das famílias Vitaceae, Myrtaceae e Lythraceae. A árvore
190 foi gerada pelo software MEGA7, usando o método de máxima parcimônia, e o suporte de
191 bootstrap foi calculado usando 1000 replicatas.

192 Para a filogenia da família Rutaceae, com base na sequência do gene plastidial MatK,
193 além das dezoito sequências obtidas dos genomas completos, foram utilizadas mais cinquenta
194 sequências, todas pertencentes as famílias Aurantioideae, Rutoideae e Amyridoideae e duas
195 como grupo externo. As sequências foram alinhadas com o uso do algoritmo ClustalW e uma
196 árvore filogenética foi gerada utilizando o software MEGA7, usando o método de máxima
197 parcimônia e o suporte estatístico foi calculado usando 1000 replicatas.

198

199 **RESULTADOS**

200 Dezoito espécies pertencentes à família Rutaceae com suas respectivas características
201 recuperadas do banco de dados da NCBI, estão apresentadas na Tabela 1. Quanto ao conteúdo
202 de GC observou-se uma variação de 38,3% a 38,5%, para os genes que codificam proteínas
203 com valores que variaram de 85 a 93, e espaço gênico variou de 88672 pb a 90217 pb. O número
204 de pares de bases variou de 158.154 pb (*Zanthoxylum piperitum*) a 160.416 pb (*Micromelum*
205 *minutum*).

206 Os plastomas das 18 espécies foram analisados quanto à presença de regiões de
207 microsatélites. Observou-se a presença de 282 regiões de SSRs das quais 37 estavam presentes
208 dentro de genes. Na análise do tamanho da unidade, o tipo com maior número de repetição para
209 todos os plastomas na região gênica foram os dinucleotídeos, com um total de 27 SSRs, com
210 frequências que variam de 17% a 100%, e para a região intergênica o maior número foi de
211 trinucleotídeos, com um total de 178 SSRs com frequência variando de 86% a 100%. As
212 repetições tetras e pentanucleotídeos só apresentaram microsatélites na região intergênica.
213 Portanto, na família Rutaceae o número de SSRs nas regiões intergênicas é maior do que o
214 SSRs nas regiões gênicas (Tabela 2).

215 **Alinhamento das sequências**

216 Das sequências de microsatélites localizadas nos genomas das espécies selecionadas
217 (Tabela 2) foi possível observar a presença de quatro microsatélites gênicos (rpoC2, ndhD,

218 ndhF e psbC) (Tabela 3; Figura 1). Os SSRs foram classificados quanto ao tipo, como perfeito
219 (P) as sequências com motivos ininterruptos e imperfeitos (I) as sequências com motivos
220 interrompidos. Não foram observados polimorfismos de tamanho dentre os microssatélites
221 analisados, apenas polimorfismos de sequências, como transições e transversões. Os
222 microssatélites gênicos presentes nos genes rpoC2 e ndhD foram classificados como perfeitos
223 para todas as espécies estudadas. O microssatélite presente no gene ndhF se apresentou de
224 forma perfeita apenas para a espécie *M. koenigii*, apresentando uma transversão de uma
225 Adenina (A) por uma citosina (C) nas espécies *C. aurantiifolia*, *C. depressa*, *C. limon*, *C.*
226 *platymamma*, *C. excavata*, *C. sinensis*, *C. reticulata*, *C. maxima* e *M. minutum*, uma transição
227 de uma adenina (A) por uma guanina (G) nas espécies *G. mauritiana*, *G. pentaphylla*. Nas
228 espécies *M. caloxylon*, *P. amurense*, *Z. bungeanum*, *Z. Piperitum*, *Z. schinifolium*, *Z. simulans*
229 foi observado dois pontos de mutação, o primeiro consta de uma transição de uma timina (T)
230 para uma citosina (C) e uma transversão de uma adenina (A) por uma citosina (C). O psbC foi
231 classificado como perfeito em oito espécies da família Rutaceae, nas espécies *C. excavata*, *G.*
232 *mauritiana*, *G. pentaphylla*, *M. minutum* ocorreu uma transição de uma timina (T) por uma
233 citosina (C), na *M. caloxylon* foi observado uma transversão de uma citosina (C) por uma
234 adenina (A) e dois pontos de mutação foi observado nas espécies *P. amurense*, *Z. bungeanum*,
235 *Z. piperitum*, *Z. schinifolium*, *Z. simulans*, o primeiro envolve uma transição de uma timina (T)
236 por uma citosina (C) e o segundo envolve uma transversão de uma citosina (C) em uma adenina
237 (A) (Figura 1). Os microssatélites presentes nos genes rpoC2 e psbC foram localizados dentro
238 da região da ORF, e os genes ndhD e ndhf foram localizados na região fora da ORF.

239 **Comparação genômica das sequências do plastoma de espécies da família Rutaceae**

240 De acordo com gráfico mVISTA (Figura 2), a comparação do genoma plastidial das
241 espécies revelou um alto nível de conservação. O número de sítios variáveis, em relação a *C.*
242 *arauntifolia* variou de 316 a 5593. Como mostrado na Figura 2, as regiões em azul são as áreas
243 codificantes e as regiões rosa indicam as áreas não codificantes conservadas de acordo com a
244 anotação da espécie *C. aurantiifolia*, obtida através do servidor DOGMA. Os maiores pontos
245 de divergência ocorrem entre os genes rpoC2e ycf2. As espécies *S. bahiensis* e *M. indica* foram
246 utilizadas como grupo externo apresentando grande divergência em comparação com as outras
247 espécies estudadas. A semelhança da organização dos plastomas das dezoito espécies da família
248 Rutaceae é aparente a partir do gráfico mVISTA.

249 **Análises filogenéticas**

250 A filogenia das espécies da família Rutaceae revelou uma árvore monofilética e bem
251 suportada com prevalência de um suporte robusto de bootstrap de 100%. Houve a formação de

252 três clados, onde o clado maior (BS=100%) comportou as seguintes espécies *C. aurantiifolia*,
253 *C. depressa*, *C. limon*, *C. platymamma*, *C. sinensis*, *C. reticulata*, *C. maxima*, *M. caloxylon*. O
254 segundo clado (BS= 100%) englobou as espécies *C. excavata*, *M. koenigii*, *M. minutum*, *G.*
255 *mauritiana*, *G. pentaphylla* todas pertencentes à subfamília Clauseneae. Um terceiro clado
256 observado constou das espécies *P. amurense*, *Z. bungeanum*, *Z. piperitum*, *Z. schinifolium*, *Z.*
257 *simulans*. As espécies do grupo externo *S. bahiensis* e *M. indica*, formaram um clado separado
258 e com suporte bootstrap de 100% (Figura 3).

259 Através do método Realltime (Tamura et al., 2012) e pelo modelo de Tamura-Nei (Tamura
260 et al., 1993), foi obtido o tempo de divergência entre as espécies analisadas, com base em três
261 pontos de calibração obtidos pelo site Time tree. Os tempos relativos são mostrados acima dos
262 pontos de ramificação. O primeiro clado englobou sete espécies pertencentes à tribo Citreae, da
263 subfamília Aurantioideae e uma espécie da tribo Clauseneae, revelando um tempo de
264 divergência compreendido entre 28,32 a 0,73 milhões de anos. Cinco espécies da tribo
265 Clauseneae formaram o segundo clado com um tempo de divergência de 7,67 a 29,92 milhões
266 de anos. A espécie *P. amurense*, pertencente à subfamília Amyridoidae, foi agrupada junto a
267 quatro espécies do gênero *Zanthoxylum*, tendo um tempo de divergência estimado de 56,00
268 destas espécies. O clado que inclui as espécies de *Zanthoxylum* e *P. amurense* (Subfamília
269 Amyridoidae), por sua vez, tem um tempo estimado de divergência das demais espécies,
270 estimado em 74,00 milhões de anos (Figura 3).

271 A filogenia da ordem Sapindales revelou uma árvore monofilética, com clado forte (BS=
272 100%) incluindo representantes das famílias Rutaceae, Simaroubaceae, Meliaceae, Buseraceae,
273 Anacardiaceae e Sapindaceae. Foi possível observar que as espécies da ordem Sapindales
274 ficaram bem definidas dentro das suas respectivas famílias. Os três primeiros clados englobam
275 representantes da família Rutaceae, e incluem espécies das tribos Citreae, Clauseneae,
276 Toddalieae e Zanthoxyleae. Rutaceae aparece como clado monofilético e fortemente
277 suportado (BS = 100%), bastante próximo às espécies *Alianthus altissima* e *Leitneria floridana*
278 pertencentes à família Simaroubaceae. As espécies do grupo externo formaram dois clados um
279 englobou a espécie *Vitis vinifera* (Vitaceae), e o segundo englobou as espécies *Psidium guajava*
280 (Myrtaceae) e *Punica granatum* (Lythraceae), e resultaram em clados separados e bem
281 resolvidos (BS= 100%) (Figura 4).

282 A filogenia da família Rutaceae baseada em sequências do gene plastidial MatK, revelou
283 uma árvore filogenética robusta e monofilética, onde foi possível observar a separação das três
284 subfamílias Aurantioideae, Rutoideae e Amyridoidae. Dentro da subfamília Aurantioideae
285 houve a divisão em duas tribos Citreae e Clauseneae, distribuídos em seis clados. A espécie

286 *Cneoridium dumosum*, da subfamília Rutoideae, resultou em um clado isolado localizado entre
287 as subfamílias Aurantioideae e Amyridioideae. As espécies *Orixa japonica*, *Ptelea trifoliata* e
288 *Bauforodendron riedelianum* estão ausentes na análise de Morton & Telmer (2014), e, portanto,
289 ainda possuem sua classificação baseada em Swingle & Reece (1964) como membros da extinta
290 subfamília Toddalioideae, aparecem agrupados com espécies da subfamília Amyridioideae
291 (Figura 5).

292 **DISCUSSÃO**

294 O tamanho do genoma em pares de bases, observado para as espécies analisadas foi de
295 (158.154 – 161.172 pb) e foi semelhante ao observado em outras dicotiledôneas como em
296 *Eugenia uniflora* (158.445 pb) (Eguiluz et al., 2017) e em espécies da ordem Cornales (156.598
297 - 157.895 pb). Em contrapartida, Zhu et al. (2018), em um estudo com espécies do complexo
298 *Cupressus-Juniperus-Xanthocyparis* encontrou um valor muito inferior (126.993 - 129.150 pb)
299 ao obtido para as espécies da família Rutaceae. O número de genes que codificam proteínas
300 também foi semelhante ao observado em Cornales onde foram encontrados 79 genes (Fu et al.,
301 2017) e no complexo *Cupressus-Juniperus-Xanthocyparis* com 82 genes que codificam
302 proteínas (Zhu et al., 2018). Os genomas plastidiais mostraram valores de conteúdo GC%
303 variando de 38,4 – 38,5 semelhantes a outras espécies de dicotiledôneas, como observado no
304 trabalho de Fu et al. (2017) trabalhando com espécies de Cornales observou uma variação de
305 (39,9 – 40,4%) e no complexo *Cupressus-Juniperus-Xanthocyparis* com variação de (34,6 –
306 34,9%) (Zhu et al., 2018) e Jena et al. (2009) trabalhando com espécies de *Citrus* encontrou
307 porcentagens entre 36,4 - 39,2% (Jena et al., 2009).

308 Dentre as 282 regiões com microssatélites observadas, 188 correspondem às repetições
309 de trinucleotídeos, deste total de 10 foram identificados em regiões gênicas e 178 foram
310 observados em regiões intergênicas. Em relação aos dinucleotídeos, 27 microssatélites em
311 regiões gênicas e 46 em regiões intergênicas. As repetições tetra e pentanucleotídeos
312 apresentaram repetições apenas em regiões intergênicas, com um valor absoluto observado de
313 19 e 2 respectivamente (Tabela 2), esse resultado difere de alguns estudos envolvendo outras
314 dicotiledôneas como em espécies da família Solanaceae (Tambarussi et al., 2009), *Gossipyum*
315 (Talat et al., 2015), que obtiveram uma maior abundância na repetição do tipo
316 mononucleotídeos e na espécie *Citrus clementina* com um maior número de repetições do tipo
317 dinucleotídeo (Ollitrault et al., 2010).

318 O alinhamento dos genes contendo microssatélites resultou em regiões com alta
319 similaridade (Figura 1). A variação observada dentre os microssatélites gênicos foi

320 exclusivamente do tipo substituição, não ocorrendo polimorfismos de tamanho (Tabela 3;
321 Figura 1), o que também foi observado para espécies da família Solanaceae (Tambarussi et al.,
322 2009). Marcadores microssatélites fornecem dados bastante relevantes para o entendimento de
323 processos filogenéticos, na compreensão de aspectos evolutivos, unidade de conservação,
324 análises de identificação individual e em estudos genéticos populacionais (Heywood & Iriondo,
325 2003; Oliveira et al., 2006). No entanto, dos microssatélites gênicos observados no presente
326 estudo, apenas os presentes nos genes *ndhF* e *psbC* apresentaram polimorfismos, sendo de
327 pouco valor para análises filogenéticas, devido à sua alta conservação.

328 Genes de cloroplastos como *ycf1*, *ycf2*, *accD*, *matK*, *rpoC2* e *ndhF* são mais utilizados
329 para estudar a relação das espécies próximas e os genes *psbC*, *psbB*, *rbcL*, *ndhB*, *psbA*, *psbD*,
330 *psaB* e *pasA* são mais utilizados no estudo da relação entre plantas superiores (Kim et al., 2009).
331 No entanto, para espécies da família Rutaceae o estudo com ambas as relações podem ser
332 exploradas.

333 O genoma de *C. aurantiifolia* é semelhante em ordem genética às outras espécies da
334 família Rutaceae, resultando em regiões de alta similaridade no que diz respeito à identidade e
335 organização das sequências. Os pontos de divergências ocorreram em sua maioria em regiões
336 não codificantes (Figura 2). Trabalhos recentes envolvendo a genômica comparativa em *E.*
337 *uniflora* (Erguiluz et al., 2017) e membros do complexo *Lolium-Festuca* (Hand et al., 2013),
338 demonstram similaridades tanto na identidade como na organização das sequências, e também
339 observaram que a localização dos pontos de divergências foi em sua maioria em regiões
340 intergênicas. As diferenças relatadas entre os genomas de angiospermas são devidas a uma série
341 de fatores como: inversões, perda de genes, expansão e contração de regiões de repetição
342 invertidas (Erguiluz et al., 2017).

343 Estimativas obtidas por estudos prévios (Appelhans et al., 2010; Salvo et al. 2010),
344 disponíveis na plataforma time tree, indicam que a provável separação entre as subfamílias
345 Aurantioidae e Amyridoidae se deu há 74 milhões de anos. Com base na análise do relógio
346 molecular, utilizando pontos de calibração obtidos na plataforma timetree, observou-se que a
347 separação entre as tribos Citreae e Clausenae se deu provavelmente há 33,4 milhões de anos.
348 *C. excavata* e *M. koenigii* divergiram entre si há aproximadamente de 29,92 milhões de anos,
349 resultado que se aproxima ao sugerido por Pan (2010), que atribuiu a idade de 27,2 milhões de
350 anos às folhas fossilizadas de espécie do gênero Clausena.

351 Os resultados mostraram que a provável origem do clado com as espécies de *Zanthoxylum*
352 é de aproximadamente 56 milhões de anos e da tribo Zanthoxyleae de 28 milhões de anos. Esses
353 resultados são muito semelhantes aos obtidos por Appelhans et al. (2018), onde foi indicado

354 que o grupo do clado *Zanthoxylum* originou-se no início do Eoceno (50,5 milhões de anos;
355 48,5-53,9 milhões de anos) e a separação nos quatro clados principais ocorreu relativamente
356 pouco depois da formação deste grupo.

357 Os resultados também sugerem o gênero *Citrus* se originou provavelmente há 7,7
358 milhões de anos. Esses resultados são muito semelhantes aos obtidos por Xie et al. (2013), em
359 um estudo baseado em um fóssil da espécie *Citrus linczangensis*. Por meio da comparação de
360 caracteres arquitetônicos de folhas, os autores discutem que a espécime fóssil da época tardia
361 do Mioceno de Lincang em Yunnan, *C. linczangensis* tem características dos principais grupos
362 cítricos atuais. O uso da datação molecular forneceu evidências definitivas da origem desta
363 espécie em aproximadamente 8 milhões de anos atrás. No entanto, uma pesquisa recente sobre
364 a evolução dos *Citrus* (Schwartz et al., 2015) concorda com a datação proposta por Pfeil &
365 Crisp (2008) e sugere uma idade mínima para o *Citrus* (3,6 – 6,1 milhões de anos). *C. reticulata*
366 aparece como a espécie mais basal dentro de *Citrus*, estando provavelmente relacionada com a
367 origem e evolução do gênero. *C. reticulata*, pois possui características únicas e críticas das
368 principais espécies que deram origem à maioria dos citrinos cultivados, sendo provavelmente
369 uma das mais antigas do gênero *Citrus* (Wu et al., 2018).

370 A filogenia com base no genoma de cloroplasto para as espécies da família Rutaceae
371 revelou monofilismo com relações bem definidas entre suas espécies e totalmente separado
372 do grupo externo (BS = 99%). Foram encontrados quatro clados em Rutaceae pertencentes às
373 subfamílias Aurantioideae e Amyridoideae onde todos eles se mostraram monofiléticos com
374 relações bem consistentes (BS = 100%) (Figura 3). Morton & Telmer (2014), baseados em
375 estudo com dados moleculares em espécies de Rutaceae, propuseram a reclassificação da
376 família, resolvendo o parafilismo da subfamília Toddalioideae, classificando todo o grupo
377 como Amyridoideae. Esta nova classificação resolve a problemática observada por Chase et al.
378 (1999) e Scott et al. (2000), que mostraram continuamente que os grupos de Toddalioideae
379 não são monofiléticos.

380 O primeiro clado (BS= 100%) apresentou membros da tribo Citreae (*C. aurantiifolia*, *C.*
381 *depressa*, *C. limon*, *C. platymamma*, *C. sinensis*, *C. reticulata*, *C. maxima*), com monofilismo
382 bem definido. Este resultado está de acordo com o observado em estudos prévios com DNA
383 plastidial para o gênero (Bayer et al., 2009; Wu et al., 2018).

384 O segundo clado (BS= 100%) englobou representantes da tribo Clauseneae (*M.*
385 *caloxylon*, *C. excavata*, *M. koenigii*, *M. minutum*, *G. mauritiana* e *G. pentaphylla*), onde foi
386 observado o parafilismo devido à proximidade da espécie *M. caloxylon* da tribo Citreae. Estes
387 resultados são semelhantes aos obtidos por Groppo et al. (2008) em um estudo com filogenia

388 da família Rutaceae, que observou agrupamentos entre espécies da tribo Citreae e da tribo
389 Clauseneae (*Glycosmis*, *Merrillia*, *Micromelum*, *Murraya*). Outros resultados por meio de
390 dados filogenéticos (Chase et al., 1999; Scott et al., 2000), número de cromossomos (Stace et
391 al., 1993), alcalóides (Waterman, 1975) e outros metabólitos secundários (Waterman, 1975;
392 Grieve & Scora, 1980; Silva et al., 1988) confirmam essa semelhança. No estudo filogenético
393 com base na subfamília Aurantioideae foi observada a proximidade do gênero *Merrillia* com
394 membros da tribo Citreae, com base nos resultados o autor sugere que o gênero *Merrillia* seja
395 transferido para Citreae para a obtenção de monofiletismo nas tribos (Morton, 2009). As
396 espécies *M. minutum*, *G. mauritiana* e *G. pentaphylla* apresentaram proximidade onde o mesmo
397 foi observado no estudo com filogenia de Rutaceae (Groppo et al., 2008).

398 A subfamília Aurantioideae compreende um grupo fortemente suportado. Semelhança
399 encontrada em alguns estudos envolvendo filogenia da subfamília Aurantioideae (Bayer et al.,
400 2009; Morton, 2009; Morton & Telmer, 2014). A subfamília Aurantioideae em comparação
401 com outras espécies da família Rutaceae representa uma base muito forte com relação ao
402 monofiletismo, e é caracterizada como presença de glândulas oleosas nas folhas e frutos, flores
403 aromáticas e de coloração branca, fruto do tipo baga (caroso) e sementes sem endosperma
404 (Morton e Telmer, 2014).

405 O terceiro clado (BS=100%) apresentou membros da tribo Toddaliaea (*P. amurense*) e
406 Zanthoxyleae (*Z. schinifolium*, *Z. piperitum*, *Z. bungeamon* e *Z. simulans*). Os gêneros
407 *Phellodendron* e *Zanthoxylum* são diferenciados pela presença de alcalóides tais como 1-
408 benziltetrahydroiso quilona, que apenas é visto em representantes de Ranunculales (Fish &
409 Waterman, 1973; Waterman 1975; Waterman 1983; Waterman 2007; Appelhans et al., 2018)
410 que é um dos grupos filogeneticamente distante de Rutaceae. A presença deste alcalóide nas
411 Rutaceae é uma forte indicação de sinapomorfia para as relações próximas entre os gêneros
412 *Phellodendron* e *Zanthoxylum*, enquanto a presença dos alcalóides em Rutaceae e Ranunculales
413 deve ser considerada como uma convergência (Appelhans et al., 2018).

414 A estreita relação de *Phellodendron* e *Zanthoxylum* diverge profundamente da taxonomia
415 tradicional das Rutaceae, que ressalta os caracteres dos frutos. Enquanto *Phellodendron* têm
416 frutas drupácea e foram inferidas na subfamília Toddalioideae, *Zanthoxylum* têm frutos
417 foliculares e foram agrupados em Rutoideae (Engler, 1931). Estudos filogenéticos moleculares
418 mostraram que a classificação tradicional da subfamília não demonstra a história evolutiva
419 dentro de Rutaceae (Chase et al., 1999 ; Poon et al., 2007; Groppo et al., 2008; Morton &
420 Telmer, 2014), que as características dos frutos não são adequadas para estabelecer grandes
421 grupos da família (Groppo et al., 2008) e que a filotaxia, hábito e protuberâncias acúteis nos

422 ramos são de valor taxonômico mais interessantes. Enquanto *Phellodendron* têm folhas opostas,
423 crescem como árvores ou arbustos, e não têm protuberâncias nos galhos, *Zanthoxylum* têm
424 folhas alternadas, são árvores ou arbustos escandentosos para trepadeiras lenhosas, e são
425 caracterizados por ramos acúleos (Kubitzki et al., 2011). O número de óvulos por carpelo
426 também tem valor taxonômico. Enquanto, *Zanthoxylum* tem dois óvulos por carpelo,
427 *Phellodendron* têm um óvulo por carpelo (Kubitzki et al., 2011).

428

429 **CONCLUSÃO**

430 As árvores filogenéticas das espécies da família Rutaceae revelaram consistência com a
431 proposta de classificação para a família. Com base nos resultados das análises filogenéticas,
432 recomenda-se a inclusão da espécie *M. caloxylon* na tribo Citreae, resolvendo desta forma o
433 parafiletismo de Clauseneae. Esta recomendação é suportada tanto pela filogenia baseada no
434 alinhamento completo de plastomas, que mostrou a maior proximidade de *M. caloxylon* com
435 espécies de *Citrus*, em relação às outras espécies da tribo Clauseneae, quanto pela filogenia
436 baseada no gene matK, onde similarmente, *M. caloxylon* aparece agrupada com espécies da
437 tribo Citreae.

438 Adicionalmente, recomenda-se a reclassificação dentro de Amyridoideae, das espécies
439 *Orixa japonica*, *Ptelea trifoliata* e *Bauforodendron riedelianum*, que eram previamente
440 classificadas como membros da subfamília Toddaloideae, seguindo a reclassificação de
441 Morton e Telmer (2014).

442

443 **AGRADECIMENTOS**

444 O presente trabalho foi realizado com apoio de Rômulo Maciel de Moraes Filho, Horace J.
445 Jimenez, juntamente com as professoras Dr(a) Rosimar dos Santos Musser do Departamento
446 de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco e a professora Dr(a) Luiza Suely
447 Semem Martins do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

448

449 **FINANCIAMENTO**

450 Este estudo foi realizado com recursos gerados por bolsas da Coordenação de
451 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento
452 001. Allan D. F. da Silva e Horace J. Jimenez como bolsistas de Doutorado CAPES, e Rômulo
453 M. Moraes Filho bolsista de Pós-Doutorado CAPES/UFRPE.

454

455 **REFERÊNCIAS**

456

457 **Appelhans MS, Reichelta N, Groppo M, Paetzolda C, Wen J. 2018.** Phylogeny and
458 biogeography of the pantropical genus *Zanthoxylum* and its closest relatives in the proto-
459 Rutaceae group (Rutaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolutions* **126**: 31-44.
460 DOI:10.1016/j.ympev.2018.04.013.

461

462 **Appelhans MS, Smets E, Baas P, Keßler PJ. 2010.** *Cneorum* (Rutaceae) in Cuba? The
463 solution to a 150 year old mystery. *Taxon* **59(4)**: 1126-1134.

464

465 **Aziz SSSA, Sukari MA, Rahmani M, Kitajima M, Ahpandi NJ. 2010.** Coumarins from
466 *Murraya paniculata* (Rutaceae). *The Malaysian Journal of Analytical Sciences* **14(1)**:1-5.

467

468 **Bayer RS, Mabberley DJ, Morton C, Miller C, Sharma I. 2009.** A molecular phylogeny of
469 the orange subfamily (Rutaceae: Aurantioideae) using nine cpDNA sequences. *American*
470 *Journal of Botany* **96(3)**:668–685. DOI:10.3732/ajb.0800341

471

472 **Brudno M, Do CB, Cooper GM, Kim MF, Davydov E. 2003.** LAGAN and Multi LAGAN:
473 efficient tools for large-scale multiple alignment of genomic DNA. *Genome Research* **13**: 721–
474 731. DOI: 10.1101/gr.926603

475

476 **Caixeta ET, Ferrão LFV, Zambolim EM. 2013.** Marcadores moleculares. In: Borém A &
477 Fritsche-Neto R, ed. **Biotecnologia aplicada ao melhoramento de plantas**. Visconde do Rio
478 Branco: Suprema, 31-68.

479

480 **Chase MW, Morton CM, Kallunki JA. 1999.** Phylogenetic relationships of Rutaceae: a
481 cladistic analysis of the subfamilies using evidence from *rbcL* and *atpB* sequences variation.
482 *American Journal of Botany* **86(8)**:1191-1199.

483

484 **Cheng Y, De Vicente MC, Meng H, Guo W, Tao N, Deng X. 2005.** A set of primers for
485 analyzing chloroplast DNA diversity in Citrus and related genera. *Tree physiology* **25(6)**: 661-
486 672. DOI:10.1093/treephys/25.6.661

487

488 **Chumley TW, Palmer JD, Mower JP, Fourcade HM, Calie PJ, Boore JL, Jansen RK.**
489 **2006.** The Complete Chloroplast Genome Sequence of *Pelargonium x hortorum*: Organization
490 and Evolution of the Largest and Most Highly Rearranged Chloroplast Genome of Land
491 Plants, *Molecular Biology and Evolution* **23(11)**: 2175–2190. DOI:10.1093/molbev/msl089

492

493 **Donadio LC, Mourão-Filho FAA; Moreira CS. 2005.** Centro de origem, distribuição
494 geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. In Mattos Júnior D, Negri
495 JD, Pio RM, Pompeu Junior J, ed. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico; Fundag 1: 3-18.

496

497 **Eguiluz M, Rodrigues NF, Guzman F, Yuyama P, Margis R. 2017.** The chloroplast
498 genome sequence from *Eugenia uniflora*, a Myrtaceae from Neotropics. *Plant Systematic and*
499 *Evolution* **303(9)**:1199–1212. DOI: 10.1007/s00606-017-1431-x.

500

501 **Engler A. 1931.** Rutaceae. In Engler A & Prantl K eds, **Die natürlichen Pflanzenfamilien**,
502 2.Aufl., 19, Leipzig: Engelmann, 187-359.

503

- 504 **Felsenstein J. 1985.** Confidence limits on phylogenies: a approach using the bootstrap.
505 *Evolution* **39(4)**: 783-791. DOI:10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x
506
- 507 **Fish F, Waterman PG. 1973.** Chemosystematics in the Rutaceae II. The Chemosysteatics of
508 the Zanthoxylum/Fagara complex. *Taxon* **22(2:3)**: 177-203.
509
- 510 **Frazer KA, Pachter L, Poliakov A, Rubin EM, Dubchak I. 2004.** VISTA: computational
511 tools for comparative genomics. *Nucleic Acids Research* **32**:273–279.
512 DOI:10.1093/nar/gkh458
513
- 514 **Fu CN, Li HT, Milne R, Zhang T, Ma PF, Yang J, Li DZ, Gao LM. 2017.** Comparative
515 analyses of plastid genomes from fourteen Cornales species: inferences for phylogenetic
516 relationships and genome evolution. *BMC Genomics* **18**:956. DOI: 10.1186/s12864-017-
517 4319-9.
518
- 519 **Grieve CM, Scora RW. 1980.** Flavonoid distribution in the Aurantioideae (Rutaceae).
520 *Systematic Botany* **5(1)**: 39-53. DOI: 10.2307/2418734
521
- 522 **Groppo M, Pirani JR, Salatino MLF, Blanco SR, Kallunki JA. 2008.** Phylogeny of
523 Rutaceae based on two noncoding regions from cpDNA. *American Journal of Botany* **95(8)**:
524 985 – 1005. DOI: 10.3732/ajb.2007313
525
- 526 **Hand ML, Spangenberg GC, Forster JW, Cogan NOI. 2013.** Plastome sequence
527 determination and comparative analysis for members of the Lolium-Festuca Grass species
528 complex. *G3:Genes Genomes Genetics* **3(4)**:607–616. DOI:10.1534/G3.112.005264.
529
- 530 **Handa T, Ishizawa Y, Oogaki C. 1986.** Phylogenetic study of fraction I protein in the genus
531 Citrus and its close related genera. *Japanese Journal of Genetics*, **61(1)**:15-24.
532 DOI:10.1266/jjg.61.15
533
- 534 **Heywood VH, Iriondo JM. 2003.** Plant conservation: old problems, new perspectives.
535 *Biological Conservation* **113(3)**:321-335. DOI: 10.1016/S0006-3207(03)00121-6
536
- 537 **Hilu KW, Liang G. 1997.** The matK gene: sequence variation and application in plant
538 systematics. *American Journal of Botany*, **84(6)**:830-839.
539
- 540 **Jena S, Kumar K, Nair N. 2009.** Molecular phylogeny in Indian Citrus L. (Rutaceae) inferred
541 through PCR-RFLP and trnLtrnF sequence data of chloroplast DNA. *Scientia Horticulturae*
542 **119**:403– 416. DOI: 10.1016/j.scienta.2008.08.030
543
- 544 **Kim YK, Park CW, Kim KJ. 2009.** Complete chloroplast DNA sequence from a Korean
545 endemic genus, *Megaleranthus saniculifolia*, and its evolutionary implications. *Molecules and*
546 *Cells* **27**:365–381. DOI: 10.1007/s10059-009-0047-6
547
- 548 **Kubitzki K, Kallunki JA, Duretto M, Wilson PG. 2011.** Rutaceae In Kubitzki K ed, **The**
549 **Families and Genera of Flowering Plants. X. Flowering Plants: Eudicots, Sapindales,**
550 **Cucurbitales, Myrtaceae.** Springer, Berlin, 276–356
551

- 552 **Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016.** MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
553 Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* **33(7)**:1870–1874.
554 DOI:10.1093/molbev/msw054.
555
- 556 **Mittapelli SR, Maryada SK, Khareedu VR, Vudem DR. 2014.** Structural organization,
557 classification and phylogenetic relationship of cytochrome P450 genes in *Citrus clementina* and
558 *Citrus sinensis*. *Tree genetics & genomes* **10(2)**:399-409. DOI 10.1007/s11295-013-0695-8.
559
- 560 **Lohse M, Drechsel O, Kahlau S and Bock R. 2013.** OrganellarGenomeDRAW - a suite of
561 tools for generating physical maps of plastid and mitochondrial genomes and visualizing
562 expression data sets. *Nucleic Acids Research* **41**: W575-W581. DOI:10.1093/nar/gkt289
563
- 564 **Morton CM. 2009.** Phylogenetic relationships of the Aurantioideae based on nuclear ribosomal
565 DNA ITS region, and three noncoding chloroplast DNA regions, *atpB-rbcL* spacer, *rps16*, and
566 *trnL-trnF*. *Organisms Diversity & Evolution* **9(1)**: 52–68. DOI:10.1016/j.ode.2008.11.001
567
- 568 **Morton CM, Telmer C. 2014.** New subfamily classification for Rutaceae. *Annals of the*
569 *Missouri Botanical Garden* **99(4)**: 620–641. DOI: 10.3417/2010034
570
- 571 **Nicolosi E, Deng Z.N, Gentile A, LA Malfa S, Continella G, Tribulato E. 2000.** Citrus
572 phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers.
573 *Theoretical and Applied Genetics*, **100(8)**:1155-1166.
574
- 575 **Nishikawa T, Salomon B, Komatsuda T, Von Bothmer R, Kadowaki K. 2002.** Molecular
576 phylogeny of the genus *Hordeum* using three chloroplast DNA sequences. *Genome*, **45(6)**:1157-
577 1166.
578
- 579 **Oliveira EJ, Dantas JLL, Castellen MS, Machado MD. 2008.** Identificação de
580 microssatelites para o mamoeiro por meio da exploração do banco de dados de DNA. *Revista*
581 *Brasileira de Fruticultura* **30(3)**:841-845. DOI:10.1590/S010029452008000300049
582
- 583 **Oliveira EJ, Pádua JG, Zucchi MI, Vencovsky R, Vieira MLC. 2006.** Origin, evolution and
584 genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, **29(2)**:294-307. DOI:
585 10.1590/S1415-47572006000200018
586
- 587 **Ollitrault J, Terol JA, Pina L, Navarro M, Ollitrault PT. 2010.** Development of SSR markers
588 from *Citrus clementina* (Rutaceae) BAC end sequences and interspecific transferability in
589 *Citrus*. *American Journal of Botany*, **97(11)**: 124–129. DOI:10.3732/ajb.1000280
590
- 591 **Olmstead RG, Palmer JD. 1994.** Chloroplast DNA systematics: a review of methods and data
592 analysis. *American Journal of Botany* **81(9)**: 1205–1224. DOI:10.2307/2445483
593
- 594 **Ouzounis C. 2002.** Bioinformatics and the theoretical foundations of molecular biology.
595 *Bioinformatics* **18(3)**:377-378.
596
- 597 **Pan AD. 2010.** Rutaceae leaf fossils from the Late Oligocene (27.23 Ma) Guang River flora of
598 northwestern Ethiopia. *Review of Palaeobotany and Palynology* **159(3-4)**: 188–194.
599 DOI:10.1016/J.REVPALBO.2009.12.005
600

- 601 **Pang XM, HU CG, Deng XX. 2003.** Phylogenetic relationships among Citrus and its relatives
602 as revealed by SSR markers. *Acta Genetica Sinica* **30(1)**: 81-87.
603
- 604 **Penjor T, Yamamoto M, Uehara M, Ide M, Matsumoto N. Matsumoto R, & Nagano Y.**
605 **2013.** Phylogenetic relationships of *Citrus* and its relatives based on matK gene sequences. *PloS*
606 *one* **8(4)** e62574. DOI:10.1371/journal.pone.0062574
607
- 608 **Pfeil BE, CRISP MD. 2008.** The age and biogeography of *Citrus* and the orange subfamily
609 (Rutaceae: Aurantioideae). *American Journal of Botany* **95(12)**: 1621–
610 1631. DOI:10.3732/ajb.0800214
611
- 612 **Poon WS, Shaw PC, Simmons MC, But PPH. 2007.** Congruence of molecular,
613 morphological, and biochemical profiles in Rutaceae: A cladistic analysis of the subfamilies
614 Rutoideae and Toddalioideae. *Systematic Botany* **32(4)**: 837 – 846.
615
- 616 **Priolli RHG, Mendes Junior CT, Arantes NE, Contel EPB. 2002.** Characterization of
617 Brazilian soybean cultivars using microsatellite markers. *Genetics and Molecular Biology*
618 **25(2)**:185-193. DOI: 10.1590/S1415-47572002000200012
619
- 620 **Provan J, Bennett K. 2008.** Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends in*
621 *Ecology and Evolution* **23(10)**: 564–571. DOI:10.1016/J.TREE.2008.06.010
622
- 623 **Provan J, Powell W, Hollingsworth P. 2001.** Chloroplast microsatellites: new tools for studies
624 in plant ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution* **16(3)**: 142–147.
625 DOI:10.1016/S0169-5347(00)02097-8
626
- 627 **Salvo G, Ho SYW, Rosenbaum G, Ree R, Conti E. 2010.** Tracing the temporal and spatial
628 origins of island endemics in the Mediterranean region: A case study from the citrus family
629 (*Ruta* L., Rutaceae). *Systematic Biology* **59(6)**:705-722. DOI:10.1093/sysbio/syq046
630
- 631 **Salvo G, Bacchetta G, Ghahremaninejad F, Conti E. 2008.** Phylogenetic relationships of
632 Ruteae (Rutaceae): New evidence from the chloroplast genome and comparisons with non-
633 molecular data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **49(3)**: 736-748.
634 DOI:10.1016/j.ympev.2008.09.004
635
- 636 **Schwartz T, Nylinder S, Ramadugu C, Antonelli a, Pfeil BE. 2015.** The origins of oranges:
637 a multi-locus phylogeny of Rutaceae subfamily Aurantioideae. *Systematic Botany* **40(4)**:1053-
638 1063 DOI:0.1600/036364415X690067.
639
- 640 **Scott KD, McIntyre CL, Playford J. 2000.** Molecular analyses suggest a need for a significant
641 rearrangement of Rutaceae subfamilies and a minor reassessment of species relationships
642 within Flindersia. *Plant Systematics and Evolution* **223(1-2)**: 15-27.
643
- 644 **Shaw J, Lickey E, Schilling E, Small R. 2007.** Comparison of whole chloroplast genome
645 sequences to choose non-coding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise
646 and the hare III. *American Journal of Botany* **94(3)**:275–288. DOI:10.3732/AJB.94.3.275
647
- 648 **Silva MFGF, Gottlieb OR, Ehrendorfer F. 1988.** Che-mosystematics of the Rutaceae:
649 suggestions for a more natural taxonomy and evolutionary interpretation of the family. *Plant*
650 *Systematics and Evolution* **161(3-4)**, 97-134.

- 651 **Stace HM, Armstrong JA, James SH. 1993.** Cytoevolutionary patterns in Rutaceae. *Plant*
652 *Systematic Evolution* **187(1-4)**: 1-28.
- 653
- 654 **Swingle WT. 1943.** The botany of citrus and its wild relatives of the orange subfamily. **The**
655 **citrus industry**, Berkeley: University of California, 1:128-474.
- 656
- 657 **Swingle WT, Reece PC. 1967.** The botany of citrus and its wild relatives of the orange
658 subfamily. In W. Reuther, H. J. Webber, L. D. Batchelor ed., **The citrus industry**, revised 2nd
659 ed., vol. 1, History, world distribution, botany, and varieties, University of California,
660 California, 190-430.
- 661
- 662 **Talat F, Wang K. 2015.** Comparative Bioinformatics Analysis of the Chloroplast Genomes of
663 a Wild Diploid *Gossypium* and Two Cultivated Allotetraploid Species. *Iranian Journal of*
664 *Biotechnology* **13(3)**:1231. DOI:10.15171/IJB.1231.
- 665
- 666 **Tambarussi EV, Melotto-Passarin DM, Dressano K, Guidetti-Gonzalez S, Brigati JB,**
667 **Jesus FA, Barbosa AL, Carrer H. 2009.** In silico analysis of simple sequence repeats from
668 chloroplast genomes of Solanaceae species. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* **9**: 344-
669 352.
- 670
- 671 **Tamura K, Battistuzzi FU, Billig RP, Murillo O, Filipinski A, Kumar S. 2012.** Estimating
672 divergence times in large molecular phylogenies. *PNAS* **109(47)**:19333-19338.
673 DOI:10.1073/PNAS.1213199109.
- 674
- 675 **Tamura K, Nei M.1993.** Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control
676 region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*
677 **10(3)**:512–526. DOI:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023
- 678
- 679 **Tanaka, T. 1977.** Fundamental discussion of Citrus classification. *Stud Citrol* **14**: 1-6.
- 680
- 681 **Temnykh S, Declerck G, Lukashova A. 2001.** Computational and experimental analysis of
682 microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations,
683 and genetic marker potential. *Genome Research* **11**:1441-1452. DOI: 10.1101/gr.184001
- 684
- 685 **The Angiosperm Phylogeny Group. 2016.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group
686 classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the*
687 *Linnean Society* **181(1)**:1-20. DOI: 10.1111/BOJ.12385
- 688
- 689 **The Plant List. 2013.** Version 1.1. Published on the Internet. Available at
690 <http://www.theplantlist.org>. entry: October 11, 2018.
- 691
- 692 **Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994.** CLUSTAL W: improving the sensitivity of
693 progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions specific gap
694 penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22(22)**: 4673-4680.
- 695
- 696 **Varshney RK, Thiel T, Stein N, Langridge P, Graner A. 2002.** In silico analysis on
697 frequency and distribution of microsatellites in ESTs of some cereal species. *Cell & Mol Biol*
698 *Letters* **7(2A)**: 537-546.
- 699

- 700 **Waterman PG. 1975.** Alkaloids of the Rutaceae: their distribution and systematic significance.
701 *Biochemical Systematics and Ecology* **3(3)**: 149-180. DOI:10.1016/0305-1978(75)90019-8
702
- 703 **Waterman PG. 1983.** Phylogenetic implications of the distribution of secondary metabolites
704 within the Rutales. In Waterman PG & Grundon MG eds, **Chemistry and chemical taxonomy**
705 **of Rutales**, London: Academic Press, 377-400.
706
- 707 **Waterman PG. 2007.** The current status of chemical systematics. *Phytochemistry* **68(22-24)**:
708 2896-2903. DOI:10.1016/j.phytochem.2007.06.029
709
- 710 **Waterman, PG. 1975.** Alkaloids of the Rutaceae: their distribution and systematic
711 significance. *Biochemical Systematic Ecology* **3(3)**:149-180. DOI:10.1016/0305-
712 1978(75)90019-8
713
- 714 **Wu GA, Terol J, Ibanez V, García AL, Román EP, Borredá C, Domingo C, Tadeo FR,**
715 **Caballero JC, Alonso R. 2018.** Genomics of the origin and evolution of *Citrus*. *Nature*, 554:
716 311-316. DOI:10.1038/NATURE25447.
717
- 718 **Wyman SK, Jansen RK, Boore JL. 2004.** Automatic annotation of organellar genomes with
719 DOGMA. *Bioinformatics* **20(17)**:3252–3255. DOI:10.1093/bioinformatics/bth352
720
- 721 **Xie SP, Manchester SR, Liu KN, Wang YF, Sun BN. 2013.***Citrus linczangensis* sp. n., a leaf
722 fossil of Rutaceae from the late Miocene of Yunnan, China. *International Journal of Plant*
723 *Sciences* **174(8)**: 1201-1207. Doi: 10.1086/671796
724
- 725 **Yang X, Li H, Liang M, Xu Q, Chai L, Deng X. 2015.** Genetic diversity and phylogenetic
726 relationships of citron (*Citrus medica* L.) and its relatives in southwest China. *Tree genetics &*
727 *genomes* **11(6)**: 129. DOI: 10.1007/s11295-015-0955-x
728 **Zhu A, Fan W, Adams RP, Mower JP. 2018.** Phylogenomic evidence for ancient
729 recombination between plastid genomes of the Cupressus-Juniperus-Xanthocyparis complex
730 (Cupressaceae). *BMC Evolutionary Biology* **18**: 137. DOI:10.1186/s12862-018-1258-2
731
- 732 **Zucchi MI, Brondani RV, Pinheiro JB, Brondani C, Vencovsky R. 2002.** Transferability o
733 microsatellite markers from Eucalyptus spp. to Eugenia dysenterica (Myrtaceae family)
734 *Molecular Ecology Notes* **2(4)**:512-514. DOI: 10.1046/j.1471-8286.2002.00297.x.

735 **Tabela 1.** Número de pares de bases (PB), conteúdo de guanina e citosina (GC), genes que
 736 codificam proteínas (Proteína), RNA ribossômico (rRNA), RNA transportador (tRNA), número
 737 de genes (Gene) Espaço gênico de Espécies da família Rutaceae

Espécie	Ref. seq	PB	GC%	Proteína	rRNA	tRNA	Gene	Espaço gênico
<i>Citrus aurantiifolia</i>	NC_0249291	159.893	38,4	93	8	37	138	88672
<i>Citrus depressa</i>	NC_0318941	160.120	38,5	87	8	45	139	89011
<i>Citrus limon</i>	NC_0346901	160.101	38,5	93	8	37	138	89011
<i>Citrus platymamma</i>	NC_0301941	160.121	38,5	89	8	37	137	89009
<i>Citrus sinensis</i>	NC_0083341	160.129	38,5	87	8	45	140	89588
<i>Citrus reticulata</i>	NC_0346711	160.100	38,5	89	8	37	134	89287
<i>Citrus maxima</i>	NC_0342901	160.133	38,5	89	8	37	134	89153
<i>Clausena excavata</i>	NC_0326851	161.172	38,3	86	8	33	127	90217
<i>Glycosmis mauritiana</i>	NC_0326861	160.131	38,5	85	8	29	122	90022
<i>Glycosmis pentaphylla</i>	NC_0326871	159.844	38,4	85	8	29	122	89674
<i>Merrillia caloxylon</i>	NC_0326881	159.969	38,5	85	8	29	122	89458
<i>Micromelum minutum</i>	NC_0326891	160.416	38,5	86	8	29	123	89158
<i>Murraya koenigii</i>	NC_0326841	159.402	38,5	85	8	29	122	89395
<i>Phellodendron amurense</i>	NC_0355511	158.442	38,4	88	8	37	134	89884
<i>Zanthoxylum bungeanum</i>	NC_0313861	158.401	38,5	87	8	37	132	89722
<i>Zanthoxylum piperitum</i>	NC_0279391	158.154	38,5	86	8	37	131	89128
<i>Zanthoxylum schinifolium</i>	NC_0307021	158.963	38,4	87	8	37	132	88844
<i>Zanthoxylum simulans</i>	NC_0374821	158.461	38,5	87	8	37	132	89009

738

739 **Tabela 2.** Número absoluto de microssatélites. Os números entre parênteses representam a
 740 frequência (%) dos SSRs dos cloroplastos gênicos e intergênicos com base no tamanho do
 741 motivo para cada espécie da família Rutaceae

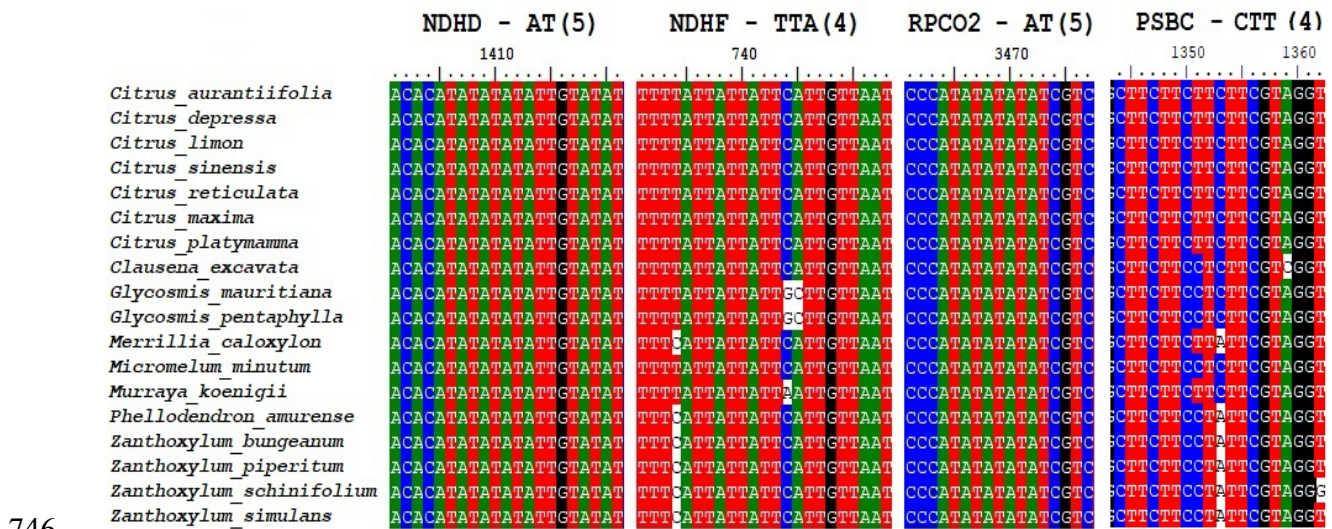
Espécie	Di		Tri		Tetra		Penta	
	^y Gen	^z Int	^y Gen	^z Int	^y Gen	^z Int	^y Gen	^z Int
<i>C. aurantiifolia</i>	2 (50)	2(50)	0	12 (100)	0	1 (100)	0	2 (100)
<i>C. depressa</i>	2 (100)	0	0	13 (100)	0	2 (100)	0	0
<i>C. limon</i>	1 (33)	2 (67)	0	13 (100)	0	2 (100)	0	0
<i>C. platymamma</i>	1 (33)	2 (67)	1 (7)	13 (93)	0	2 (100)	0	0
<i>C. excavata</i>	1 (20)	4 (80)	0	9 (100)	0	0	0	0
<i>C. sinensis</i>	2 (67)	1 (33)	1 (7)	13 (93)	0	2 (100)	0	0
<i>C. reticulata</i>	1 (20)	4 (80)	1 (8)	12 (92)	0	2 (100)	0	0
<i>C. máxima</i>	1 (33)	2 (67)	1 (8)	12 (92)	0	2 (100)	0	0
<i>G. mauritiana</i>	2 (50)	2 (50)	0	12 (100)	0	0	0	0
<i>G. pentaphylla</i>	2 (50)	2 (50)	0	12 (100)	0	0	0	0
<i>M. caloxylon</i>	2 (50)	2 (50)	0	8 (100)	0	1 (100)	0	0
<i>M. minutum</i>	2 (50)	2 (50)	0	7 (100)	0	0	0	0
<i>M. koenigii</i>	2 (67)	1 (33)	2 (22)	7 (78)	0	0	0	0
<i>P. amurense</i>	2 (40)	3 (60)	0	8 (100)	0	2 (100)	0	0
<i>Z. bungeanum</i>	1 (20)	4 (80)	1 (12,5)	7 (87,5)	0	1 (100)	0	0
<i>Z. piperitum</i>	1(20)	4 (80)	1 (14)	6 (86)	0	0	0	0
<i>Z. schinifolium</i>	1(20)	4 (80)	1(12,5)	7 (87,5)	0	1 (100)	0	0
<i>Z. simulans</i>	1 (17)	5 (83)	1 (12,5)	7 (87,5)	0	1 (100)	0	0
TOTAL	27	46	10	178	0	19	0	0

742 ^yGen- Gênico; ^zInt- Intergênico

743 **Tabela 3.** Microssatélites gênicos encontrados nos genomas plastidiais de espécies da família
744 Rutaceae

Espécies	Nome do gene			
	rpoC2	ndhD	ndhF	psbC
<i>C. aurantiifolia</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	CTT ₄ (P)
<i>C. depressa</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	CTT ₄ (P)
<i>C. limon</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	CTT ₄ (P)
<i>C. platymamma</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	CTT ₄ (P)
<i>C. sinensis</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	CTT ₄ (P)
<i>C. reticulata</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	CTT ₄ (P)
<i>C. maxima</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	CTT ₄ (P)
<i>C. excavata</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	I
<i>G. mauritiana</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	I
<i>G. pentaphylla</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	I
<i>M. caloxylon</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	I
<i>M. minutum</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	I
<i>M. koenigii</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	TTA ₄ (P)	CTT ₄ (P)
<i>P. amurense</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	I
<i>Z. bungeanum</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	I
<i>Z. piperitum</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	I
<i>Z. schinifolium</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	I
<i>Z. simulans</i>	AT ₅ (P)	AT ₅ (P)	I	I

745 P (perfeito); I (imperfeito).

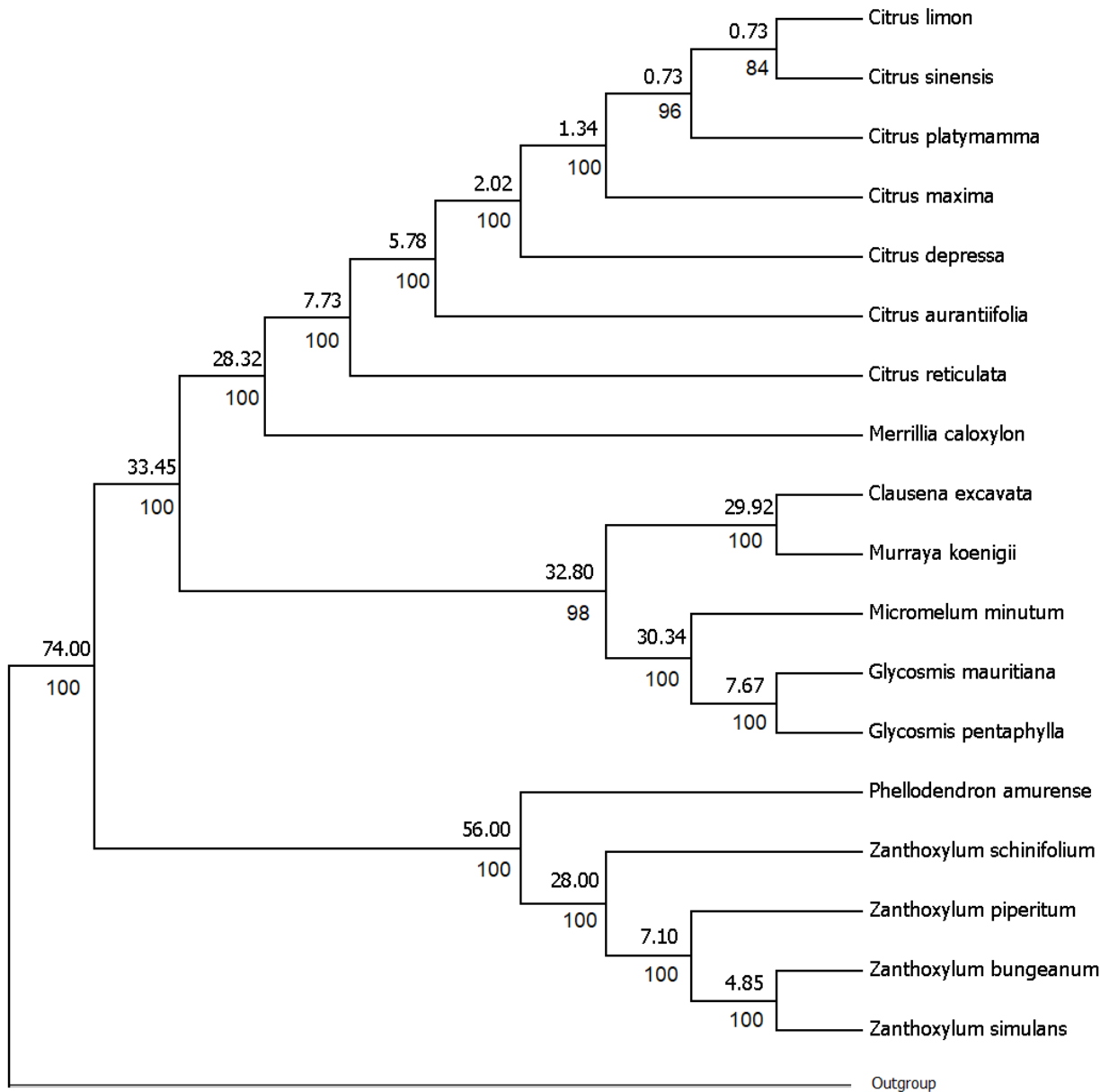


746

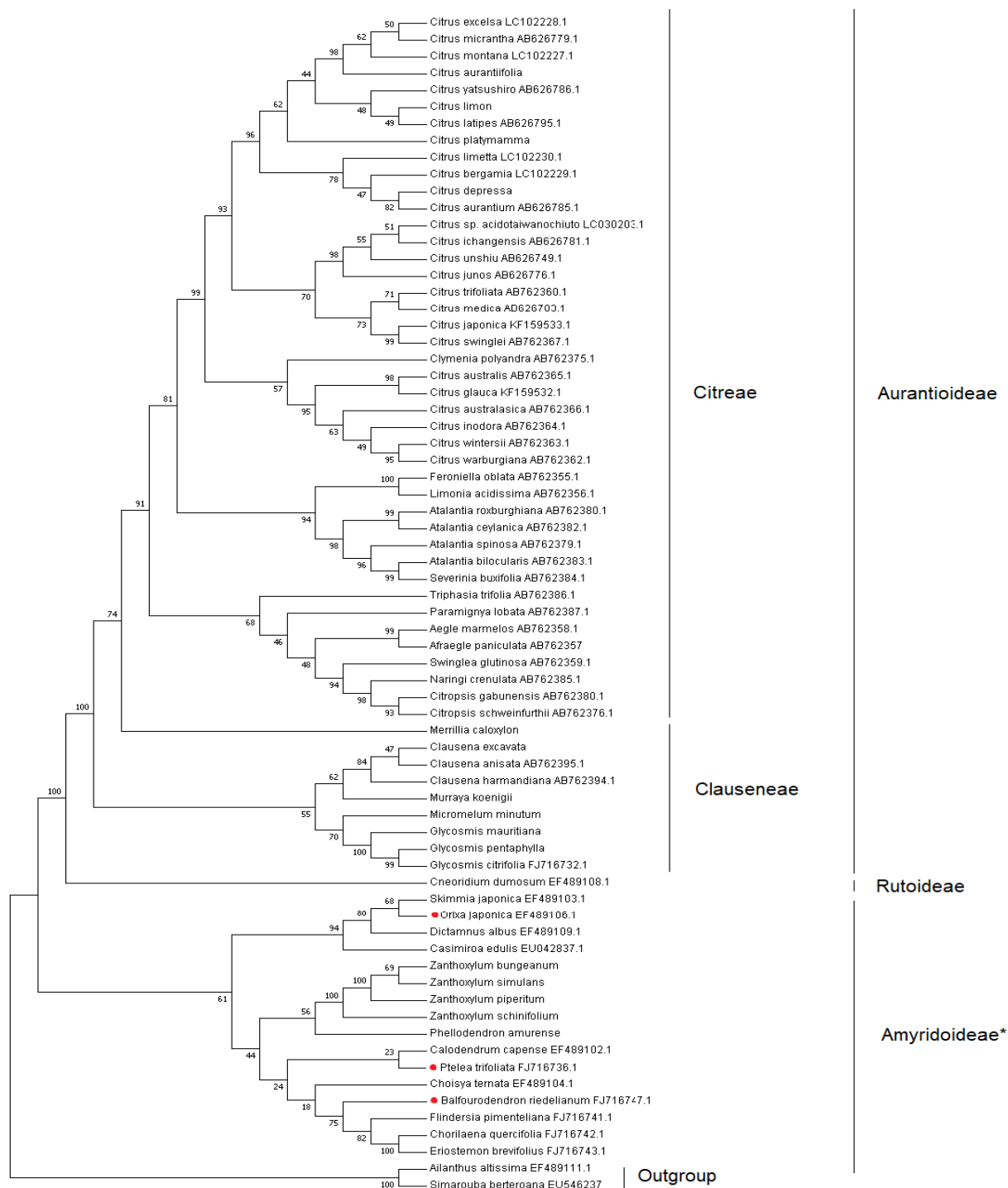
747

748

Figura 1. Alinhamento múltiplo de seqüências dos genes contendo microssatélites, em estudos da família Rutaceae.



755 **Figura 3.** Filogenia e Árvore do tempo de 18 espécies da família Rutaceae, baseada em
 756 genomas plastidiais completos. Plastomas de duas espécies foram incluídas como grupo
 757 externo. A árvore filogenética foi gerada pelo software MEGA7, usando o método de máxima
 758 parcimônia, e o suporte de bootstrap foi calculado usando 1000 replicatas. Valores de suporte
 759 de bootstrap (%) são mostrados abaixo da interseção de cada ramo. A árvore do tempo foi
 760 inferida pelo método Realtime (Tamura et al. 2012) e pelo modelo de Tamura-Nei (Tamura et
 761 al. 1993). A árvore foi computada utilizando três pontos de calibração obtidos pelas escalas
 762 disponíveis no site Time tree (<http://www.timetree.org/>). Classificação taxonômica de
 763 subfamílias e tribos Segundo Groppo et al. (2008). Valores de divergência do tempo entre as
 764 espécies são mostradas acima da interseção de cada ramo.



778 **Figura 5.** Filogenia da família Rutaceae baseada em sequências do gene plastidial MatK. A
 779 árvore filogenética foi gerada pelo software MEGA7, usando o método de máxima parcimônia
 780 e o suporte estatístico foi calculado usando 1000 replicatas. Valores de suporte de bootstrap
 781 (%) são mostrados na interseção de cada ramo. A árvore mais parcimoniosa foi obtida
 782 utilizando-se o método SPR (Subtree-Pruning-Regrafting) em nível de busca 3. É mostrada
 783 apenas a árvore mais parcimoniosa das três obtidas (Índice de consistência=0,64; Índice de
 784 retenção = 0,87, N° de passos = 909). Classificação de Subfamília de acordo com Morton e
 785 Telmer (2014) é indicada pelas barras à direita. Espécies indicadas pelo ponto vermelho estão
 786 ausentes na análise de Morton e Telmer (2014), mas aparecem agrupadas com espécies da
 787 subfamília Amyridoideae. Classificação de tribo indicada dentro da família Aurantioideae são
 788 de acordo com o proposto por Swingle e Reece (1967).

ANEXOS

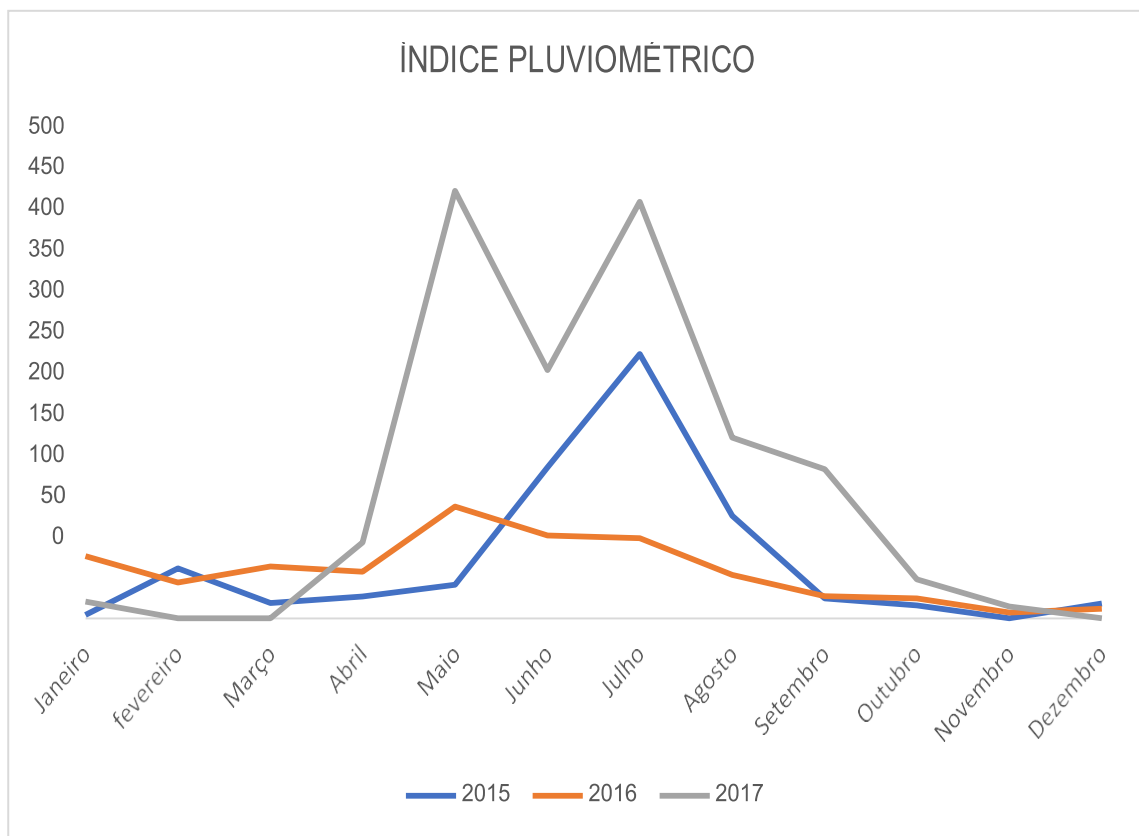


Figura 6. Médias acumuladas mensalmente de Precipitação na Coleção de Citros da Estação Experimental de Brejão - PE, entre o período de janeiro/2015 a dezembro/2017.

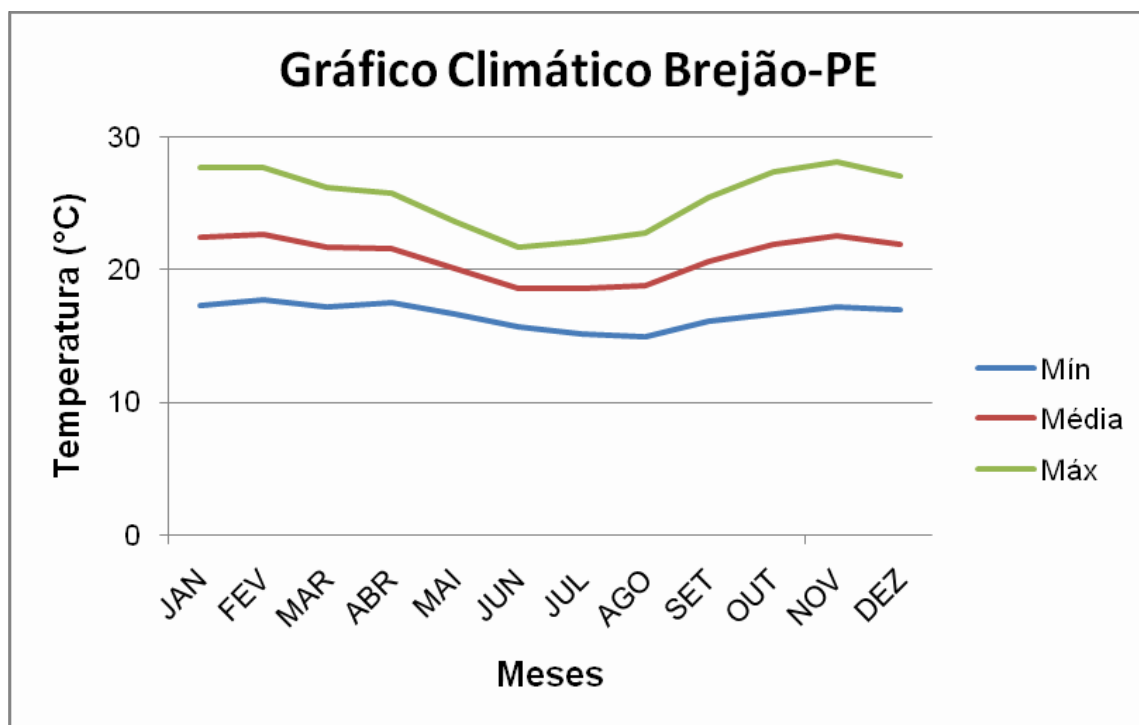


Figura 7. Gráfico de temperatura na Estação Experimental de Brejão - PE.



Figura 8. Vista aérea da Coleção de Citros da Estação Experimental de Brejão - PE.

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
“Melhoramento Genético de Plantas”

ANEXO IV - NORMAS DE REDAÇÃO DE TESE

1. Normas Gerais

1.1. Dissertação constitui o produto final de pesquisas desenvolvidas em cursos de Mestrado e a Tese constitui o produto final de pesquisas desenvolvidas em cursos de Doutorado. Exigem investigações próprias à área de especialização e métodos específicos.

1.2. A Dissertação ou Tese é de responsabilidade do discente, da Comissão Orientadora e da Banca Examinadora.

2. Estrutura

2.1. A Dissertação ou Tese deverá ser composta de: (i) capa, (ii) páginas pré-textuais, (iii) corpo propriamente dito e, (iv) anexo (páginas pós-textuais).

2.2. A capa deverá conter a autoria, título, local e ano da aprovação. As capas encadernadas em mais de um volume deverão conter as mesmas informações acrescidas da identificação do respectivo volume. Dois (2) exemplares devem ser de capas duras de cor preta e letras amarelas.

2.3. As páginas pré-textuais serão compostas:

2.3.1. Primeira folha interna (página de rosto), contendo; (i) autoria, (ii) título; (iii) nota explicativa de que se trata de um trabalho de Dissertação ou Tese, mencionando o Programa de Pós-Graduação, a Universidade e o grau pretendido (Mestrado ou Doutorado); (iv) comitê de orientação e (v) local e ano de aprovação. Contará, no verso desta folha, a ficha catalográfica.

2.3.2. Segunda folha interna deve conter, o título, o nome do pós-graduando(a), a data de aprovação, os nomes e as assinaturas do orientador e dos participantes da Banca Examinadora, local e data.

2.3.3. Opcionalmente, poderão ser incluídas páginas adicionais contendo: (i) agradecimento (ii) oferecimento, (iii) dedicatória e (iv) biografia do autor, obrigatoriamente, deve conter (v) lista de símbolos, figuras, tabelas e sumário.

2.3.4. Folha (s) em que conste (m) o resumo em português, palavras-chave, o abstract em inglês e key words. O resumo com no máximo 800 palavras deve destacar: o local da pesquisa, delineamento estatístico, caracterização do problema, focalizar o(s) objetivo(s), síntese da metodologia, resultados obtidos e conclusões.

2.4. O corpo da Dissertação ou Tese conterá todo o trabalho impresso, avaliado e aprovado pela Banca Examinadora. O corpo poderá ser organizado na forma de capítulos.

2.5. O corpo em capítulos será composto das seções: Capítulo I: Introdução e Referencial Teórico; Capítulos (I ou mais a depender do número de artigos científicos); e Considerações Finais (opcional). As referências bibliográficas e citações seguirão as normas da Crop Breeding and Applied Biotechnology. As referências bibliográficas deverão aparecer ao final de cada capítulo.

2.6. O anexo (páginas pós-textuais) conterá material pertinente e suplementar.

2.7. Inserir cabeçalho com citação do autor e nome da dissertação ou tese, sendo a fonte tipo arial e tamanho 10, a partir do Capítulo I até a página inicial da folha anexo(s).

3. Editoração

3.1. Composição tipográfica. As dissertações ou teses deverão ser impressas em forma permanente e legível, com caracteres de alta definição e de cor preta no tipo Arial tamanho 12, com espaçamento 1,5.

3.2. Notação científica e medidas. A nomenclatura científica deverá ser diferenciada contextualmente, de acordo com as normas internacionais. As unidades métricas deverão seguir o padrão do Sistema Internacional de Unidades.

3.3. Papel. Utilizar papel A-4 (210 x 297 mm) branco, e suficientemente opaco para leitura normal.

3.4. Margens. A margem esquerda deve ser de 3 cm e as outras margens de 2 cm.

3.5. Paginação. Todas as páginas textuais e pós-textuais deverão ser numeradas em sequência contínua, isto é, desde a página do Capítulo I (texto corrido), até a última página, em algarismos arábicos. A sequência deverá incluir tudo que estiver como mapas, diagramas, páginas em branco e outros. As páginas pré-textuais deverão ser numeradas, sequencialmente, como algarismos romanos minúsculos.

3.6. Ilustrações. Fotografias e outras ilustrações deverão ser montadas de forma definitiva e incluídas no corpo da Dissertação ou Tese. É admitido o uso de cores nas figuras e ilustrações. Em nenhuma circunstância dever-se-á empregar fita adesiva ou material similar para afixação de ilustrações no corpo da Dissertação ou Tese. Folhas de tamanho superior a A4 serão aceitáveis, desde que dobradas, de forma a resultar em dimensões inferiores ao tamanho do papel adotado.

As referências bibliográficas e as citações da tese (capítulo I) seguirão o padrão da revista *Crop Breeding and Applied Biotechnology*.



References cited in the text by the last name of the author and the year (for instance, Liu 1998, Pereira and Amaral Júnior 2001, William et al. 1990) are to be alphabetically listed in the item **References**, according to the following examples:

Article in journals

Pereira MG and Amaral Júnior AT (2001) Estimation of genetic components in popcorn based on the nested design. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 1**: 3-10.

Book Hallauer AR, Carena MJ and Miranda Filho JB (2010) **Quantitative genetics in maize breeding**. Springer, New York, 664p.

Book chapter

Morais PPP and Borem A (2017) GM cultivars. In Silva FL, Borem A, Sedyama T and Ludke WH (eds) **Soybean breeding**. Springer, New York, p. 174-189.

Congress Frey KJ (1992) Plant breeding perspectives for the 1990s. In Stalker HT and Murphy JP (eds) **Proceedings of the symposium on plant breeding in the 1990s**. CAB, Wallingford, p. 1-13.



ISSN Eletrônico: 1678-4596

Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados **preferencialmente em idioma Inglês**. Os encaminhados em Português poderão ser traduzidos após a 1º rodada de avaliação para que ainda sejam revisados pelos consultores ad hoc e editor associado em rodada subsequente. Entretanto, caso **não traduzidos** nesta etapa e se **aprovados** para publicação, terão que ser **obrigatoriamente traduzidos para o Inglês** por empresas credenciadas pela Ciência Rural e obrigatoriamente terão que apresentar o certificado de tradução pelas mesmas para seguir tramitação na CR.

Empresas credenciadas:

- Alexandre Paulino Loretto (aploretti@gmail.com)
- American Journal Experts (<http://www.journalexerts.com/>)
- Bioedit Scientific Editing (<http://www.bioedit.co.uk/>)
- BioMed Proofreading (<http://www.biomedproofreading.com>)
- Edanz (<http://www.edanzediting.com>)
- Editage (<http://www.editage.com.br/>) 10% discount for CR clients. Please inform Crural10 code.
- Enago (<http://www.enago.com.br/forjournal/>) Please inform CIRURAL for special rates.
- GlobalEdico (<http://www.globaledico.com/>)
- JournalPrep (<http://www.journalprep.com>)
- Liberty Medical Communications (<http://libertymedcom.com/>)
- Paulo Boschov (paulo@bridgetextos.com.br, bridge.textecn@gmail.com)
- Proof-Reading-Service.com (<http://www.proof-reading-service.com/pt/>)
- Readytopub (<https://www.readytopub.com/home>).

O trabalho após tradução e o respectivo certificado devem ser enviados para: rudiweiblen@gmail.com

As despesas de tradução serão por conta dos autores. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será **15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras**. Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e **nem estar com apresentação paisagem**.

Tendo em vista o formato de publicação eletrônica estaremos considerando manuscritos com páginas adicionais além dos limites acima. No entanto, os trabalhos aprovados que possuírem páginas além do estipulado terão um custo adicional para a publicação (vide taxa).

3. O artigo científico (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Contribuição dos autores; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

4. A revisão bibliográfica (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Contribuição dos autores; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

5. A nota (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Contribuição dos autores; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

6. O preenchimento do campo "**cover letter**" deve apresentar, obrigatoriamente, as seguintes informações em inglês, **exceto** para artigos **submetidos em português** (lembrando que preferencialmente os artigos devem ser submetidos em inglês).

- a) What is the major scientific accomplishment of your study?
- b) The question your research answers?
- c) Your major experimental results and overall findings?
- d) The most important conclusions that can be drawn from your research?
- e) Any other details that will encourage the editor to send your manuscript for review?

Para maiores informações acesse o seguinte [tutorial](#).

7. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

8. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

9. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os

reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

10. Nesse [link](#) é disponibilizado o **arquivo de estilo** para uso com o software **EndNote** (o EndNote é um software de gerenciamento de referências, usado para gerenciar bibliografias ao escrever ensaios e artigos). Também é disponibilizado nesse [link](#) o **arquivo de estilo** para uso com o software **Mendeley**.

11. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

11.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

11.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

11.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

11.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Available from: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Accessed: Mar. 18, 2002. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Response of *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.) to different concentrations of diatomaceous earth in bulk stored wheat. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Mar. 18, 2009. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

SENA, D. A. et al. Vigor tests to evaluate the physiological quality of corn seeds cv. 'Sertanejo'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 3, e20150705, 2017. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782017000300151&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Mar. 18, 2017. Epub 15-Dez-2016. doi: 10.1590/0103-8478cr20150705 (Artigo publicado eletronicamente).

11.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f.

Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20). (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação

11.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Online. Available from: <<http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>>.

Accessed: Mar. 18, 2005 (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Online. Available from: <<http://www.zh.com.br/especial/index.htm>>. Accessed: Mar. 18, 2001(OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Online. Available from: <<http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>>. Accessed: Mar. 18, 2007.

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

12. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

13. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

14. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).

16. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

17. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

18. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

19. Todos os artigos encaminhados devem pagar a taxa de tramitação. Artigos reencaminhados (**com decisão de Reject and Resubmit**) deverão pagar a taxa de tramitação novamente. Artigos arquivados por **decurso de prazo** não terão a taxa de tramitação reembolsada.

20. Todos os artigos submetidos passarão por um processo de verificação de plágio usando o programa “Cross Check”.

21. Contribuição dos autores

Para se qualificar para a autoria do manuscrito submetido, todos os autores listados deveriam ter contribuições intelectuais substanciais tanto para a pesquisa quanto para sua preparação. Por favor, use um dos exemplos abaixo ou faça o seu.

Exemplo um

RW, RA e RCNO conceberam e projetaram experimentos. WC, LM e AA realizaram os experimentos, BB realizou as análises laboratoriais. BB supervisionou e coordenou os experimentos com animais e forneceu dados clínicos. BB realizou análises estatísticas de dados experimentais. WC, MB e NO prepararam o rascunho do manuscrito. Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

Exemplo dois

Todos os autores contribuíram igualmente para a concepção e redação do manuscrito. Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

Exemplo três

Os autores contribuíram igualmente para o manuscrito.



Ciência Rural
Universidade Federal de Santa Maria - Centro de Ciências Rurais
Prédio 42, Sala 3104 97105-900 - Santa Maria, RS, Brasil
E-mail: cienciarrural@mail.ufsm.br
Fone/Fax: (55) 32208698
Fax: (55) 32208695



Por favor, use o inglês claro, inequívoco, tecnicamente e gramaticalmente correto por toda parte.

Arquivos:

Manuscrito

Figuras

Tabelas

Dados brutos ou arquivos de código

Dados ou código são **quase sempre** necessários para revisão e publicação.

Os autores que não enviam seus dados brutos corretamente são o principal motivo para o atraso.

Escolha como você deseja enviar seus dados brutos:

- Envie para o PeerJ como um arquivo suplementar.
- Faça o upload para um repositório on - line e envie os detalhes de acesso (necessários para arquivos com mais de 30 MB).
- Se de propriedade de terceiros, por favor, envie permissão por escrito para publicar.
- Se você não puder enviar por motivos de privacidade ou segurança, envie uma declaração dos proprietários dos dados brutos ou do código explicando o motivo.
- Os arquivos devem ser legíveis por máquina, isto é, imagens, PDFs, Powerpoints etc. não aceitos.

Arquivos suplementares

Arquivos que não fazem parte do seu manuscrito principal:

Arquivos para o pessoal (conforme apropriado)

- Ética / participante humano / estudo de campo / documentos de aprovação de animais vertebrados.
- Exemplo de formulário de consentimento de participante humano.
- Diagrama de fluxo e lista de verificação do CONSORT.
- Diagrama de fluxo e lista de verificação PRISMA.
- Lista de verificação COREQ.
- Protocolo de avaliação
- Formulário de consentimento de foto / vídeo.

Arquivos para publicação

- Dados brutos ou código (obrigatório).
- Grandes conjuntos de dados suplementares.
- Figuras e tabelas.
- Artigos.
- Vídeo e áudio.
- Os arquivos suplementares não devem exceder 50 MB no total (limite de arquivo individual de 30 MB). Se você precisar de mais espaço, entre em contato conosco.

Formatação do manuscrito:

- Carta dos EUA.
- Use números de linha.
- Margem de 2,5 cm em todas as bordas.
- Fonte do Times de 12 pontos para facilitar a leitura.
- Estilo 'Normal' para texto, estilos 'Heading' para títulos.
- Não use estilos / modelos de documentos 'incomuns' (por exemplo, '*Normal (Web)*').
- Esquerda justifique todo o texto para a margem esquerda. Não 'largura total' justificar.

Orientação de título:

- Seja claro, atraente, interessante e específico.
- Corresponda as consultas de pesquisa usadas para encontrar artigos semelhantes.
- Seja conciso: idealmente 20-60 caracteres (limite máximo de 250 caracteres).
- Evite siglas, abreviaturas e jargões.
- Descreva com precisão o trabalho.

Dados brutos ou código enviados como:

- Um link para um repositório onde os dados e / ou código estão acessíveis (por exemplo , Github , Gitlab).
- ou arquivo (s) suplementar (ais) contendo os dados ou código brutos.
- É legível por máquina (PDF, Powerpoint, imagens, etc. não aceitas).
- Dados ou código são quase sempre necessários:
- Se os dados forem de propriedade de terceiros, obtenha permissão para publicar. Alternativamente, envie uma declaração dos proprietários explicando por que eles não podem publicar em razão de privacidade ou segurança.
- Se for muito grande, faça o upload para um repositório on-line (por exemplo , Figshare, Dryad , etc).

Sessões Padrão

- **Página de rosto do autor**

Incluído como a primeira página do seu manuscrito.

As informações do autor inseridas on-line devem **corresponder exatamente** às informações do autor listadas na página de rosto do autor.

- **Estrutura da página de rosto do autor:**

Título do artigo

Autores

- Primeiros nomes (ou primeiras iniciais em combinação com os nomes do meio completos).
- Nome do meio inicial (s).
- Sobrenomes (sobrenome, nome da família).

Afiliações (indicar várias afiliações ou endereços atuais, quando apropriado).

- Departamento, universidade ou afiliação organizacional.
- Localização: cidade, estado / província (se aplicável).
- País.

Autor correspondente

- Primeiro e último nome.
- Endereço de e-mail.

OU

- Se for de autoria de um consórcio, liste nomes e afiliações na ordem correta na seção Agradecimentos.
- Todos os autores devem atender aos requisitos de autoria de autoria do ICMJE . Inclua outros contribuidores na seção Agradecimentos.

Abstrato

- Limite de 500 palavras (3.000 caracteres).
- Descrição concisa, auto-contida da razão para o trabalho, metodologia, resultados e conclusões.
- Abreviações incomuns devem ser explicitadas no primeiro uso.
- Não há notas de rodapé ou referências (exceto quando se faz referência a uma publicação criticada pela DOI).
- Os subtítulos devem estar em negrito, seguidos de um período e iniciar um novo parágrafo.

Introdução

Materiais e Métodos

Resultados

Discussão

Conclusões

Agradecimentos

- Não reconheça os financiadores aqui, existe uma Declaração de Financiamento separada para isso. Todos nomeados na seção de agradecimentos devem ser informados de que são nomeados.

Referências

Escolha seu estilo

PeerJ prefere que você gaste seu tempo fazendo ciência , não formatando referências! Envie suas referências em qualquer estilo que você gosta.

Apenas certifique-se de que estejam cheios, claros e consistentes, e padronizemos a produção.

Citações no texto

Para três ou menos autores, liste todos os nomes dos autores (por exemplo, Smith, Jones & Johnson, 2004) . Para quatro ou mais, abrevie com 'primeiro autor' et al. (por exemplo, Smith et al., 2005) .

Múltiplas referências ao mesmo item devem ser separadas por um ponto-e-vírgula (;) e ordenadas cronologicamente.

Referências do mesmo autor no mesmo ano devem ser diferenciadas por letras (Smith, 2001a; Smith, 2001b) .

Citar artigos aceitos para publicação como 'in press'. Inclua na seção de referência e faça o upload como um arquivo suplementar.

Cite o trabalho não publicado, em preparação ou sob revisão como 'dados não publicados' . Use as iniciais e o sobrenome do autor apenas no texto. Não inclua na seção de referência.

Evite referenciar comunicações pessoais. Referência como 'pers. comm. ', incluindo o nome e ano.

Exemplo de referência do livro:

James FY. 2010. Compreendendo milho e trigo . Oxford: Oxford University Press.

Exemplo de trecho do livro:

Smith PG. 2011. Comportamento nas formigas. Em: Jones HY, ed. Comportamento de insetos nos Andes. Berlim: Springer Verlag, 101-200.

Exemplo de tese:

Blair HJ. 1989. Modificações estruturais do gênero *Lecanopteris* (Polypodiaceae). D. Phil. Tese, Universidade de Cambridge.

Exemplo de página da Web:

Johnson S. 2010. Plantas italianas. Disponível em <http://www.italianplants.com> (acessado em 22 de março de 2011).

Resumo de exemplo:

Thomas D, Scharfenecker U, Schiltmeyer B. 2006. Baixo potencial de interação medicamentosa da lacosamida. [Abstract 2.235] *Epilepsia* 47 (Suppl 4): 200.

Figuras

Use o formato de arquivo original e o tamanho da imagem sempre que possível.

Imagens vetoriais (por exemplo, gráficos, diagramas):

- PDF (preferencial)
- EPS
- PNG

Imagens raster / bitmap (por exemplo, desenhos, screenshots):

- PNG (preferencial)
- JPEG (apenas fotografias)
- PDF
- EPS
- Tamanho ideal de 3000px de largura (mínimo: 900 x 900px)

Por favor carregue como arquivos separados (isto é, não incorpore no manuscrito).

- 'Figura' refere-se a gráficos, gráficos, desenhos de linhas e fotografias.
- Imagens de qualidade inferior podem ser aceitas para revisão, mas elas devem ser substituídas por imagens de alta qualidade (300 dpi) no reenvio.
- Inclua números de figuras em nomes de arquivos, por exemplo, "Figura 1.png"
- Os títulos são obrigatórios para todas as figuras (as legendas são opcionais):
- Todas as figuras devem ser citadas no texto principal.

Ordem de figura:

- A figura 1 aparece primeiro no texto e primeiro citada.
- A figura 2 aparece em segundo lugar e a próxima é citada após a figura 1.
- Ao citar, use a abreviação "Fig." Ao iniciar uma frase com uma citação, use 'Figura 1'.
- Espaço em branco mínimo ao redor de cada figura / figura.
- Etiqueta com uma fonte legível e uniforme. Altura vertical de 2 mm sugerida.
- Figuras de várias partes enviadas em um arquivo e organizadas conforme elas serão publicadas. Etiqueta cada parte com uma letra maiúscula.

Tabelas

Formatos de documentos de tabela:

- .DOCX (preferencial) e .DOC

- .TeX (+ PDF com figuras e tabelas incorporadas).
- .ODT
- .PDF (somente a primeira submissão)
- Por favor carregue como arquivos separados (isto é, não incorpore no manuscrito).
- Inclua números de tabelas em nomes de arquivos, por exemplo, "Tabela 1.png"
- Os títulos são obrigatórios para todas as tabelas (as legendas são opcionais)

Ordem da tabela:

- A Tabela 1 aparece primeiro no texto e primeiro citada.
- A Tabela 2 aparece em segundo lugar e a próxima citada após a Tabela 1.
etc ...
- Citar tabelas no texto como "Tabela 1 ", "Tabela 2" etc.
- Inclua unidades nos cabeçalhos de coluna e linha, entre parênteses.
- As mesas devem caber em uma única página de 21,6 x 28 cm com margens de 2,5 cm.
- Coloque notas de rodapé abaixo da tabela; estes podem ser usados para explicar abreviações.
- Para figuras, vídeos ou tabelas contendo material com direitos autorais não criados por um dos autores (por exemplo, fotografias, mapas):
- Faça o upload de um documento com a permissão do proprietário dos direitos autorais para publicar sob uma licença CC BY (faça o download do modelo de carta de permissão de foto / vídeo).
- Adicione uma atribuição de crédito na legenda.
- Ao enviar fotografias, indique a identidade do fotógrafo.

Considerações sobre o estilo

Texto manuscrito

- Por favor, use um inglês claro, inequívoco, tecnicamente e gramaticalmente correto.
- Artigos com mais de 45 páginas (após a composição) incorrerão em uma taxa de serviço adicional. Este não é um APC adicional e os códigos de desconto não podem ser usados para pagar esta taxa. Se você tiver um manuscrito desta extensão, envie um e-mail para editor@peerj.com para discutir.
- As normas estabelecidas de escrita acadêmica dentro de seu campo devem ser seguidas.
- A ortografia em inglês ou americano é aceitável, desde que seja usada de forma consistente em todo o texto.
- Nomenclatura: A nomenclatura biológica e médica deve aderir às diretrizes reconhecidas estabelecidas por regulamentos de comitês internacionais ou órgãos competentes para campos específicos, conforme aplicável.

Tabelas

- O texto da tabela deve ser texto em preto romano.
- Um significado especial pode ser colocado em determinados valores da tabela (por exemplo, valores-p) em negrito, itálico ou sublinhado do texto. Explique na legenda da tabela o que a formatação representa.

Figuras

- Manipulação de imagem:
- As figuras devem ser minimamente processadas / manipuladas, para adicionar rótulos, setas ou alterar o contraste (aplicado a toda a imagem inc. Controles).

- Não ajuste de forma alguma que possa levar a interpretações erradas da informação na imagem original.
- Arquivos de figuras e dados não processados devem ser mantidos para revisão editorial, mediante solicitação.
- Descrições de alterações e hardware e software usados para tirar as imagens e fazer ajustes também devem ser fornecidas.
- Manipulação inadequada de dados é motivo para retração de artigos e relatórios para os conselhos de supervisão institucionais.
- Géis, borrões e cromatogramas eletroforéticos: Use géis cortados, borrões, cromatógrafos de papel e de camada delgada, etc. em seu artigo somente se melhorar a clareza. Carregue imagens completas de géis, borrões e cromatogramas como Arquivos Suplementares se fizer isso.
- Títulos e legendas abaixo da imagem podem ser incluídos no arquivo de imagem para a primeira revisão. Títulos e legendas devem ser removidos para uma nova revisão.
- Inclua escalas, abreviaturas, limites, etc. na área gráfica da imagem.
- As legendas de figuras devem ser auto-contidas e descrever claramente a figura e seu conteúdo.
- Ao criar figuras e imagens, considere a acessibilidade dos esquemas de cores escolhidos para aqueles com visão de cores não normal. Sempre que possível, evite utilizar apenas cores para distinguir partes de imagens. Quando a cor é usada, sugerimos que você consulte os seguintes recursos para garantir acessibilidade máxima: J * FLY , Mapbox e ColorBrewer .