

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO

ESTRATÉGIAS PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS
PORTA-ENXERTO DE CITROS TOLERANTES À SECA
EM FASE INICIAL DE DESENVOLVIMENTO

LIZZIANE GOMES LEAL SANTANA

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

Agosto - 2021

ESTRATÉGIAS PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS PORTA- ENXERTO DE CITROS TOLERANTES À SECA EM FASE INICIAL DE DESENVOLVIMENTO

LIZZIANE GOMES LEAL SANTANA

Engenheira Agrônoma

Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas da Universidade Federal
do Recôncavo da Bahia, 2012

Tese submetida ao Colegiado do Curso do
Programa de Pós-graduação em Ciências
Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo
da Bahia como requisito parcial para obtenção
do Título de Doutora em Ciências Agrárias (Área
de Concentração: Fitotecnia).

Orientador: Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo

Co-orientador: Dr. Walter dos Santos Soares Filho

Co-orientador: Dr. Maurício Antonio Coelho Filho

Co-orientadora: Dra. Cláudia Fortes Ferreira

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

Agosto – 2021

FICHA CATALOGRÁFICA

S232e	<p>Santana, Lizziane Gomes Leal. Estratégias para a seleção de genótipos porta-enxerto de citros tolerantes à seca em fase inicial de desenvolvimento / Lizziane Gomes Leal Santana. – Cruz das Almas, Bahia, 2021. 98f.; il.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Doutorado em Ciências Agrárias. Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo. Coorientador: Pesquisador Walter dos Santos Soares Filho. Coorientador: Pesquisador Maurício Antonio Coelho Filho. Coorientadora: Pesquisadora Cláudia Fortes Ferreira.</p> <p>1.Citricos – Cultivo – Porta enxertos. 2.Citricos – Melhoramento genético. 3.Deficiência hídrica – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD: 634.3</p>
-------	--

Ficha elaborada pela Biblioteca Central de Cruz das Almas - UFRB.

Responsável pela Elaboração - Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).
(os dados para catalogação foram enviados pela usuária via formulário eletrônico).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO

**ESTRATÉGIAS PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS PORTA-
ENXERTO DE CITROS TOLERANTES À SECA EM FASE INICIAL
DE DESENVOLVIMENTO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE
LIZZIANE GOMES LEAL SANTANA**

Realizada em 31 de agosto de 2021

Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo
Embrapa Mandioca e Fruticultura - CNPMF
Examinador Externo (Orientador)

Dra. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno

Dr. Márcio Gilberto Cardoso Costa
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC
Examinador Externo

Dr. Yuri Caires Ramos
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno

Dra. Andresa Priscila de Souza Ramos
Embrapa Mandioca e Fruticultura - CNPMF
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

A Deus Pai, Filho e Espírito Santo, pois sem Ele nada poderia ter sido feito, como está escrito na sua palavra:

‘Sem mim nada podeis fazer’ (João 15:5b).

AGRADECIMENTOS

Aos meus filhos, Clara Leal Santana e Cauã Leal Santana, e esposo, Leone Ricardo de Carvalho Santana, que sempre me apoiaram e compreenderam os momentos que preciso me dedicar aos estudos.

À minha mãe, Célia Gomes Leal, pelo apoio sempre que preciso.

Ao Dr. Walter dos Santos Soares Filho, ao Dr. Mauricio Antônio Coelho Filho, ao Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo, a Dra. Cláudia Ferreira Fortes e ao Dr. Abelmon da Silva Gesteira, pela orientação científica.

À Mabel Souza, do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo apoio.

À Andresa Ramos, do laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo apoio.

E a todos que direta ou indiretamente me ajudaram.

SUMÁRIO

Página

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO GERAL.....1

REFERENCIAL TEÓRICO.....3

ARTIGO 1

SELEÇÃO DE PÉS-FRANCOS DE GENÓTIPOS DE CITROS TOLERANTES À SECA, EM FASE INICIAL DE DESENVOLVIMENTO.....21

ARTIGO 2

FENOTIPAGEM DE GENÓTIPOS DE CITROS VISANDO À TOLERÂNCIA À SECA..... 53

ARTIGO 3

VARIABILIDADE GENÉTICA DE MEIO-IRMÃOS OBTIDOS POR POLINIZAÇÃO ABERTA DO PARENTAL FEMININO BRS BRAVO.....77

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....100

ESTRATÉGIAS PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS PORTA-ENXERTO DE CITROS TOLERANTES À SECA EM FASE INICIAL DE DESENVOLVIMENTO

Autora: Lizziane Gomes Leal Santana

Orientador: Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo

RESUMO: A cultura dos citros é de suma importância socioeconômica, destacando-se o Brasil como líder mundial na produção de laranja-doce. A sustentabilidade da citricultura tem sido comprometida por diversas dificuldades, sobretudo por períodos intensos e prolongados de déficits hídricos, prejudiciais à produtividade. Neste sentido, o melhoramento genético de citros tem buscado a criação de variedades porta-enxerto com foco especial na tolerância à seca. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi identificar características das raízes em fase inicial de desenvolvimento que dão indicativo de tolerância à seca como estabelecimento de uma metodologia com base na fenotipagem que permite a seleção precoce de genótipos híbridos tolerantes à seca, restringindo as avaliações subsequentes. A identificação das possíveis plantas potencialmente tolerantes ao estresse hídrico reduz custo, especialmente de espaço e de tempo, dispensados nas avaliações. Para o estudo foram avaliados na condição de *seedlings* nucelares, 16 híbridos selecionados como porta-enxertos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, a saber: BRS Victoria, BRS O S Passos, BRS Bandeirante, BRS HLeão, BRS O Sempionato, BRS Pompeu, BRS Cunha Sobrinho, BRS Stuchi, BRS Bravo, BRS Donadio, BRS Matta, BRS N Gimenes Fernandes, BRS L Navarro, BRS H Montenegro, BRS S Moreira e RÍOS CASTAÑO. As variáveis biométricas estudadas na fenotipagem foram: altura da planta, número de folhas, área foliar, diâmetro do caule, massa seca final da parte aérea e da raiz, diâmetro da raiz, classes de diâmetro da raiz (LC), comprimento total da raiz (CTR), densidade de comprimento da raiz (DCR) e comprimento específico da raiz (SRL). Apesar da importância das variáveis analisadas, cabe esclarecer que os resultados não devem ser tidos como definitivos, pois os mecanismos de tolerância à seca são múltiplos, sendo importante a continuidade dos estudos para resultados conclusivos.

Palavras-chave: Fenotipagem, déficit hídrico, produtividade.

STRATEGIES FOR THE SELECTION OF DROUGHT TOLERANT CITRUS ROOTSTOCK VARIETIES DURING EARLY DEVELOPMENT

Authora: Lizziane Gomes Leal Santana

Adviser: Dr. Carlos da Silva Ledo

ABSTRACT Citrus is an important social-economic culture, whereas Brazil is considered world leader in the production of sweet oranges. Citrus culture sustainability has been hindered due to many limitations, especially long periods of drought which leads to major production losses. The Citrus Genetic Breeding Program is focused on the development of new rootstock varieties tolerant to drought. Thus, the objective of this work was to identify characteristics of roots in an initial stage of development that indicate drought tolerance as a methodology based on phenotyping that allows for early selection of drought-tolerant hybrid genotypes, restricting subsequent evaluations. The identification of plants that are potentially tolerant to water stress reduces costs, especially in terms of space and time, dispensed in the evaluations. For the study, 16 hybrids selected as rootstocks by the Citrus Genetic Improvement Program at Embrapa Mandioca e Fruticultura were evaluated for the study as nuclear seedlings, namely: BRS Victoria, BRS OS Passos, BRS Bandeirante, BRS HLeão, BRS O Sempionato, BRS Pompeu, BRS Cunha Sobrinho, BRS Stuchi, BRS Bravo, BRS Donadio, BRS Matta, BRS N Gimenes Fernandes, BRS L Navarro, BRS H Montenegro, BRS S Moreira and RÍOS CASTAÑO. The biometric variables studied for phenotyping, were: plant height, number of leaves, leaf area, stem diameter, final dry mass of aerial part and roots, classes of root diameter (CRD), total root length (TRL), root length density (DRL) and specific root length (SRL). Despite the importance of the variables analyzed, it should be clarified that the results should not be taken as definitive, as the mechanisms of tolerance to drought are multiple, and it is important to continue the studies for more conclusive results.

Keywords: Phenotyping, water deficit, productivity

INTRODUÇÃO GERAL

A diversificação de porta-enxertos que possam dividir com o limoeiro 'Cravo' (*Citrus xlimonia* Osbeck) a sustentação dos pomares brasileiros não é um trabalho simples, em razão de diversos obstáculos na obtenção de novos indivíduos, especialmente os de natureza híbrida, destacando-se: (1) alta heterozigosidade, que gera progênies com comportamento imprevisível devido à segregação de diferentes locos gênicos; (2) ocorrência de poliembrionia, comum aos citros, dificultando a identificação de híbridos; (3) longo período pré-reprodutivo (SOARES FILHO et al., 2013). No entanto, a embrionia nucelar presente nos embriões das sementes dos citros, apresenta um facilitador permitindo que os citros retornem a sua fase inicial para serem avaliados, observando características importantes das raízes que dão indicativos de tolerância à seca, através das características do sistema radicular que favorecem um melhor aproveitamento da água em condições de déficit hídrico.

Genótipos com potencial para porta-enxerto de citros, selecionados pelo programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, foram utilizados nos experimentos com o objetivo de identificar características das raízes em fase inicial de desenvolvimento que dão indicativo de tolerância à seca. Esta metodologia permite a seleção precoce de genótipos possivelmente tolerantes à seca, restringindo as avaliações subsequentes.

No experimento do primeiro capítulo foram utilizados como parentais: os híbridos trifoliolados HTR - 051 BRS Victoria (limoeiro 'Cravo' (*C. xlimonia* Osbeck) e trifoliata [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]), HTR - 053 BRS O S Passos (laranjeira 'Pera' (*C. xsinensis*) e citrange 'Yuma' [*C. xsinensis* x *P. trifoliata* (L.) Raf.]), HTR - 206 BRS Bandeirante (tangerineira 'Sunki' [*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] e citrange 'Coleman' [*C. xsinensis* x *P. trifoliata* (L.) Raf.]), e HTR - 208 BRS HLeão (tangerineira 'Sunki' comum [*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] e trifoliata 'Benecke' [*P. trifoliata* (L.) Raf.], tangerineira 'Sunki da Flórida' (TSKFL) (*C. sunki* Hort. ex Tan.) x citrumelo 'Swingle' (CTSW) [*C. xparadisi* Macfad. x *P. trifoliata* (L.) Raf.] - 004 BRS O Sempionato, tangerineira 'Sunki' Comum (TSKC) x CTSW - 028 BRS Pompeu, TSKC x CTSW - 041 BRS

Cunha Sobrinho, TSKC x limoeiro 'Cravo' comum (LCR) (*C. limonia* Osb.) x *P. trifoliata* (TR) - 017 BRS Stuchi e 059 BRS Bravo, TSKC x *P. Trifoliata* Flying-Dragon (TRFD) - 003 BRS Donadio e 006 BRS Matta, limoeiro 'Rugoso da Flórida' (LRF) (*C. jambhiri* Lush.) x (LCR x TR) - 005 BRS N Gimenes Fernandes, TSKC x citrangequat 'Tomasville' CTQT1439 (*Fortunella* sp. x (*C. sinensis* x *P. trifoliata*) - 014 BRS L Navarro, LCR x TR - 001 BRS H Montenegro, LCR x CTSW - 009 BRS S Moreira e TSK x seleção 'Benecke' de *P. Trifoliata* (TRBK) - Colômbia (CO) BRS RÍOS CASTAÑO.

Com objetivo de avaliar em fase inicial de desenvolvimento *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas de sementes) nucelares de diferentes genótipos de citros sob déficit hídrico controlado, este estudo teve por base a quantificação de variáveis biométricas que se correlacionam com a tolerância à seca. Os resultados obtidos foram comparados com os de Costa et al. (2020) referentes ao desempenho agrônômico desses mesmos indivíduos na condição de porta-enxertos, tendo como variedade copa a laranjeira Valência [*C. x sinensis* (L.) Osbeck], no Município de Colômbia, norte do Estado de São Paulo, ambiente esse sujeito a períodos anuais de intensa escassez hídrica associada a altas temperaturas.

No segundo capítulo foram utilizados os mesmos parentais do capítulo anterior com exceção dos materiais escassos no campo. Nesse capítulo foram montados dois experimentos. O primeiro experimento avaliou grupos de indivíduos dos mesmos cruzamentos com objetivo de observar qual o grupo apresentaria maior capacidade de adaptação a condições de déficit hídrico, sendo dois grupos avaliados: Grupo 1: BRS Donadio e BRS Matta e Grupo 2: BRS Stuchi e BRS Bravo, o segundo experimento avaliou os genótipos BRS N Gimenes Fernandes, BRS Matta, BRS Victoria, BRS Stuchi, BRS HLeão e BRS Bravo em tubos de maior e menor volume (capacidade de solo), 0,3 m de altura e 0,075 m de diâmetro e 0,3 m de altura e 0,050 m de diâmetro, respectivamente, com objetivo de observar se o tamanho do tubo iria interferir na qualidade dos *seedlings*, e dessa forma não havendo diferença, haveria possibilidade de produzir em tubos de menor tamanho, reduzindo assim o custo da produção.

No terceiro capítulo utilizou-se meio-irmãos obtidos por polinização aberta do parental feminino BRS Bravo genótipo superior quanto à tolerância ao déficit hídrico, com potencial uso como porta-enxerto, genótipo este que se destacou nas avaliações dos capítulos anteriores. Tendo como principal objetivo identificar as características das raízes na fase inicial de desenvolvimento dos híbridos gerados, e a frequência de híbridos tolerantes ao déficit hídrico em experimento no campo e em laboratório.

A partir das avaliações foram identificados os genótipos que apresentaram melhores características de raiz dando indicativo de tolerância à seca, podendo dessa forma reduzir o quantitativo das plantas a serem levadas a campo, diminuindo os custos, especialmente de espaço e de tempo, dispensados nas avaliações.

REFERENCIAL TEÓRICO

1- ORIGEM, CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA E IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA DOS CITROS

A família Rutaceae reúne os gêneros *Citrus* (L.) e afins. Dentre estes se destacam *Poncirus* (Raf.), *Fortunella* (Swingle), *Microcitrus* (Swingle) e *Eremocitrus* (Swingle). *Citrus* compreende as principais espécies cultivadas, notadamente *C. xsinensis* (L.) Osbeck (laranjeiras-doces), *C. reticulata* Blanco, *C. deliciosa* Ten. e *C. unshiu* Marcow. (tangerineiras), *C. xlatifolia* (Yu. Tanaka) Tanaka e *C. xaurantiifolia* (Christm) Swingle (limeiras-ácidas), *C. xlimettioides* Tanaka (limeiras-doces), *C. xlimon* (L.) Burm. f. (limões-verdadeiros), *C. xparadisi* Macfad. (pomeleiros), *C. medica* L. (cidreiras), *C. maxima* (Burm) Merr. (toranjeiras) e *C. xaurantium* L. (laranjeiras-azedas) (LOPES et al., 2011). Estas, em sua maioria, originaram-se em regiões tropicais e subtropicais da Ásia e do arquipélago Malaio, de onde se dispersaram para outras partes do mundo, chegando às Américas no final do século XV. A partir de seus centros de origem, os citros difundiram-se, passando a ser cultivados em todas as áreas tropicais e subtropicais favoráveis à cultura. Apesar da ampla capacidade

de adaptação, as principais áreas produtoras localizam-se em regiões subtropicais, em latitudes superiores a 20°N e inferiores a 20°S (CUNHA SOBRINHO et al., 2013).

Líder mundial, a citricultura brasileira vem se destacando ao longo dos anos com o crescimento socioeconômico na geração de empregos diretos e indiretos na área rural, o que tem contribuído com o aumento da balança comercial nacional (LOPES et al., 2011). O Brasil destaca-se como primeiro produtor mundial de laranjas-doces, com produção de 16.713.534 toneladas em 2019 e maior exportador de suco concentrado congelado de laranja, sendo a Bahia o quarto maior produtor de laranja do país, com 4% da produção brasileira, superada pelos estados de São Paulo, que detém 77%, seguido de Minas Gerais 6% e Paraná com 5%. O Estado de São Paulo produziu 12.889.878 toneladas de laranja na safra de 2018 e a Bahia 604.023 toneladas, sendo o município de Rio Real o principal produtor baiano, com 260.000 toneladas (IBGE, 2019).

No entanto apesar da sua importância, a citricultura tem enfrentado grandes desafios, dentre eles a vulnerabilidade devida à presença marcante da combinação laranjeira 'Pera' (*C. x sinensis*) / limoeiro 'Cravo' (*C. x limonia* Osbeck) na sustentação dos pomares, sendo necessária a diversificação de variedades porta-enxerto (ALMEIDA e PASSOS, 2011).

A diversificação de porta-enxertos, que possam dividir com o limoeiro 'Cravo', a sustentação dos pomares brasileiros, não é um trabalho simples, em razão de diversos obstáculos na obtenção de novos indivíduos, especialmente os de natureza híbrida, destacando-se: (1) alta heterozigosidade, que gera progênes com comportamento imprevisível devido à segregação de diferentes locos gênicos; (2) ocorrência de poliembrionia, comum aos citros, dificultando identificação de híbridos; (3) longo período pré-reprodutivo (SOARES FILHO et al., 2013).

2- IMPORTÂNCIA DO PORTA-ENXERTO PARA A CITRICULTURA

A variedade porta-enxerto exerce grande influência sobre a variedade copa. Assim, a criteriosa escolha de ambas é importante, uma vez que importantes características agrônômicas são determinadas pela interação entre a copa e o porta-enxerto. Dentre as diversas características relacionadas ao porta-enxerto estão aquelas relativas à tolerância a estresses ambientais, bióticos e abióticos (BASTOS et al., 2014), assim como as referentes ao vigor da combinação copa/porta-enxerto, produtividade, precocidade de produção e qualidade do fruto, dentre outras (POMPEU JUNIOR, 2005).

A variabilidade genética existente entre cultivares porta-enxerto é relativamente expressiva, conforme se verifica pela disponibilidade dos limoeiros Cravo, Rugoso (*C. xjambhiri* Lush.) e Volkameriano [*C. xvolkameriana* (Risso) V. Ten. & Pasq.], das tangerineiras Cleópatra (*C. reshni* hort. ex Tanaka) e Sunki [*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka], dos citrumelos (*C. xparadisi* x *P. trifoliata*) Sacaton e Swingle, dos citranges Carrizo, Rusk, Troyer e Yuma, dos citrandarins Indio, Riverside, San Diego (obtidos do cruzamento *C. sunki* x *P. trifoliata*) e IAC 1710 (obtido do cruzamento *C. reticulata* x *P. trifoliata*), do Trifoliata. A seleção Flying Dragon se destaca, entre outras cultivares. No entanto nas principais regiões citrícolas do Brasil ainda predominam poucas variedades porta-enxerto, levando à vulnerabilidade da citricultura (BASTOS et al., 2014). Os diversos porta-enxertos apresentam capacidade de adaptação às mais distintas condições edafoclimáticas, o que permite ao produtor selecioná-los em função de sua necessidade, preservando as características fundamentais das copas desejadas (CARLOS et al., 1997).

Para a diversificação do uso de porta-enxertos é interessante que as variedades tenham um bom rendimento de sementes, apresentando alta poliembrionia, germinação satisfatória e que as plantas resultantes tenham um bom vigor (MOREIRA et al., 2010). O vigor do porta-enxerto pode estar associado ao número de embriões por semente e a altas porcentagens de poliembrionia, pois a presença de vários embriões numa mesma semente pode dificultar a sobrevivência do embrião zigótico (de origem híbrida), favorecendo

a daqueles de origem nucelar, geneticamente correspondentes à variedade porta-enxerto que se pretende multiplicar (SOARES FILHO et al., 2002).

Soares Filho et al. (2000) constataram, em cruzamentos controlados, utilizando parentais femininos com diferentes graus de poliembrionia, que o embrião zigótico tende a encontrar-se no grupo de embriões de maior tamanho, sendo que quanto menor for o grau de poliembrionia do parental feminino empregado, maior será o tamanho do embrião de origem híbrida. Esta conclusão corroborada a de Soares Filho et al. (2014), onde verificou-se que a utilização de parentais femininos cujas sementes apresentaram baixo grau de poliembrionia resultou, em cruzamentos controlados, em maiores quantidades de híbridos em comparação com situações em que tais parentais possuíam graus de poliembrionia mais elevados em suas sementes.

A taxa de poliembrionia é um caráter de extrema importância na escolha de um porta-enxerto comercial, pois quanto mais elevada maior será a chance, a partir da germinação das sementes de formação de indivíduos de origem nucelar, que correspondem à variedade porta-enxerto que se pretende multiplicar (SOARES FILHO et al., 2002; PASSOS, 2006; OLIVEIRA, et al., 2008).

3- DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM CITROS

Embora a citricultura do Nordeste brasileiro tenha importante expressão socioeconômica em nível nacional, sua produtividade é baixa na grande unidade de Paisagem Tabuleiros Costeiros, onde os pomares estão concentrados, principalmente em razão de déficits hídricos que ocorrem de maneira mais acentuada nos meses de novembro a março, os mais quentes do ano nesta região (PEIXOTO et al., 2006). Nesse ambiente o período chuvoso se dá no inverno, notadamente entre junho e agosto, sendo a distribuição das chuvas irregulares ao longo do resto do ano (COELHO et al., 2006).

Os Tabuleiros Costeiros caracterizam-se por possuir solos pobres, com horizontes coesos e pouca capacidade de armazenamento de água, que levam à formação de sistemas radiculares pouco profundos, tornando as plantas mais vulneráveis ao déficit hídrico (PEIXOTO et al., 2006; PEREIRA et al., 2012).

Essa grande unidade de paisagem ocupa quase toda a faixa costeira, desde ao Amapá até o Rio de Janeiro, alcançando o Vale do Rio Paraíba do Sul no Estado de São Paulo (REZENDE, 2000).

Assim, a citricultura dos Tabuleiros Costeiros carece da disponibilidade de porta-enxertos tolerante à seca, que possuam diversidade de respostas à deficiência hídrica, de forma a garantir sua sustentabilidade (SUASSUNA et al., 2012). Os limoeiros 'Cravo' e 'Rugoso', utilizados nessa região, assim como o 'Volkameriano', apesar de tolerantes à seca, têm sua longevidade comprometida pelo declínio-dos-citros, o que implica na necessidade de uso de outros porta-enxertos.

De acordo com Gheyi et al. (2012) a região Nordeste caracteriza-se por possuir, em boa parte de sua área territorial, clima semiárido, onde o cultivo irrigado é indispensável. No entanto, o problema de indisponibilidade hídrica agrava-se pela escassez de água proveniente do balanço negativo da evapotranspiração em relação à precipitação.

Diversas variáveis fisiológicas podem ser utilizadas na avaliação das respostas de espécies vegetais ao déficit hídrico, destacando-se entre elas o potencial hídrico foliar, a condutância estomática e a transpiração (CERQUEIRA et al., 2004). Estudos conduzidos em condições controladas com o objetivo de selecionar porta-enxertos com bom desempenho em situação de déficit hídrico podem caracterizar os mecanismos de resposta utilizados pelos diferentes genótipos (KRASENSKY e JONAK, 2012).

O déficit hídrico é um dos mais importantes fatores ambientais que inibem a fotossíntese e diminuem o crescimento e a produtividade das plantas. É uma das principais causas da perda de culturas em todo o mundo, reduzindo os rendimentos médios da maioria das principais plantas cultivadas em mais de 50% (WANG et al., 2003). Ocorre em grandes áreas cultiváveis, ocupando posição de destaque entre os fatores que limitam a produção vegetal, pois além de afetar as relações hídricas nas plantas, também altera seu metabolismo (NOGUEIRA et al., 2001).

Diante da importância do déficit hídrico na produção agrícola e, portanto, na citricultura, faz-se necessária a seleção de variedades porta-enxerto adaptadas ao convívio com esse estresse abiótico, e que determinem alta produtividade e qualidade de frutos às variedades copa. Assim, ampliando a base genética dos pomares, garantindo a sustentabilidade da citricultura, especialmente nos tempos atuais de expressivas mudanças climáticas, que têm potencializado os efeitos negativos de altas temperaturas associadas a elevados níveis de escassez hídrica.

4- BREVE HISTÓRICO DO MELHORAMENTO GENÉTICO DE CITROS

Em nível Mundial, programas de melhoramento genético de citros têm sido conduzidos por um limitado número de instituições (SOARES FILHO et al., 2013). Segundo Soost e Roose (1996), o primeiro programa piloto teve início em 1893, na Flórida, coordenado pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos - *United States Department of Agriculture (USDA)*, tendo como principal objetivo o controle de doenças. Espécies de *Fortunella*, comumente conhecidas como *kumquat*, foram igualmente exploradas em hibridações, devido à sua extraordinária tolerância ao frio. Híbridos entre *kumquat* e *Poncirus trifoliata*, denominados citrumquats, não se mostraram promissores, porém cruzamentos com citranges (*C. xsinensis* x *P. trifoliata*), que deram formação a citrangequats, apresentaram maiores possibilidades de êxito. Igualmente se deu em relação aos limequats, estes últimos resultantes de cruzamentos entre *Fortunella* e limeiras, doces (*C. xlimettioides*; *C. xlimetta* Risso) e ácidas (*C. xaurantiifolia*).

Em 1942, em Orlando na Flórida, foram realizados vários cruzamentos, dentre eles tangerineira 'Clementina' (*C. xclementina* hort. ex Tanaka) x tangelo 'Orlando' (*C. xparadisi* x *C. tangerina* hort. ex Tanaka), produzindo vários híbridos promissores (BASTOS et al., 2014). A primeira cultivar, de maturação muito precoce, foi largamente plantada na Flórida. Extensivos trabalhos foram realizados pelo programa de melhoramento genético realizado pelo USDA, objetivando a resistência à gomose-de-*Phytophthora*, a tolerância ao cloro, além de ações conduzidas à tolerância ao frio, envolvendo como fontes de tolerância-resistência os gêneros *Eremocitrus*, *Fortunella* e *Poncirus*.

A resistência-tolerância ao vírus-da-tristeza-dos-citros (*Citrus tristeza virus* - CTV) e a resistência a nematoides, como o cavernícola [*Radopholus similis* (Cobb) Thorne], também têm sido visadas. Muitos avanços foram obtidos principalmente nos Estados Unidos, Japão, China, Espanha, Brasil, dentre outros (OLIVEIRA et al., 2014).

No Japão em 1987 para promover o melhoramento genético dos citros foi iniciado a utilização de ferramentas e recursos experimentais necessários para a genômica funcional dos citros, onde foram desenvolvidas em relação às análises fisiológicas da tangerineira 'Satsuma'. O Japão está localizado a leste da localização de distribuição natural dos cítrios, e existem duas espécies endêmicas: tachibana (*Citrus tachibana* Tanaka) e shiikuwasha (*C. depressa* Hayata). Muitos tipos de citros foram introduzidos ou migrados naturalmente ao Japão durante as idades pré-históricas e idades históricas, ou ocorreram como híbridos naturais. Estes foram amplamente cultivado na região costeira do sudoeste do Japão, incluindo tangerineira 'Satsuma', kinokuni (*C. kinokuni* hort. Ex Tanaka), kunenbo (*C. nobilis* Lour.), Iyo (*C. iyo* hort. Ex. Tanaka), natsudaidai (*C. natsudaidai* Hayata), hassaku (*C. hassaku* hort. Ex Tanaka), hyuga-natsu (*C. tamurana* hort. ex Tanaka) e yuzu (*C. junos* Sieb. ex Tanaka). Usando esses recursos genéticos, a citricultura desenvolveu-se por meio de reprodução por hibridização cruzada e seleção, bem como melhoria da gestão da cultura (OMURA And SHIMADA, 2016).

No Brasil, ações preliminares relacionadas ao melhoramento genético de citros ocorreram por volta de 1920, na Estação Experimental de Limeira, posteriormente denominada Centro de Citricultura Sylvio Moreira, e atual Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Citros Sylvio Moreira, vinculado ao Instituto Agrônomo (IAC) em Campinas, SP. Em 1930 iniciaram os primeiros experimentos dessa instituição pioneira em pesquisas com citros no País (TEÓFILO SOBRINHO, 1997), estabelecendo uma coleção de variedades, que atualmente reúne cerca de 1.700 acessos, representantes de *Citrus* e gêneros afins. Com base nesse germoplasma, estudos de competição de variedades, copas e porta-enxertos, deram apoio à potente citricultura paulista, hoje a maior do mundo na produção de laranjas-doces,

tendo, também, importante participação no desenvolvimento e sustentação da citricultura brasileira (SOARES FILHO et al., 2013).

A Universidade de São Paulo (USP) tem apresentado importantes contribuições ao melhoramento genético dos citros, por meio das pesquisas realizadas na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq) e no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (Cena), destacando-se a criação de clones sem sementes de variedades copa tradicionais, a obtenção de híbridos somáticos de variedades porta-enxerto, a criação de variedades transgênicas resistentes a patógenos altamente destrutivos, com foco em bactérias causadoras da clorose-variegada-dos-citros (*Xylella fastidiosa*), cancro-cítrico (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*) e *huanglongbing* (HLB, *ex-greening*, *Candidatus liberibacter* spp.) (OLIVEIRA et al., 2013).

No Nordeste brasileiro, em 1950 tiveram início às primeiras ações de pesquisa com citros por meio do Ministério de Agricultura, contando com o apoio do engenheiro agrônomo Renato Gonçalves Martins do Instituto Agrônomo do Leste (IAL), no Município de Cruz das Almas, Recôncavo Baiano. Foram introduzidas variedades comerciais e obtidos clones nucelares de laranja 'Bahia' (*C. xsinensis*), principal variedade copa da citricultura à época. Em 1961 após diagnósticos realizados, intenso programa de pesquisas foi iniciado no Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuária do Leste (Ipeal), sucessor do IAL, com a missão de atuação estendida ao Estado de Sergipe, momento em que a citricultura começava a insinuar-se como atividade econômica na região. Com o estabelecimento de ampla coleção de cultivares e de um programa de obtenção de clones nucelares e distribuição de clones de variedades superiores sob o ponto de vista horticultural, em substituição daqueles tradicionalmente utilizados, resultados positivos passaram a ser alcançados junto aos citricultores, triplicando-se, entre 1967 e 1970, o número de borbulhas certificadas. A partir de 1972, o clone 'Pera IPEAL D6' torna-se, praticamente, a única fonte de material propagativo dessa variedade de laranja doce nas regiões Nordeste e Norte do País, atingindo-se a distribuição de aproximadamente um milhão de borbulhas na década de 1970 (SOARES FILHO et al., 2013).

Em 1972, com o surgimento da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), sua unidade descentralizada, Embrapa Mandioca e Fruticultura assume os trabalhos que vinham sendo conduzidos pelo Ipeal com a cultura dos citros, dando continuidade a ações de diversificação de variedades, copas e porta-enxertos, devido à concentração dos pomares brasileiros na exploração da combinação laranjeira 'Pera' / limoeiro 'Cravo', ainda predominante nas regiões Norte e Nordeste (SOARES FILHO et al., 2013).

Em 1988 a Embrapa Mandioca e Fruticultura visando à criação de novas variedades, melhor adaptadas aos trópicos, iniciou um programa de hibridações, tendo por base seu Banco Ativo de Germoplasma de Citros, com grande variabilidade genética, representada por um conjunto de cerca de 750 acessos. Tendo como objetivos principais a seleção de porta-enxertos resistentes-tolerantes à tristeza-dos-citros, à gomose-de-*Phytophthora*, ao declínio e à morte-súbita-dos-citros, assim como tolerantes à seca e à salinidade, além de portadores de características que favoreçam o convívio da citricultura com o HLB (SOARES FILHO et al., 2013).

Milhares de híbridos vêm sendo gerados em cruzamentos envolvendo limoeiros (diversas espécies), laranjeiras doces e azedas, tangerineiras (diversas espécies), *P. trifoliata* e híbridos desta espécie, principalmente. Avaliações preliminares têm compreendido indivíduos sob a forma de *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas de sementes), sendo aqueles selecionados como promissores, com a finalidade de uso como porta-enxertos, posteriormente estudados em combinação com diversas variedades copa de interesse comercial, compondo experimentos em diferentes ecossistemas, em nível nacional (OLIVEIRA et al., 2014).

Em relação à obtenção de porta-enxertos híbridos, entre os parentais femininos tem se destacado a tangerineira 'Sunki' [*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka], em razão da relativamente alta porcentagem de pegamento de frutos em cruzamentos e boa capacidade de combinação com diversos parentais masculinos, possibilitando a geração de elevada quantidade de híbridos (SOARES FILHO et al., 2013).

Apesar dos citros apresentarem grande diversidade de gêneros, espécies, cultivares e clones, o número de variedades porta-enxerto ainda é restrito, sendo de fundamental importância o aumento da base genética dos pomares brasileiros, buscando maior sustentabilidade da cadeia produtiva (OLIVEIRA et al., 2014).

5- MARCADOR MOLECULAR BASEADO EM REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR): MICROSSATÉLITES (SSR - *SIMPLE SEQUENCE REPEAT*)

Os marcadores moleculares vêm sendo utilizados como importante ferramenta nos programas de melhoramento genético de plantas. Podem ser usados em estudos de diversidade genética, caracterização de variedades, híbridos ou linhagens para auxiliar na contestação de cultivares, mapeamento genético e seleção assistida por marcadores (SAM). O uso de marcadores de DNA aumenta a eficiência na seleção de genótipos de interesse e proporcionam maiores ganhos genéticos em menor espaço de tempo (SILVA, 2012).

Um dos marcadores mais favorecidos com os avanços em técnicas de sequenciamento em larga escala são os microssatélites (*Simple Sequence Repeat* - SSR). Esses baseiam-se na amplificação por PCR de regiões específicas do genoma, usando um par de *primers*-locus específico, e apresentam maior nível de polimorfismo quando comparados a outros sistemas de marcadores atualmente empregados (ZANELLA et al., 2017).

Os microssatélites ou SSRs são um grupo de marcadores que consistem de pequenas sequências de 1 a 6 pares de base repetidas em tandem, largamente distribuídos nos genomas de procariotos e eucariotos, encontrados em regiões codificadoras e não codificadoras do genoma (ZANE et al., 2002). Os microssatélites podem ser encontrados na forma de mononucleotídeo (A), dinucleotídeo (GT), trinucleotídeo (ATT), tetranucleotídeo (ATCG), pentanucleotídeo (TAATC) e hexanucleotídeo (TGTGCA) (WEBER, 1990).

A ocorrência de SSRs pode ser devida ao *slippage* (“escorregão” da DNA polimerase II durante a replicação) que leva à formação das repetições em tandem (NADEEM et al., 2017).

Os marcadores microssatélites possuem várias vantagens, pois são considerados robustos (SENAN et al., 2014) e ganharam uma importância considerável na genética devido a muitos atributos desejáveis (PARIDA et al., 2009), sendo considerados um sistema de marcador mais informativo que o RADP (*Random Amplified Polymorphism DNA* - Polimorfismo do DNA Amplificado ao Acaso) e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism* – Polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado). Por outro lado, a desvantagem desta técnica é a necessidade de uso de sequenciamento do genoma para seu desenvolvimento (KALIA et al. 2011, FERRÃO et al., 2013).

Os marcadores SSR são uma ferramenta adequada e importante em genética vegetal, pois são co-dominantes (capazes de separar indivíduos homocigotos de heterocigotos), com alta reprodutibilidade, grande abundância no genoma, e de natureza multialélica (OLIVEIRA et al., 2006).

Os marcadores SSR continuarão a desempenhar um papel importante em diferentes estudos genéticos em muitas espécies de plantas menos estudadas (AL-SAMARAI E AL- KAZA, 2015). Medrano et al. (2018) identificaram híbridos de limeira-ácida ‘Galego’ (*C. xaurantiifolia*) mediante análise de marcadores moleculares SSR, sugerindo que tais marcadores podem contribuir significativamente em programas de melhoramento genético de citros.

Em citros e em outros programas de melhoramento de plantas lenhoso, o uso de polimorfismos de DNA para a identificação de plantas híbridas é importante, pois acelera o método de detecção de progênies (MEDRANO et al., 2018). Recentemente vários estudos foram descritos usando marcadores SSR como método alternativo para diferenciar *seedlings* nucelares e híbridos em citros (SHAREEFA ET AL., 2009).

A técnica de PCR por microssatélites foi utilizada nesse trabalho com o objetivo de identificar plantas híbridas provenientes de sementes do híbrido BRS Bravo, obtidas por polinização aberta. O referido híbrido resultou de cruzamento utilizando a tangerineira 'Sunki' (TSKC) como parental feminino, tendo como parental masculino um híbrido de limoeiro 'Cravo' (LCR) com 'Trifoliata' (TR). Foi inscrito no Registro Nacional de Cultivares (RNC) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) com a denominação BRS Bravo. Trata-se de variedade porta-enxerto tolerante à seca, com grande potencial de uso pela citricultura brasileira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-SAMARAI, F.R.; AL-KAZA, A.A. Molecular Markers: an Introduction and Applications. **European Journal of Molecular Biotechnology**, v. 9, n. 3, p. 118-130, 2015.

ALMEIDA, C.O.; PASSOS, O.S. Citricultura brasileira em busca de novos rumos: Desafios e oportunidades na região nordeste. **Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura**, p 145, 2011.

BASTOS, D.B.; FERREIRA, E.A.; PASSOS, O.S.; SÁ, J.F.; ATAÍDE, E.M.; CALGARO, M. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 35, n. 281, p. 36-45, 2014.

CERQUEIRA, E.C.; NETO, M.T.C.; PEIXOTO, C.P.; SOARES FILHO, W.S.; LEDO, C.A.S.; OLIVEIRA, J.G. Resposta de porta-enxertos de citros ao déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 26, n. 3, p. 515-519, 2004.

CARLOS, E.F.; STUCHI, E.S.; DONADIO, L.C. Porta-enxertos para citricultura paulista. Jaboticabal: **FUNEP**, 1997.p. 47. (Boletim Citrícola, 1).

COELHO, E.F.; COELHO FILHO, M.A., SIMÕES, W.L.; COELHO, Y.S. IRRIGAÇÃO em citros nas condições do nordeste do Brasil. **Laranja**, v. 27, n. 2, p. 297-320, 2006.

CUNHA SOBRINHO, A. P. da.; PASSOS, O. S.; SOARES FILHO, W. dos S.; GIRARDI, E. A. Propagação. In: CUNHA SOBRINHO, A. P. da; MAGALHÃES, A. F. de J.; SOUZA, A. da S.; PASSOS, O. S.; SOARES FILHO, W. dos S. **Cultura dos citros**. Brasília, DF: Embrapa, p. 321-346. Cap. 11, 2013.

FERRÃO, L.F.V.; CAIXETA, E.T.; SOUZA, F.de F.; ZAMBOLIM, E.M.; CRUZ, C.D.; ZAMBOLIM, L.E.; SAKIYAMA, N.S. Comparative study of different molecular markers for classifying and establishing genetic relationships in *Coffea canephora*. **Plant Systematics and Evolution**, v. 299, p. 225–238, 2013.

GHEYI, R.H.; PAZ, V.P.S.; MEDEIROS, S.S.; GALVÃO, C.O. Recursos hídricos em regiões semiáridas. Campina Grande, **PB: Instituto Nacional do Semiárido**, Cruz das Almas, BA: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, p. 258, 2012.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Ministério da Agricultura**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 30/09/2019.

KALIA, R.K.; RAI, M.K.; KALIA, S.; Singh, R.; Dhawan, A.K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v. 177, n. 3, p. 309–334, 2011.

KRASENSKY, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 4, p. 1593-1608, 2012.

LOPES, J.M.S.; DÉO, T.F.G.; ANDRADE, B.J.M.; GIROTO, M.; FELIPE, A.L.S.; JUNIOR, C.E.I.; BUENO, C.E.M. S.; SILVA, T.F.; LIMA, F.C.C. Importância econômica do citros no Brasil. **Revista Científica Eletrônica De Agronomia**, Ano X – Número 20 – Dezembro de 2011 – Periódico Semestral.

MEDRANO, S.H.C; ESPINOSA, M.A.G; GONZÁLEZ, M.M.R; IZQUIERDO, S.C. Identification of Mexican lemon hybrids using molecular markers SSR. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, Texcoco, v. 9, n.1, 2018.

MOREIRA, R.A.; RAMOS, J.D.; CRUZ, M.C.M. caracterização de frutos e poliembrionia em sementes de 'flying dragon' e de híbridos de porta-enxerto de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 2, p. 486-492, Junho 2010.

NADEEM, M.A.; NAWAZ, M.A.; SHAHID, M.Q.; DOĞAN, Y.; COMERTPAY, G.; YILDIZ, M.; HATIPOĞLU, R.; AHMAD, F.; ALSALEH, A.; LABHANE, N.; ÖZKAN, H.; CHUNG, G e BALOCH, F.S. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 32, n. 2, p. 261-285, 2017.

NOGUEIRA, R.J M.C.; MORAES, J.A.P.V.; BURITY, H.A. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleira submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n.1, p. 75-87, 2001.

OLIVEIRA, E.J.; Pádua, J.G.; Zucchi, M.I.; Vencovsky, R and Vieira, M.L.C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 2, p. 294-307, 2006.

OLIVEIRA, R.P.; SOARES FILHO, W. dos S.; PASSOS, O.S.; SCIVITTARO, W.S.; ROCHA, P.S.G. da. **Porta-enxertos para citros**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 45, n. 226, 2008.

OLIVEIRA, R.P. de. Biologia molecular. In: CUNHA SOBRINHO, A.P.; MAGALHÃES, A.F. de J.; SOUZA, A. da S.; PASSOS, O.S.; SOARES FILHO, W. dos S. **Cultura dos citros**. Brasília: Embrapa Mandioca e Fruticultura, v.1, cap. 6, p.161-172, 2013.

OLIVEIRA, R.P.; SOARES FILHO, W. dos S.; MACHADO, M.A.; FERREIRA, E.A.; SCIVITTARO, W.B.E.; GESTEIRA, A.S. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 35, n. 281, p. 22-29, 2014.

OMURA, M And SHIMADA, T. Citrus breeding, genetics and genomics in Japan. *Breeding Science*, v. 66, n. 3–17, 2016.

PASSOS, O.S.; PEIXOTO, L.S.; SANTOS, L.C.; CALDAS, R.C.; SOARES FILHO, W. dos S. Caracterização de híbridos de *Poncirus trifoliata* e de outros porta-enxertos de citros no Estado da Bahia. **Revista Brasileira Fruticultura, Jaboticabal**, v. 28, n. 3, p. 410-413, 2006.

PARIDA, S.K.; KALIA, S.K.; SUNITA, K.; DALAL, V.; HEMAPRABHA, G.; SELVIA, P.A.; SINGH, A.; GAIKWAD, K.; SHARMA, T R.; SRIVASTAVAPS, S. N.K.; MOHAPATRA, T. Informative genomicmicrosatellite markers for efficient

genotyping applications in sugarcane. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, p. 327–338, 2009.

PEIXOTO, C.P.; CERQUEIRA, E. C.; SOARES FILHO, W. dos S.; CASTRO NETO, M.T.; LEDO, C.A.S.; MATOS, F.S.; OLIVEIRA, J.G. Análise de crescimento de diferentes genótipos de citros cultivados sob déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 439-443, 2006.

PEREIRA, V.H.C.; CESTARO, L.A.A. Unidade geoambiental tabuleiro costeiro e o planejamento municipal: o caso de senador Georgino Avelino/RN. **Revista Geonorte**, Edição Especial, n. 3, n. 4, p. 390-401, 2012.

POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In: CITROS. (Ed. Dirceu Matos Junior, José Dagoberto de Negri, Rose Mary Pio e Jorgino Pompeu Júnior. Campinas, **Instituto Agronômico e Fundag**, p. 63-104. 2005.

REZENDE, J. de O. Solos coesos dos tabuleiros costeiros: limitações agrícolas e manejo. Salvador: SEAGRI –SPA, p. 117, 2000. (**Série Estudos Agrícolas**, 1).

SHAREEFA, M.; SINGH, A.K.; MANISH, S. AND DUBEY, A.K. Differentiation of nucellar and zygotic seedlings in citrus using ISSR markers. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 79, p. 884-889, 2009.

SENAN, S.; KIZHAKAYIL, D.; SASIKUMAR, B.; SHEEJA, T.E. Methods for Development of Microsatellite Markers: An Overview. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 6, n. 1, p. 1-13. 52, 2014.

SILVA, A.V.C I. Ciclo de Palestras sobre Uso de Marcadores Moleculares na Pesquisa Agropecuária, Aracaju, SE, Brasil, 26 e 27 de novembro de 2012 – **Brasília, DF**: Embrapa, 2012.1 CD-ROM.

SOOST, R.K.; ROOSE, M.L. Citrus. In: JANICK, J.; MOORE, J.N. (Ed.). Fruit breeding: tree and tropical fruits. **New York**, v. 1, cap. 6, p. 257-323, 1996.

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

SOARES FILHO, W.dos S.; MEDRADO, A.C.de M.; CUNHA, M.A.P.da; CUNHA SOBRINHO, A.P.da; PASSOS, O.S. Frequência de híbridos em cruzamentos controlados de citros: cultivo de sementes versus cultivo in vitro de embriões. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n.7, p. 981-988, 2002.

SOARES FILHO, W.dos S.; CUNHA SOBRINHO, A.P.da.; PASSOS, O.S.; SOUZA, A.da S. **Melhoramento genético**. In: CUNHA SOBRINHO A. P. da; MAGALHÃES, A.F.de J.; SOUZA, A. da S.; PASSOS, O.S.; SOARES FILHO, W.dos S. (ed.). Cultura dos citros. Embrapa, Brasília, DF: Embrapa, v. 1, p. 61-102, 2013.

SOARES FILHO, W.DOS S.; SOUZA, U.; LEDO, C.A. da S.; SANTANA, L.G.L.; PASSOS, O.S. Poliembrião e potencial de obtenção de híbridos em citros. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 4, p.950-956, 2014.

SUASSUNA, J.F., FERNANDES, P.D., NASCIMENTO, R. do; OLIVEIRA, A. C. M. de; BRITO, K. S. A de AND MELO, A.S. de. Produção de fitomassa em genótipos de citros submetidos a estresse hídrico na formação do porta-enxerto. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n.1 2, p. 1305–1313, 2012.

TEÓFILO SOBRINHO, J. Centro de Citricultura “Sylvio Moreira”: resultados de um trabalho de integração com a cadeia produtiva dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 18, n. 1, p. 189-204, 1997.

WANG, W.; VINO CUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, v. 218, p. 1-14, 2003.

WEBER, J.L. Informativeness of human (dC-dA) n·(dG-dT) n polymorphisms. **Genomics**, v. 7, p. 524–530, 1990.

ZANE, L.; BARGELLONI, L.; PARTANELLO, T. Strategies for microsatellite isolation: a review. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2002.

ZANELLA, C.M.; TURCHETTO-ZOLET, A.C.; TURCHETTO, C.; PASSAIA, G. Marcadores Moleculares na Era genômica: Metodologias e Aplicações. Ribeirão Preto: **Sociedade Brasileira de Genética**, p. 181, 2017.

ARTIGO 1

SELEÇÃO DE PÉS-FRANCOS DE GENÓTIPOS DE CITROS TOLERANTES À SECA, EM FASE INICIAL DE DESENVOLVIMENTO

SELEÇÃO DE PÉS-FRANCOS DE GENÓTIPOS DE CITROS TOLERANTES À SECA EM FASE INICIAL DE DESENVOLVIMENTO

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo avaliar em fase inicial de desenvolvimento, *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas de sementes) nucelares de diferentes genótipos de citros sob déficit hídrico controlado, tendo por base a quantificação de variáveis biométricas que se correlacionam com a tolerância à seca. O estudo compreendeu 16 híbridos selecionados pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, a citar: BRS Victoria, BRS O S Passos, BRS Bandeirante, BRS HLeão, BRS O Sempionato, BRS Pompeu, BRS Cunha Sobrinho, BRS Stuchi, BRS Donadio, BRS Matta, BRS N Gimenes Fernandes, BRS L Navarro, BRS H Montenegro, BRS S Moreira e RÍOS CASTAÑO, tendo BRS Bravo como testemunha. O trabalho foi conduzido em ambiente protegido e controlado (FITOTEC). Observando-se um manejo de água com déficit hídrico, foram avaliadas as seguintes variáveis: altura da planta (ALT), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), área foliar (AF), massa seca da raiz (MSR) e da parte aérea (MSPA), MSR/MSPA, comprimento total de raiz (CTR), densidade de comprimento de raiz ($DCR = CTR/\text{volume da amostra}$), comprimento específico de raiz ($SRL = CTR/MSR$), diâmetro de raiz (DR) e classes de diâmetro de raiz (LC) antes e após o déficit. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e o teste de Dunnett em 5% de probabilidade e à análise multivariada. Foram realizadas correlações entre as variáveis analisadas, construindo-se uma matriz de correlação por meio do programa estatístico R. As variáveis que mais contribuíram para a identificação dos genótipos superiores como BRS Bravo, BRS N Gimenes Fernandes e RÍOS CASTAÑO foram: CTR, DCR e SRL. A variável classe de diâmetro LC5 foi a única que apresentou uma correlação alta com a variável do campo, tolerância à seca.

Palavras-chave: Fenotipagem, déficit hídrico, porta-enxerto, *Citrus* spp., *Poncirus trifoliata*.

SELECTION OF DROUGHT-TOLERANT CITRUS GENOTYPES IN THE EARLY STAGE OF DEVELOPMENT

ABSTRACT: Citrus nucellar genotypes originated from seedlings with potential use as rootstocks during early stage of development and presenting phenotypic characteristics for water deficit tolerance, were identified. The study comprised of 16 hybrids selected from the Citrus Breeding Program at Embrapa Mandioca e Fruticultura, as follows: BRS Victoria, BRS O S Passos, BRS Bandeirante, BRS HLeão, BRS O Sempionato, BRS Pompeu, BRS Cunha Sobrinho, BRS Stuchi, BRS Bravo, BRS Donadio, BRS Matta, BRS N Gimenes Fernandes, BRS L Navarro, BRS H Montenegro, BRS S Moreira and RÍOS CASTAÑO. The study was conducted under protected and controlled environment (FITOTEC) with water and water deficit management, whereas the following variables were measured: plant height (PH), stem diameter (SD), number of leaves (NL), leaf area (LA), root dry matter (RDM), dry matter of aerial part (DMAP), total root length (TRL), density of root length (DRL), specific root length (SRL) and classes of root diameter (CRD) before and after the water deficit imposition. The experimental design was in complete randomized blocks with five replicates. Results were submitted to the analysis of variance by the Dunnett's test at 5% probability and multivariate analysis. Correlations between the variables analyzed were carried out by a correlation matrix obtained using the *corrgram* package in the R software (Core Development Team, 2018). The variables that most contributed to the identification of superior genotypes, BRS Bravo, BRS N Gimenes Fernandes and RÍOS CASTAÑO were: CTR, DCR and SRL. The LC5 diameter class variable was the only one that showed a high correlation with the field variable, drought tolerance.

Key words: Phenotyping, water deficit, rootstock, Citrus spp., *Poncirus trifoliata*

INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas, caracterizadas por períodos expressivos de escassez hídrica em associação com altas temperaturas, têm acarretado sérios prejuízos à cultura dos citros, reduzindo a produtividade e a qualidade dos frutos. Assim, a seleção de genótipos tolerantes à seca ainda em fase inicial de desenvolvimento, tem sido um dos principais objetivos do Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros, na busca por indivíduos com potencial de uso como variedades porta-enxerto, adaptadas ao convívio com esse estresse abiótico.

O déficit hídrico é um dos mais importantes fatores ambientais que inibem a fotossíntese e diminuem o crescimento e a produtividade das plantas. É uma das principais causas da perda de culturas em todo o mundo, reduzindo os rendimentos médios da maioria das principais plantas cultivadas em mais de 50% (WANG et al., 2003). Ocorre em grandes áreas cultiváveis, ocupando posição de destaque entre os fatores que limitam a produção vegetal, pois além de afetar as relações hídricas nas plantas, também altera seu metabolismo (NOGUEIRA et al., 2001).

Diferentes regiões do Brasil e do mundo tem sido afetado pelo déficit hídrico, limitando o desenvolvimento e a produtividade das plantas cítricas. Muitas pesquisas, no entanto, têm sido realizadas no sentido de verificar o desempenho das plantas sob condições restritivas da água no solo, procurando reproduzir, dentro de certos limites, situações de deficiência hídrica evidenciadas em campo (CHAVES et al., 2009). Pesquisas apontam que as raízes de alguns porta-enxertos de citros em condições de déficit hídrico reagem a esse estresse apresentando bom desenvolvimento (FAROOQ et al., 2012; JANIAK et al., 2016), como mecanismo de adaptação à seca, aumentando sua biomassa, com a finalidade de amplificar a capacidade de absorção de água e de nutrientes, elevando a relação raiz/parte aérea (SUASSUNA et al., 2012). Esta resposta de adaptação à escassez de água pode ser verificada pela maior densidade de raízes ou por sua penetração nas camadas mais profundas do perfil de solo (BLUM, 2005).

Este trabalho teve como objetivo avaliar, em fase inicial de desenvolvimento, *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas de sementes) nucelares de diferentes genótipos de citros sob déficit hídrico controlado, tendo por base a quantificação de variáveis biométricas que se correlacionam com a tolerância à seca. Os resultados obtidos foram comparados com os de Costa et al. (2020), referentes ao desempenho agrônomico desses mesmos indivíduos na condição de porta-enxertos, tendo como variedade copa a laranjeira Valência [*Citrus xsinensis* (L.) Osbeck], no Município de Colômbia, norte do Estado de São Paulo, ambiente esse sujeito a períodos anuais de intensa escassez hídrica associada a altas temperaturas.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Condições do experimento e localização

O trabalho foi realizado entre os anos de 2018 e 2019, em condições controladas de temperatura e de umidade relativa (26°C e 70% UR diurna e 21°C e 80% UR noturna), em fotoperíodo de 12 horas, no FITOTEC - modelo LT 13,76 UTFP, pertencente ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Município de Cruz das Almas, BA. Utilizando como parentais: os híbridos trifoliolados HTR - 051 BRS Victoria (limoeiro 'Cravo' (*C. xlimonia* Osbeck) e trifoliata [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]), HTR - 053 BRS O S Passos (laranjeira 'Pera' (*C. xsinensis*) e citrange 'Yuma' [*C. xsinensis* x *P. trifoliata* (L.) Raf.]), HTR - 206 BRS Bandeirante (tangerineira 'Sunki' [*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] e citrange 'Coleman' [*C. xsinensis* x *P. trifoliata* (L.) Raf.]), e HTR - 208 BRS HLeão (tangerineira 'Sunki' comum [*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] e trifoliata 'Benecke' [*P. trifoliata* (L.) Raf.]), tangerineira 'Sunki da Flórida' (TSKFL) (*C. sunki* Hort. ex Tan.) x citrumelo 'Swingle' (CTSW) [*C. xparadisi* Macfad. x *P. trifoliata* (L.) Raf.] - 004 BRS O Sempionato, tangerineira 'Sunki' Comum (TSKC) x CTSW - 028 BRS Pompeu, TSKC x CTSW - 041 BRS Cunha Sobrinho, TSKC x limoeiro 'Cravo' comum (LCR) (*C. limonia* Osb.) x *P. trifoliata* (TR) - 017 BRS Stuchi, TSKC x *P. Trifoliata* Flying-Dragon (TRFD) - 003 BRS Donadio e 006 BRS Matta, limoeiro 'Rugoso da Flórida' (LRF) (*C. jambhiri* Lush.) x (LCR x TR) - 005

BRS N Gimenes Fernandes, TSKC x citrangequat 'Tomasville' CTQT1439 (Fortunella sp. x (*C. sinensis* x *P. trifoliata*) - 014 BRS L Navarro, LCR x TR - 001 BRS H Montenegro, LCR x CTSW - 009 BRS S Moreira e TSK x seleção 'Benecke' de *P. Trifoliata* (TRBK) - Colômbia (CO) BRS RÍOS CASTAÑO.

2.2. Híbridos avaliados no experimento

Foram avaliados 16 híbridos (Tabela1), obtidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Tabela 1. Híbridos utilizados no estudo, obtidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros, com a finalidade de uso como porta-enxertos.

Código PMG Citros¹	Nome da cultivar⁷
HTR - 051 ²	BRS Victoria ⁷
HTR - 053 ³	BRS O S Passos ⁷
HTR - 206 ⁴	BRS Bandeirante ⁷
HTR - 208 ⁵	BRS HLeão ⁷
TSKFL x CTSW – 004	BRS O Sempionato ⁷
TSKC x CTSW – 028	BRS Pompeu ⁷
TSKC x CTSW – 041	BRS Cunha Sobrinho ⁷
TSKC x (LCR x TR) – 017	BRS Stuchi ⁶
TSKC x (LCR x TR) – 059	BRS Bravo ⁷
TSKC x TRFD – 003	BRS Donadio ⁷
TSKC x TRFD – 006	BRS Matta ⁷
LRF x (LCR x TR) – 005	BRS N Gimenes Fernandes ⁷
TSKC x CTQT1439 – 014	BRS L Navarro ⁷
LCR x TR – 001	BRS H Montenegro ⁷
LCR x CTSW – 009	BRS S Moreira ⁷
TSK x TRBK - CO ⁶	RÍOS CASTAÑO

¹ HTR: híbrido trifoliolado; TSKFL: tangerineira 'Sunki' [*Citrus sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] seleção 'da Flórida'; CTSW: citrumelo [*C. xparadisi* Macfad. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] 'Swingle'; TSKC: tangerineira 'Sunki' comum; LCR: limoeiro 'Cravo' (*C. xlimonia* Osbeck); TR: trifoliata (*P. trifoliata*); TRFD: trifoliata 'Flying Dragon' [*P. trifoliata* var. *monstrosa* (T. Ito) Swingle]; LRF: limoeiro 'Rugoso da Flórida' (*C. xjambhiri* Lush.); CTQT: citrangequat 'Thomasville'

[*Fortunella margarita* (Lour.) Swingle x (*C. xsinensis* x *P. trifoliata*)]; TSK: tangerineira 'Sunki'; TRBK: trifoliata 'Benecke'.

² Híbrido obtido do cruzamento limoeiro 'Cravo' x trifoliata 'Barnes'.

³ Híbrido obtido do cruzamento laranjeira 'Pera' (*C. xsinensis*) x citrange (*C. xsinensis* x *P. trifoliata*) 'Yuma'.

⁴ Híbrido obtido do cruzamento tangerineira 'Sunki' x citrange 'Coleman'.

⁵ Híbrido obtido do cruzamento tangerineira 'Sunki' x trifoliata 'Benecke'.

⁶ Híbrido obtido por Joseph Rudolph Furr, na *United States Date and Citrus Station*, Indio, Califórnia, pertencente ao Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América.

⁷ Conforme inscrição no Registro Nacional de Cultivares (RNC) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

⁸ Em fase de inscrição no RNC/MAPA.

2.3. Semeadura e cultivo de *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas de sementes) nucelares

Sementes dos 16 híbridos componentes deste estudo foram submetidas à germinação em tubetes de 100 cm³, dispostos em bandejas, tendo como substrato a fibra de coco. Após a germinação das sementes, estando os *seedlings* com quatro ou mais folhas definitivas, mediante observações visuais da morfologia foliar, foi realizada a identificação dos indivíduos de origem nucelar e híbrida, descartando-se os zigóticos. Uma vez identificados, os *seedlings* de origem nucelares geneticamente idênticos aos genótipos selecionados para compor este trabalho, foram transplantados para tubos de PVC com 0,3 m de altura e 0,075 m de diâmetro, contendo areia lavada e esterilizada, estando esses tubos com capacidade máxima de retenção de água (umidade de 0,15 cm³, cm⁻³). O transplântio ocorreu 90 dias após a semeadura (Figura 1).

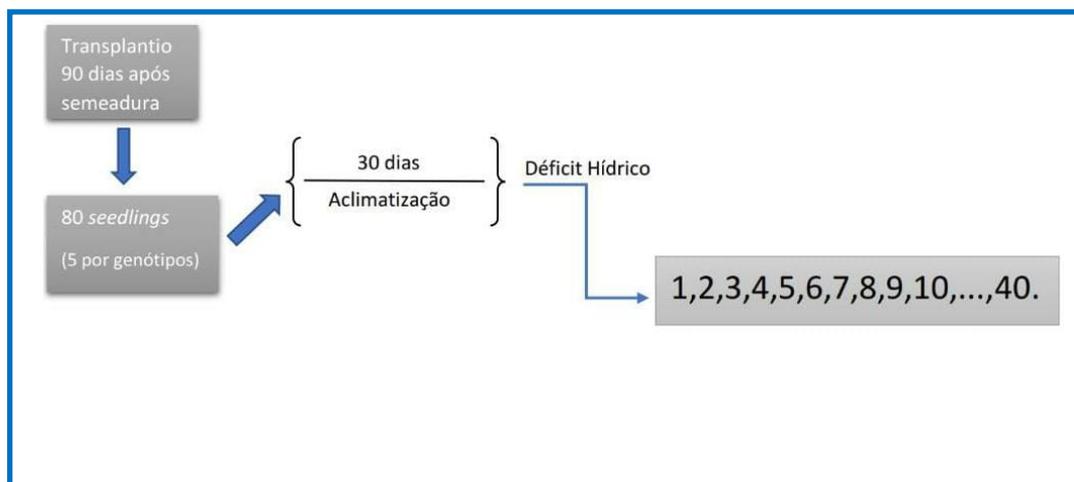


Figura 1: Esquema da dinâmica experimental. Os números no retângulo indicam o período em dias em que as plantas foram submetidas ao déficit hídrico no experimento.

Na irrigação dos *seedlings* foi utilizada a solução nutritiva Forth Nutri®, na razão de 0,72 mg da solução para um litro de água, aplicando-se um volume único às plantas de todos os genótipos híbridos, em função da evapotranspiração média obtida por pesagem, de forma a manter o substrato próximo à capacidade de campo. Para se estimar o teor de água correspondente ao da umidade em capacidade de campo na areia lavada, foram amostrados aleatoriamente cinco recipientes contendo areia lavada, obtendo-se o peso do conjunto recipiente + areia seca. Em seguida, esses recipientes foram postos em um receptáculo com água para saturação, aguardando-se o tempo necessário para a água chegar até a superfície da areia, por ascensão capilar, momento em que os recipientes com areia lavada esterilizada foram retirados para o escoamento do excesso de água por drenagem natural, durante 24 h, quando foi quantificado o peso do conjunto recipiente + areia úmida. Pela diferença entre as duas pesagens, (recipiente + areia úmida) - (recipiente + areia seca), obteve-se o conteúdo hídrico retido pela areia, correspondente ao da capacidade de campo (SAMPAIO et al., 2016).

2.4. Avaliação biométrica

A avaliação das variáveis biométricas, realizada antes e depois dos *seedlings* serem submetidos ao déficit hídrico por 40 dias, deu-se de acordo com a metodologia de Dutra et al. (2017), compreendendo: altura da planta (ALT, em cm), número de folhas (NF), área foliar (AF, em cm²), diâmetro do

caule (DC, em mm) (Figura 2) e taxa de crescimento inicial (TCI, em cm/dia). No final do experimento (160 dias após a semeadura), as plantas foram divididas em parte aérea (caule e folhas) e raízes. As raízes foram lavadas e acondicionadas em álcool 30% e refrigeradas até o processo de digitalização das imagens em escâner (Figura 3). O processo foi realizado com o software WinRizho, versão 2013d, resolução de 400 dpi, para obtenção do diâmetro da raiz (DR, em mm), classes de diâmetro da raiz: LC1 - classe de diâmetro de 0-0,5 mm, LC2 - 0,5-1,0 mm, LC3 - 1,0-1,5 mm, LC4 - 1,5-2,0 mm e LC5 - 2,0-2,5 mm, comprimento total da raiz (CTR, em cm), densidade de comprimento da raiz (DCR, em cm cm^{-3} , sendo $\text{DCR} = \text{CTR}/\text{Volume amostra}$) e o comprimento específico da raiz (SRL, em cm g^{-1} , sendo $\text{SRL} = \text{CTR}/\text{MSR}$). Posteriormente determinou-se a massa seca final da parte aérea (MSPA, em g) e a massa seca final da raiz (MSR, em g) e relação massa seca da raiz e parte aérea (MSR/MSPA), em ambas utilizando estufa com circulação forçada de ar a 65°C , pelo período de 72 horas.



Figura 2: Avaliação das variáveis biométricas altura da planta (ALT, em cm), número de folhas (NF), área foliar (AF, em cm^2), diâmetro do caule (DC, em mm) no FITOTEC (ambiente com controle de temperatura e umidade) - modelo LT 13,76 UTEP, pertencente ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, município de Cruz das Almas, BA.



Figura 3: Digitalização das imagens das raízes em escâner com o software WinRizho, versão 2013d, pertencente ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, município de Cruz das Almas, BA.

2.5. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 16 genótipos, representados por *seedlings* nucelares, e cinco repetições, com um manejo hídrico. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de Dunnett a 5% de probabilidade e à análise multivariada. Foram realizadas correlações entre as variáveis e construída uma matriz de correlação. As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico R (R Core Team, 2021).

Os resultados obtidos a partir das avaliações de variáveis biométricas, realizadas em *seedlings* nucelares dos 16 híbridos componentes deste estudo, foram comparados com os de Costa et al. (2020), relativos a experimento envolvendo esses mesmos híbridos enxertados com copas de laranja 'Valência', na fase de produção de frutos, tendo por base experimento localizado no Município de Colômbia, região norte do Estado de São Paulo, em ambiente sujeito a períodos de forte escassez hídrica associada a altas temperaturas. Objetivou-se, com isso, identificar a existência de correlações entre características fenotípicas relacionadas à tolerância à seca em fase inicial de desenvolvimento de *seedlings* nucelares (ambiente controlado) e em combinações copa/porta-enxerto em fase adulta em campo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de Dunnett a 5% de probabilidade foi utilizado para comparar cada genótipo com BRS Bravo usado como testemunha, os resultados estão apresentados na Tabela 2. Para variável altura de planta BRS Bravo foi estatisticamente superior aos genótipos BRS HLeão e BRS Cunha Sobrinho, indicando o potencial de expressão de maior vigor inicial, após a germinação das sementes. Para diâmetro de raiz os genótipos BRS Victoria, BRS O S Passos, BRS Montenegro, BRS N Gimenes Fernandes, BRS Pompeu, RÍOS CASTAÑO e BRS Donadio apresentaram maior desenvolvimento do que BRS Bravo. Esse comportamento indica a possibilidade de reduções no período de produção de mudas tendo esses genótipos como porta-enxertos, em razão de sua rápida adequação ao início do processo da enxertia (Tabela 1). O diâmetro do caule é um dos fatores de grande importância na seleção de bons porta-enxerto, pois possui uma estreita relação com o intervalo entre a germinação da semente da variedade porta-enxerto e o momento de sua enxertia. Quanto mais rápido for o desenvolvimento do caule, menor será esse intervalo (NASCIMENTO et al., 2012).

Para a variável número de folhas (NF) BRS H Montenegro e BRS Donadio diferiram significativa do BRS Bravo e para área foliar (AF) BRS N Gimenes Fernandes, BRS Pompeu e RÍOS CASTAÑO. A determinação da área foliar é importante, porque as folhas são as principais responsáveis pela captação da energia solar e pela produção de material orgânico através da fotossíntese (BERNARDI et al., 2000).

Para a taxa de crescimento inicial (TCI) BRS Bravo foi estatisticamente superior a BRS HLeão e BRS Cunha Sobrinho e para os demais genótipos não houve diferença significativa. Com relação à massa seca da raiz e massa seca da parte aérea BRS Bravo foi superior a BRS HLeão e para os demais genótipos não houve diferença significativa.

Tabela 2. Altura da planta (ALT), diâmetro do caule (DC), número de folha (NF), área foliar (AF), taxa de crescimento inicial (TCI), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) em *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de sementes) nucelares de 16 híbridos de citros sob déficit hídrico. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros. Cruz das Almas - BA. Abril a outubro, 2018.

Genótipos	ALT	DC	NF	AF	TCI	MSPA	MSR
RÍOS CASTAÑO	2,740 ^{ns}	0,444*	2,20 ^{ns}	4,484***	2,728 ^{ns}	0,124 ^{ns}	0,010 ^{ns}
BRS O Sempionato	-2,380 ^{ns}	0,288 ^{ns}	1,80 ^{ns}	-1,778 ^{ns}	-2,324 ^{ns}	-0,018 ^{ns}	-0,022 ^{ns}
BRS H Montenegro	-3,080 ^{ns}	0,400*	4,00*	2,336 ^{ns}	-2,950 ^{ns}	0,012 ^{ns}	-0,010 ^{ns}
BRS N Gimenes Fernandes	0,920 ^{ns}	0,452*	2,20 ^{ns}	4,644***	0,968 ^{ns}	0,116 ^{ns}	0,066 ^{ns}
BRS L Navarro	-2,320 ^{ns}	-0,060 ^{ns}	1,60 ^{ns}	-1,288 ^{ns}	-2,170 ^{ns}	-0,080 ^{ns}	-0,106 ^{ns}
BRS Cunha Sobrinho	-4,560**	0,004 ^{ns}	2,00 ^{ns}	0,726 ^{ns}	-4,430**	-0,076 ^{ns}	-0,006 ^{ns}
BRS O S Passos	2,200 ^{ns}	0,494**	3,20 ^{ns}	1,516 ^{ns}	2,170 ^{ns}	0,104 ^{ns}	0,006 ^{ns}
BRS Donadio	1,540 ^{ns}	0,670***	7,20***	2,406 ^{ns}	1,588 ^{ns}	0,124 ^{ns}	-0,036 ^{ns}
BRS Matta	-1,360 ^{ns}	0,358 ^{ns}	1,00 ^{ns}	2,562 ^{ns}	-1,336 ^{ns}	0,012 ^{ns}	0,016 ^{ns}
BRS Victoria	-2,260 ^{ns}	0,508**	-0,20 ^{ns}	1,834 ^{ns}	-2,204 ^{ns}	-0,070 ^{ns}	-0,016 ^{ns}
BRS S Moreira	-2,780 ^{ns}	0,240 ^{ns}	0,40 ^{ns}	0,018 ^{ns}	-2,662 ^{ns}	0,036 ^{ns}	-0,020 ^{ns}
BRS Stuchi	-0,180 ^{ns}	0,224 ^{ns}	1,60 ^{ns}	-0,070 ^{ns}	-0,082 ^{ns}	-0,036 ^{ns}	-0,036 ^{ns}
BRS Pompeu	-1,834 ^{ns}	0,470**	-0,05 ^{ns}	6,776***	-1,782 ^{ns}	0,044 ^{ns}	-0,050 ^{ns}
BRS HLeão	-3,980*	0,040 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,510 ^{ns}	-3,832*	-0,154*	-0,112*
BRS Bandeirante	-3,160 ^{ns}	0,216 ^{ns}	1,00 ^{ns}	1,558 ^{ns}	-3,048 ^{ns}	-0,084 ^{ns}	-0,070 ^{ns}

*significativo a 5% de probabilidade pelo teste t de Dunnett. ^{ns}não significativo a 5% de probabilidade pelo teste t de Dunnett

Com relação à massa seca total (MST) BRS Bravo foi superior a BRS HLeão e para os demais genótipos não houve diferença significativa (Tabela 3). Para a relação MSR/MSPA não houve diferença significativa para nenhum genótipo avaliado em comparação com BRS Bravo. A maior relação massa seca da raiz e parte aérea, provavelmente sejam mais adaptados à exploração da umidade disponível no solo, podendo essa característica ser importante indicativo de tolerância à seca (SUASSUNA et al., 2012). O aumento da relação raiz:parte aérea foi observado por Silva et al. (2019) em porta-enxertos de citros avaliados sob déficit hídrico, causado por um incremento significativo da biomassa seca da raiz, sendo um traço chave de interesse, podendo

compensar a escassez de água, minimizando a perda de transpiração e melhorando a aquisição de água e nutrientes (DIAZ-ESPEJO et al., 2012).

Para diâmetro da raiz (DR) oito dos 15 genótipos avaliados mostraram-se superiores a BRS Bravo sendo eles: BRS H Montenegro, BRS L Navarro, BRS Cunha Sobrinho, BRS O S Passos, BRS Victoria, BRS S Moreira, BRS Pompeu e BRS HLeão, os demais não apresentaram diferenças significativas. A variável comprimento específico da raiz (SRL) BRS Bravo mostrou-se superior estatisticamente para a maioria dos genótipos avaliados exceto para RÍOS CASTAÑO, BRS N Gimenes Fernandes, BRS L Navarro, BRS Donadio e BRS Bandeirante que não apresentaram diferença significativa. SRL é uma das variáveis morfológicas relacionadas às características do sistema radicular dos citros, influenciando o comprimento total da raiz, indicando que genótipos com elevado SRL têm bom potencial de transporte de água e nutrientes (SYVERTSEN e GRAHAM, 1985; COMAS et al., 2013). Há evidências sugestivas de que espécies com alta SRL tendem a ter maior plasticidade no crescimento radicular e maior capacidade fisiológica para captação de água e nutrientes, porém com menor longevidade das raízes e menor dependência micorrízica em relação a espécies com baixa SRL (EISSENSTAT, 1992).

A atividade micorrízica pode causar alterações positivas no SRL, conforme mostrado por (FITTER, 2004). Esta pode ser parte da resposta relacionada à maior produtividade de frutos de algumas combinações copa/porta-enxerto de citros em condição de escassez hídrica. Aumentos em SRL, em resposta a limitações que ocorrem em ambientes improdutivos, pobres em nutrientes ou sujeitos à escassez hídrica, são menos perceptíveis em ambientes onde há condições favoráveis ao bom desenvolvimento da planta (TRUBAT et al., 2006). No entanto, há estudos indicativos de que espécies que ocorrem em habitats favoráveis ao bom desenvolvimento da planta, nos quais seu crescimento dá-se rapidamente, têm maior SRL que espécies endêmicas de habitats onde estresses são comuns (COMAS, 2004), contrariando a hipótese de que o SRL deve aumentar quando recursos hídricos e nutricionais são escassos.

Na natureza, as plantas são expostas a tensões múltiplas, que, simultaneamente, levam à seleção de indivíduos dotados de características

que possibilitam sua adaptação ao ambiente em que se encontram. A disponibilidade de nutrientes, por exemplo, tende a diminuir com a profundidade do solo, fazendo com que sistemas radiculares rasos, superficiais, sejam vantajosos na aquisição desses elementos; por outro lado, a disponibilidade de água tende a aumentar com a profundidade do solo, tornando raízes profundas mais favoráveis ao desenvolvimento e sobrevivência das plantas (LYNCH et al., 2005).

De acordo com Hernández et al. (2010) e por Henry et al. (2012) plantas lenhosas e herbáceas adaptadas a condições de seca apresentam menor diâmetro e maior SRL. Raízes com maior SRL e de pequeno diâmetro permitem que as plantas aumentem a condutância hidráulica, ampliando a superfície de contato com a água, explorando um maior volume de solo, no qual a água pode estar disponível, intensificando, portanto, a condutividade hidráulica, diminuindo, assim, a barreira apoplástica da água que entra no xilema (HERNÁNDEZ et al., 2010; COMAS et al., 2012). Conseqüentemente, a diminuição do diâmetro da raiz foi sugerida por Wasson et al. (2012), como uma característica que favorece a aquisição de água e a produtividade da planta sob a seca.

Com relação à densidade de comprimento de raiz (DCR) uma das variáveis do sistema radicular de maior importância para a sustentação da produtividade em condições de déficit hídrico (COMAS et al., 2013). BRS Bravo foi estatisticamente superior a todos os genótipos exceto a RIO CASTAÑO e BRS N Gimenes Fernandes.

Para a variável comprimento total de raiz (CTR) BRS foi superior estatisticamente a maioria dos genótipos avaliados exceto a RÍOS CASTAÑO e BRS N Gimenes Fernandes. Silva et al. (2019) e Rodrigues et al. (2015), avaliando alguns porta-enxertos híbridos, observaram BRS Bravo maior comprimento total de raiz em comparação com os demais indivíduos avaliados. Cerqueira et al. (2004) relataram que um dos mecanismos de tolerância à seca é justamente o desenvolvimento das raízes em busca de água.

Em condições de déficit hídrico, Farooq et al. (2012) notaram acréscimo de raízes em plantas agrícolas como adaptação fisiológica e Ara et al. (2016), observaram um maior crescimento de raízes de *seedlings* de citros. Esse ganho no sistema radicular da planta pode ser devido ao aumento da densidade ou ao aprofundamento das raízes nas camadas mais profundas, em resposta à necessidade pela busca de água no solo (BLUM, 2005).

Tabela 3. Massa seca total (MST), relação massa seca da raiz / massa seca da parte aérea (MSR/MSPA), diâmetro da raiz (DR), comprimento específico da raiz (SRL), densidade de comprimento da raiz (DCR), comprimento total da raiz (CTR) em *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de sementes) nucelares de 16 híbridos de citros sob déficit hídrico. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros. Cruz das Almas - BA. Abril a outubro, 2018.

Genótipos	MST	MSR/MSPA	DR	SRL	DCR	CTR
RÍOS CASTAÑO	0,134 ^{ns}	-0,156 ^{ns}	0,052 ^{ns}	-177,238 ^{ns}	-0,020 ^{ns}	-26,646 ^{ns}
BRS O Sempionato	-0,040 ^{ns}	-0,030 ^{ns}	0,032 ^{ns}	-493,812 ^{**}	-0,126 ^{***}	-168,488 ^{***}
BRS H Montenegro	0,002 ^{ns}	-0,042 ^{ns}	0,132 ^{***}	-846,034 ^{***}	-0,182 ^{***}	-241,856 ^{***}
BRS N Gimenes Fernandes	0,182 ^{ns}	-0,036 ^{ns}	0,020 ^{ns}	-112,768 ^{ns}	0,046 ^{ns}	58,696 ^{ns}
BRS L Navarro	-0,186 ^{ns}	-0,162 ^{ns}	0,062 [*]	-289,730 ^{ns}	-0,168 ^{***}	-222,694 ^{***}
BRS Cunha Sobrinho	-0,082 ^{ns}	0,146 ^{ns}	0,148 ^{***}	-783,146 ^{***}	-0,168 ^{***}	-223,662 ^{***}
BRS O S Passos	0,110 ^{ns}	-0,152 ^{ns}	0,056 [*]	-423,550 [*]	-0,086 [*]	-113,380 [*]
BRS Donadio	0,088 ^{ns}	-0,246 ^{ns}	0,048 ^{ns}	-222,806 ^{ns}	-0,082 [*]	-107,240 [*]
BRS Matta	0,028 ^{ns}	0,042 ^{ns}	0,052 ^{ns}	-503,102 ^{**}	-0,088 [*]	-115,570 [*]
Brs Victoria	-0,086 ^{ns}	0,116 ^{ns}	0,152 ^{***}	-827,932 ^{***}	-0,186 ^{***}	-245,438 ^{***}
BRS S Moreira	0,016 ^{ns}	-0,080 ^{ns}	0,252 ^{***}	-1,072 ^{***}	-0,234 ^{***}	-310,740 ^{***}
Brs Stuchi	-0,072 ^{ns}	-0,022 ^{ns}	0,034 ^{ns}	-514,210 ^{**}	-0,140 ^{***}	-183,530 ^{***}
BRS Pompeu	-0,004 ^{ns}	-0,200 ^{ns}	0,098 ^{***}	-505,264 ^{**}	-0,142 ^{***}	-189,912 ^{***}
BRS HLeão	-0,262 [*]	0,028 ^{ns}	0,066 ^{**}	-501,556 ^{**}	-0,192 ^{***}	-253,652 ^{***}
BRS Bandeirante	-0,154 ^{ns}	-0,020 ^{ns}	-0,004 ^{ns}	-37,656	-0,082 [*]	-107,200 [*]

*significativo a 5% de probabilidade pelo teste t de Dunnett. ^{ns}não significativo a 5% de probabilidade pelo teste t de Dunnett

As variáveis relacionadas às classes de comprimento de raiz estão representadas na Tabela 4. O sistema radicular dos *seedlings* nucelares dos diferentes genótipos estudados foi distribuído em classes de diâmetro. Os genótipos podem estar presentes em mais de uma classe de diâmetro,

abrangendo a primeira classe (LC1) de raízes com diâmetro dentro da faixa de 0-0,5 mm. Nessa classe BRS Bravo foi superior estatisticamente à maioria dos genótipos exceto BRS H Montenegro e BRS N Gimenes Fernandes. Na classe seguinte, LC2, que compreendeu diâmetros de raiz na faixa de 0,5-1,0 mm foi não significativo para a maioria dos genótipos exceto para BRS S Moreira, BRS Stuchi e BRS HLeão no qual BRS Bravo foi estatisticamente superior.

No que tange à terceira classe (LC3), onde o diâmetro de raiz variou de 1,0-1,5 mm, BRS Bravo foi estatisticamente superior a BRS O Sempionato, BRS Stuchi, BRS HLeão e BRS Bandeirante. A quarta classe (LC4), com diâmetro na faixa de 1,5-2,0 mm, BRS Moreira foi superior estatisticamente a BRS Bravo e os demais genótipos não apresentaram diferença significativa. A quinta classe (LC5), que compreendeu diâmetros entre 2,0-2,5 mm não apresentou nenhuma diferença significativa dos genótipos avaliados em comparação com BRS Bravo. Silva et al. (2019) constataram no BRS Bravo em condição de porta-enxerto maiores densidades de comprimento radicular na classe de diâmetro de 0-0,5 mm, em um conjunto de diversos indivíduos com potencial de uso como porta-enxertos, o que contribui para absorção de água pelo solo.

Segundo Selle et al. (2010), a parte mais ativa do sistema radicular na absorção de água e nutrientes, fundamentais ao crescimento e desenvolvimento da planta, relaciona-se às raízes finas (< 2 mm), que respondem pela maior parte da área radicular de superfície e comprimento do sistema radicular das plantas cítricas (REWALD et al., 2011). No geral, são mais importantes que as raízes mais grossas no processo de absorção de água e nutrientes (PIERRET et al., 2005).

Santos et al. (2005) verificaram que raízes de citros com diâmetros na faixa de 0,5-2,0 mm foram as que mais extraíram água do solo, sendo, portanto, mais eficientes no suprimento de água e nutrientes. Pes (2015) salientou que quanto mais profundo for o sistema radicular e quanto mais fina e ramificada forem às raízes, maior será a tolerância da planta a períodos de estiagem.

Embora raízes com diâmetros superiores a 2,0 mm representem parcela reduzida do comprimento total de raízes, sua representatividade é da ordem de 25% da área do sistema radicular em seu todo (RODRIGUES et al., 2015). Estudos realizados por Comas et al. (2013) em culturas de girassol (*Helianthus annuus* L.), milho (*Zea mays* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.), confirmam que raízes de menor diâmetro, maior SRL e maior densidade ou comprimento dos pelos radiculares, favorecem a aquisição de água em ambientes sob escassez de água, implicando em maior produtividade de frutos.

Ramos et al. (2015) e Carvalho et al. (2016), estudando porta-enxertos em combinação com as laranjeiras 'Valência' e 'Pera' (*C. xsinensis*), respectivamente, constataram que o porta-enxerto BRS Bravo induziu alta tolerância à seca e alta produção de frutos às copas. Esses resultados foram confirmados por Costa et al. (2020), em ambiente sujeito a fortes déficits hídricos em associação com altas temperaturas, analisando simultaneamente um conjunto de variáveis. Nesse estudo, que deu continuidade ao de Ramos et al. (2015), observou-se que o porta-enxerto BRS Bravo enxertado na laranjeira 'Valência', em comparação com o limoeiro 'Cravo Santa Cruz' (*C. xlimonia* Osbeck), determinou alta tolerância à seca e redução do porte da copa, característica esta fundamental ao uso de altas densidades de plantio, prática adotada pela citricultura atual.

Tabela 4. Classes de diâmetro de 0-0,5 mm (LC1), 0,5-1,0 mm (LC2), 1,0-1,5 mm (LC3), 1,5-2,0 mm (LC4) e 2,0-2,5 mm (LC5), em *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de sementes) nucelares de 16 híbridos de citros sob déficit hídrico. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros. Cruz das Almas - BA. Abril a outubro, 2018.

Genótipos	LC1	LC2	LC3	LC4	LC5
RÍOS CASTAÑO	-72,092*	44,884 ^{ns}	-2,618 ^{ns}	1,334 ^{ns}	-0,810 ^{ns}
BRS O Sempionato	-133,938***	-29,748 ^{ns}	-6,434**	1,328 ^{ns}	-0,594 ^{ns}
BRS H Montenegro	-223,006 ^{ns}	-18,412 ^{ns}	-3,028 ^{ns}	1,898 ^{ns}	0,492 ^{ns}
BRS N Gimenes Fernandes	25,558 ^{ns}	27,804 ^{ns}	1,628 ^{ns}	2,028 ^{ns}	0,066 ^{ns}
BRS L Navarro	-190,514***	-27,096 ^{ns}	-3,734 ^{ns}	1,006 ^{ns}	-1,078 ^{ns}

BRS Cunha Sobrinho	-215,898***	-7,506 ^{ns}	-3,250 ^{ns}	1,502 ^{ns}	0,254 ^{ns}
BRS O S Passos	-109,616***	-3,312 ^{ns}	-1,970 ^{ns}	1,176 ^{ns}	-0,708 ^{ns}
BRS Donadio	-112,488***	8,612 ^{ns}	-3,554 ^{ns}	0,144 ^{ns}	-1,100 ^{ns}
BRS Matta	-119,750***	5,808 ^{ns}	-2,370 ^{ns}	0,540 ^{ns}	-1,206 ^{ns}
BRS Victoria	-219,536***	-27,248 ^{ns}	-0,802 ^{ns}	0,944 ^{ns}	-0,468 ^{ns}
BRS S Moreira	-253,754***	-63,578**	1,394 ^{ns}	3,496***	0,994 ^{ns}
BRS Stuchi	-133,002***	-45,364*	-7,732***	1,022 ^{ns}	-0,340 ^{ns}
BRS Pompeu	-178,026***	-10,036 ^{ns}	-3,396 ^{ns}	1,642 ^{ns}	-0,128 ^{ns}
BRS HLeão	-194,018***	-53,770*	-6,018**	0,572 ^{ns}	0,776 ^{ns}
BRS Bandeirante	-81,880*	-13,760 ^{ns}	-8,678***	-0,552 ^{ns}	-1,558 ^{ns}

*significativo a 5% de probabilidade pelo teste t de Dunnett. ^{ns}não significativo a 5% de probabilidade pelo teste t de Dunnett

Considerando dados obtidos por Costa et al. (2020), em experimento a campo, no período de 2009 a 2018, que serviram de base para as comparações entre o que foi constatado em relação aos 16 genótipos estudados, em nível de *seedlings* nucelares em fase inicial de desenvolvimento e como porta-enxertos para laranjeira 'Valência' em fase de produção de frutos, foram obtidas as correlações apresentadas na Tabela 5.

Constatou-se que as variáveis produção acumulada de frutos (PA) e altura de planta (ALTC), teve correlação alta e positiva com diâmetro do caule (DC) e volume da copa (VOL) e a variável diâmetro do caule com volume da copa, demonstrando a importância do vigor da planta para um bom desempenho de produção em campo, e a variável tolerância à seca (SECA) com a classe de diâmetro de raiz entre 2,0-2,5 mm (LC5), indicando que a tolerância à seca está intimamente ligada ao comprimento das raízes mais grossas (LC5), mostrando a importância das raízes principais e secundárias, responsáveis por uma estrutura que dá base à formação de raízes de absorção.

Nesse sentido, Comas et al. (2013) afirmaram que raízes lenhosas, grossas, comportam-se como estruturas perenes, de ancoragem ou sustentação da planta, colaborando com o armazenamento de carboidratos e de nutrientes durante o processo de transporte de água. Tais raízes, embora não atuem diretamente na extração de água e de nutrientes do solo, são importantes na obtenção desses elementos em camadas mais profundas do

perfil de solo, cooperando, possivelmente, com a absorção de água pelas raízes mais superficiais, por elevação hidráulica.

Guo et al. (2008c) reforçaram esse ponto de vista, expondo que apesar da capacidade muito limitada de absorção de água e de nutrientes por raízes lenhosas, sua estrutura anatômica favorece a tolerância a estresses ambientais, como o déficit hídrico, o que explica em parte as baixas taxas de mortalidade e a alta longevidade de plantas com sistemas radiculares onde a presença de raízes lenhosas é marcante. Corroborando estas afirmações, Janiak, et al. (2016) e Rich e Watt (2013) relataram que plantas tolerantes à seca apresentam uma tendência de desenvolver sistemas radiculares mais profundos, que atingem camadas de solo mais úmidas, portanto com maior disponibilidade de água à planta. Bai et al. (2019), confirmaram em experimento com trigo (*Triticum* spp.) que em anos mais secos, raízes mais profundas estavam associadas a um aumento de rendimento e que diâmetro da raiz foi alto correlacionado com o rendimento, por razões que precisam ser determinadas.

Com relação a variável eficiência produtiva (EFP) obteve-se uma correlação alta e negativa com altura da planta adulta (ALTA), diâmetro do caule (DC) e volume da copa. Isso evidencia neste resultado que plantas de menor porte podem apresentar uma alta eficiência produtiva em campo como demonstrado por Costa et al. (2020) em variedade de porta-enxertos enxertada na laranjeira 'Valência'. No entanto, não está de acordo com os demais porta-enxertos que apresentam alta EFP com porte alto como avaliado em campo.

Com relação aos dados obtidos nas avaliações das variáveis biométricas no FITOTEC (Tabela 5), a altura da planta (ALT) correlacionou-se positivamente com a massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST), densidade de comprimento da raiz (DCR) e comprimento total da raiz (CTR), indicando que, sob déficit hídrico, essas variáveis apresentam estreita relação com o vigor da planta e desenvolvimento do sistema radicular.

O comprimento específico de raiz (SRL) correlacionou-se forte e positivamente com as variáveis densidade de comprimento da raiz (DCR), comprimento total da raiz (CTR), diâmetro de raiz (DR) e com a classe de

raízes LC1, indicando uma relação entre aumento do sistema radicular e raízes mais finas. Esse resultado confirma o que foi verificado por Fitter (2002), que constatou que o SRL influencia o CTR. Arunyanark et al. (2009) observaram que a tolerância à seca está diretamente ligada ao comprimento e densidade da raiz. Além da presença de raízes finas, importantes para absorção de água e nutrientes.

DCR e CTR apresentaram alta correlação entre si e com as variáveis DR, LC1 e LC2. Esse resultado mostra a relação do comprimento das raízes com a classe de diâmetro de raízes mais finas, onde as mesmas compreendem a maior parte do sistema radicular em plantas cítricas - herbáceas (REWALD et al., 2011; COMAS et al., 2013).

A variável DR apresentou correlação alta e negativa com a LC1. Evidenciando que à medida que o diâmetro da raiz aumenta, a quantidade de raízes finas diminui em situação de déficit hídrico.

Tabela 5. Matriz da correlação de variáveis das avaliações biométricas em campo e laboratório em *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de sementes) nucelares de 16 híbridos de citros sob déficit hídrico. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros. Cruz das Almas - BA. Abril a outubro, 2018.

	PA	SECA	EFP	ALTC	DIAM	VOL	ALT	DC	NF	AF	MRS	MSPA	MST	R:S	SRL	DCR	CTR	DR	LC1	LC2	LC3	LC4	LC5
PA	1,00	0,59	-0,50	0,68	0,82*	0,81*	-0,25	-0,37	-0,28	-0,18	-0,30	-0,34	-0,35	0,12	-0,26	-0,35	-0,34	0,14	-0,27	-0,46	0,03	0,30	0,67
SECA		1,00	-0,23	0,59	0,48	0,47	-0,07	-0,26	0,08	-0,18	-0,14	0,06	-0,01	-0,19	-0,38	-0,36	-0,36	0,50	-0,36	-0,36	0,39	0,53	0,77*
EFP			1,00	-0,78*	-0,81*	-0,82*	-0,03	0,00	0,26	-0,31	-0,10	-0,06	-0,07	0,02	-0,07	-0,15	-0,15	-0,03	-0,13	-0,11	-0,21	-0,36	-0,39
ALTC				1,00	0,83*	0,81*	-0,04	-0,19	-0,22	-0,16	-0,02	-0,09	-0,07	0,08	-0,22	-0,17	-0,17	0,28	-0,13	-0,29	0,22	0,46	0,62
DIAM					1,00	0,98**	-0,06	-0,17	-0,32	-0,01	-0,10	-0,08	-0,09	-0,04	-0,10	-0,10	-0,09	0,12	-0,05	-0,25	0,20	0,44	0,58
VOL						1,00	-0,07	-0,11	-0,37	0,12	-0,08	-0,04	-0,06	-0,05	-0,13	-0,10	-0,11	0,17	-0,07	-0,23	0,21	0,47	0,61
ALT							1,00	0,56	0,41	0,36	0,50	0,82*	0,76*	-0,58	0,53	0,71*	0,71*	-0,44	0,66	0,65	0,28	-0,10	-0,36
DC								1,00	0,48	0,63	0,46	0,72	0,68	-0,42	-0,02	0,25	0,24	0,03	0,14	0,42	0,21	0,11	-0,25
NF									1,00	0,07	0,16	0,51	0,42	-0,48	0,14	0,17	0,18	-0,14	0,11	0,34	-0,07	-0,09	-0,24
AF										1,00	0,36	0,54	0,52	-0,32	0,16	0,39	0,37	-0,01	0,24	0,61	0,27	0,11	-0,05
MRS											1,00	0,66	0,84*	0,15	0,01	0,56	0,56	0,00	0,46	0,60	0,62	0,31	0,05
MSPA												1,00	0,96**	-0,63	0,23	0,56	0,56	-0,07	0,45	0,66	0,50	0,28	-0,14
MST													1,00	-0,39	0,17	0,61	0,61	-0,05	0,50	0,68	0,58	0,32	-0,07
R:S														1,00	-0,34	-0,20	-0,20	0,16	-0,16	-0,26	-0,02	-0,07	0,28
SRL															1,00	0,83*	0,83*	0,89*	0,86*	0,59	-0,18	-0,66	-0,57
DCR																1,00	1,00	0,72*	0,97**	0,82*	0,22	-0,35	-0,38
CTR																	1,00	0,73*	0,98**	0,82*	0,21	-0,35	-0,39
DR																		1,00	-0,80*	-0,44	0,41	0,73	0,58
LC1																			1,00	0,68	0,12	-0,41	-0,37
LC2																				1,00	0,28	-0,22	-0,44
LC3																					1,00	0,52	0,38
LC4																						1,00	0,65
LC5																							1,00

PA - Produção acumulada, SECA - tolerância à seca, EFP - eficiência produtiva, ALTC - Altura da planta, DIAM - diâmetro do caule da planta, VOL - volume da copa, ALT - Altura da planta, DC - diâmetro do caule, MSR - massa seca final da raiz, MSPA - massa seca final da parte aérea, MST - massa seca total, R.S -relação massa seca final da raiz e da parte aérea, SRL - comprimento específico da raiz, DCR - densidade de comprimento da raiz, CTR - comprimento total da raiz, DR - diâmetro da raiz, LC1 - classes de diâmetro de 0-0,5 mm, LC2 - 0,5-1,0 mm, LC3 - 1,0-1,5 mm, LC4- 1,5-2,0 mm e LC5 - 2,0-2,5 mm

Para a construção do dendrograma (Figura 4), foram utilizadas variáveis biométricas medidas em campo e em laboratório consideradas na construção da matriz de correlação (Tabela 5). O dendrograma da matriz da distância pelo método da ligação simples formou três grupos distintos, a correlação cofenética foi significativa ($r = 0.7405976^{***}$), agregando os genótipos em três grupos, de acordo com os padrões de similaridade (Figura 6). As menores distâncias (maiores similaridades) foram observadas entre os híbridos BRS O Sempionato, BRS Stuchi (grupo G2) e BRS H Montenegro, BRS Victoria (grupo G1). O primeiro grupo (G1), compreendeu os híbridos BRS S Moreira, BRS Cunha Sobrinho, BRS H Montenegro e BRS Victoria (Figura 4). Com relação às variáveis analisadas, estes genótipos estão entre os que se mostraram com maior média de massa seca da raiz (MSR) e relação MSR/MSPA (massa seca da raiz e parte aérea), sendo possivelmente mais adaptados à exploração da umidade disponível no solo, podendo essa característica ser importante indicativo de tolerância à seca (SUASSUNA et al., 2012).

Apesar do grupo G1 relacionar-se a menores comprimentos da raiz, os genótipos por ele compreendidos, em avaliações de tolerância à seca em campo enxertados na laranjeira 'Valência' (COSTA et al., 2020), estão entre os que manifestaram ótimo comportamento relativamente a essa característica, à exceção do híbrido BRS Victoria, que apresentou média tolerância, com base em avaliações do enrolamento foliar da copa em períodos de forte déficit hídrico. Cabe esclarecer que esses resultados não devem ser tidos como conclusivos, pois os mecanismos de tolerância à seca são múltiplos, diversos. As avaliações de tolerância à seca mediante critério de notas de enrolamento foliar dão-nos uma indicação de indivíduos tolerantes ao déficit hídrico, porém não necessariamente aqueles que apresentam enrolamentos foliares mais expressivos devem ser tidos como intolerantes. Há indivíduos, como o limoeiro 'Cravo', que têm como estratégia de convívio com o déficit hídrico a constante busca pela extração de água, o que faz com que as variedades copa nele enxertadas, sob déficit hídrico, não apresentem enrolamento foliar expressivo. Há outros indivíduos, todavia, cuja estratégia de adaptação a ambientes com escassez hídrica é o do uso parcimonioso da água, para que suas reservas no

solo não se esgotem rapidamente, estratégia essa que leva ao fechamento de estômatos para diminuir a evapotranspiração, causando, conseqüentemente, o enrolamento foliar (SANTANA et al., 2019).

O que realmente pesa na identificação de porta-enxertos tolerante à seca é sua alta taxa de sobrevivência em ambientes com elevados períodos de déficit hídrico associado a altas temperaturas, a par da determinação, à variedade copa, de alta eficiência produtiva. Os indivíduos selecionados para uso neste estudo, em geral, apresentam boa adaptação a situações de escassez hídrica, quando enxertados com a laranjeira 'Valência', conforme verificado por Costa et al. (2020), sendo exceção, nesse conjunto de genótipos BRS Matta, que sofre com o déficit hídrico, apesar da alta eficiência produtiva que determina à laranjeira 'Valência'. Sua sensibilidade ao déficit hídrico é atestada pela alta taxa de mortalidade de plantas que apresentou no estudo conduzido pelos referidos autores.

O segundo grupo (G2) foi representado pelos indivíduos BRS L Navarro, BRS HLeão, BRS Matta, BRS O S Passos, BRS Pompeu, BRS O Sempionato e BRS Stuchi, grupo este, à exceção BRS Matta, com alta tolerância à seca em campo na condição de porta-enxertos para a laranjeira 'Valência' e, na condição de *seedlings* nucelares em fase inicial de desenvolvimento, com bom desempenho em relação ao crescimento específico da raiz. O comprimento específico da raiz tem associação positiva com o comprimento total da raiz e apresenta potencial de transporte de água e nutrientes, de suma importância para o desenvolvimento das plantas (SYVERTSEN e GRAHAM, 1985; FITTER, 2002; COMAS et al., 2013).

O terceiro grupo (G3), formado pelos genótipos BRS N Gimenes Fernandes, BRS Bravo, BRS Bandeirante, RÍOS CASTAÑO e BRS Donadio, compreende os híbridos que apresentaram maiores médias de SRL e menores médias de diâmetro de raiz, corroborando o que relataram HERNÁNDEZ et al. (2010) e HENRY et al. (2012), quando afirmaram que plantas lenhosas adaptadas às condições de seca possuem raízes finas de menor diâmetro e maior SRL. Todos os representantes de G3, à exceção de BRS Bandeirante apresentaram altos valores de TCI e de MSR, ficando esse grupo em segundo

lugar, estatisticamente, em relação à magnitude das citadas variáveis. Nesse grupo, ainda, constatou-se alta a média relação MSR/MSPA, DCR variável e alto CTR, sendo exceção os híbridos BRS Donadio e BRS Bandeirante, que manifestaram médio CTR. Observações em campo (COSTA et al., 2020) indicaram que esses genótipos, como porta-enxertos para laranjeira ‘Valência’, determinaram boa eficiência produtiva e alta tolerância à seca, à exceção do BRS N Gimenes Fernandes que apresentou tolerância à seca média e do BRS Bandeirante que manifestou a menor tolerância à seca entre os porta-enxertos avaliados, tendo por base o caráter enrolamento foliar.

Carvalho et al. (2016); Ramos et al. (2015) e Costa et al. (2020), avaliando o híbrido BRS Bravo, em regiões distintas e na condição de porta-enxerto para diferentes variedades copa, ‘Pera’ e ‘Valência’, respectivamente, confirmaram sua alta tolerância à seca, a par da indução de alta produção de frutos. Cabe ressaltar que independente do clima e da copa na qual o híbrido BRS Bravo foi enxertado, não houve influência em relação ao seu potencial produtivo e de tolerância à seca, estando apto a adaptar-se a diferentes regiões de cultivo, sendo uma ótima opção para a diversificação de porta-enxertos na sustentação dos pomares brasileiros, juntamente com o limoeiro ‘Cravo’.

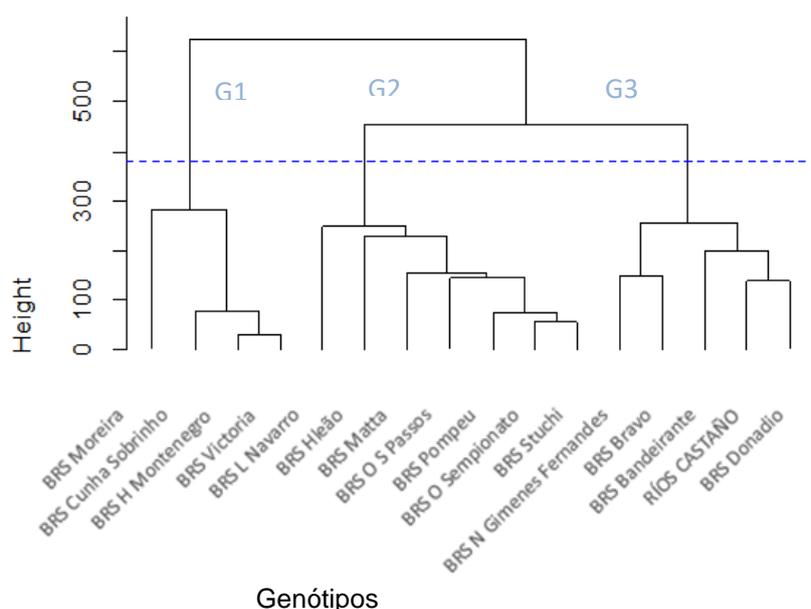


Figura 5: Dendrograma da matriz de distância pelo método de ligação simples dos 16 genótipos avaliados para as características da raiz

CONCLUSÃO

Avaliações fenotípicas, na fase inicial de desenvolvimento das plantas, permitiram a identificação de variáveis que apresentam alta correlação com a tolerância à seca, possibilitando, portanto, a identificação de indivíduos promissores em um curto período de tempo (cinco meses).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARA, T.Z.; BOROOMAND, N.; HOSSEINI, M.S. Physiological and morphological response to drought stress in seedlings of ten citrus. **Trees**, v. 30985–993, 2016.

ARUNYANARK, A.; JOGLOY, S.; AKKASAENG, C.; VORASOOT, N.; NAGESWARA RAO, R.C.; WRIGHT, G.C.; PATANOTHAI, A. Association between aflatoxin contamination and drought tolerance traits in peanut. **Field Crops Research**, v. 114, p. 14-22, 2009.

BAI, C.; GE, Y.; ASHTON, R.W.; EVANS, J.; MILNE, A.; HAWKESFORD, M.J.; WHALLEY, W.R.; PARRY, M.A.J.; MELICHAR, J.; FEUERHELM, D.; BANSEPT BASLER, P.; BARTSCH, M. The relationships between seedling root screens, root growth in the field and grain yield for wheat. **Plant Soil**, v. 440, p. 311–326, 2019.

BERNARDI, A.C.C; CARMELLO, Q.A.C.; CARVALHO, S.A. Development of citrus nursery trees grown in pots in response to NPK fertilization. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 733-738, 2000.

BLUM, A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 56, n. 11, p. 1159–68, 2005.

CARVALHO, L.M. de; CARVALHO, H W.L. de; SOARES FILHO, W.dos S.; MARTINS, C.R.; PASSOS, O.S. Porta-enxertos promissores, alternativos ao limoeiro 'Cravo', nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 2, p. 132-141, 2016.

CERQUEIRA, E.C.; NETO, M.T.C.; PEIXOTO, C.P.; SOARES FILHO, W. dos S.; LEDO, C.A.S.; OLIVEIRA, J.G. Resposta de porta-enxertos de citros ao déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 26, n. 3, p. 515-519, 2004.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v. 103, p. 551-560, 2009.

COMAS, L.H.; EISSENSTAT, D.M. Linking fine root traits to maximum potential growth rate among 11 mature temperate tree species. **Functional Ecology**, v. 18, p. 388–397, 2004.

COMAS, L.H.; MUELLER, K.E.; TAYLOR, L.L.; MIDFORD, P.E.; CALLAHAN, H.S.; and BEERLING, D.J. Evolutionary patterns and biogeochemical significance of angiosperm root traits. **International Journal of Plant Sciences**, v. 173, p. 584–595, 2012.

COMAS, L.H.; BECKER, S.R.; CRUZ, V.M.; BYRNE, P.F.; DIERIG, D.A. Root traits contributing to plant productivity under drought. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 442, 2013.

COSTA, D.P.; STUCHI, E.S.; GIRARDI, E.A.; GESTEIRA, A. das.; COELHO FILHO, M.A.; LEDO, C.A. das.; FADEL, A.L.; SILVA, A.L.V. da; LEÃO, H C. da; RAMOS, Y.C.; PASSOS, O.S. e SOARES FILHO, W. dos S. Hybrid Rootstocks for Valencia Sweet Orange in Rainfed Cultivation Under Tropical Savannah Climate. **Journal of Agricultural Science**; v. 12, n. 11; 2020.

DIAZ-ESPEJO, A.; BUCKLEY, T.N.; SPERRY, J.S.; CUEVAS, M.V, DE CIRES, A.; ELSAYED-FARAG, S.; MARTIN-PALOMO, M.J.; MURIEL, J.L.; PEREZ-MARTIN, A.; RODRIGUEZ-DOMINGUEZ, C.M.; RUBIO-CASAL, A.E.; TORRES-RUIZ, J.M.; FERNÁNDEZ, J.E. Steps toward an improvement in process-based models of water use by fruit trees: a case study in olive. **Agric Water Manag**, v 114, p. 37–49, 2012.

DUTRA, A.D.; COELHO FILHO, M.A.; PISSINATO, A.G.V.; GESTEIRA, A.S; SOARES FILHO, W.S. and FANCELLI, M. Mathematical models to estimate leaf area of citrus genotypes. *African Journal of Agricultural Research*, v. 12(2), pp. 125-132, 2017.

EISSENSTAT, D.M. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. **Journal of Plant Nutrition**, v. 15, p. 763-782, 1992.

FAROOQ, M.; HUSSAIN, M.; WAHID, A.; SIDDIQUE, K.H.M. Drought Stress in Plants: Na Overview. **Plant Responses to Drought Stress**, p. 1-33, 2012.

FITTER, A. "Characteristics and functions of root systems", in *Plant roots: The Hidden Half*, 3rd Edn, eds Y. Waisel, A. Eshel, and U. Kafkafi (New York, NY: Marcel Dekker, Inc.), p. 15–32, 2002.

FITTER, H.A., HEINEMEYER, A., HUSBAND, R., OLSEN, E.; RIDGWEY, K.P. AND STADDON, P.L. Global environmental change and the biology of arbuscular mycorrhizas: gaps and challenges. **Canadian Journal of Botany**, v. 82, p. 1133-1139, 2004.

GUO, D.L.; XIA, M.X.; WEI, X.; CHANG, W.J.; LIU, Y.; and WANG, Z.Q. Anatomical traits associated with absorption and mycorrhizal colonization are linked to root branch order in twenty-three Chinese temperate tree species. **New Phytologist**, v. 180, p. 673–683, 2008.

HERNÁNDEZ, E.I.; VILAGROSA, A.; PAUSAS, J.G.; AND BELLOT, J. Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. **Plant Ecology**, v. 207, p. 233–244, 2010.

HENRY, A. IRRI's drought stress research in rice with emphasis on roots: accomplishments over the last 50 years. **Plant Root**, v. 7, p. 5–19, 2012.

HO, M.D.; ZHU, J.; ROSAS, J.C.; BROWN, K.M.; LYNCH, J.P. Root architectural tradeoffs for water and phosphorus acquisition. **Functional Plant Biology**, v. 32, p. 737–748, 2005.

JANIAK, A.; KWAŚNIEWSKI, M. and SZAREJKO, I. Gene expression regulation in roots under drought. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 4 p. 1003–1014, 2016.

LYNCH, J. P.; PHOSPHORUS, L.; HO, M. Rhizo economics: carbon costs of phosphorus acquisition. **Plant Soil**, v. 269, p. 45–56, 2005.

NASCIMENTO, A.K.S.; PEDRO, D.F.; SUASSUNA, J.F; OLIVEIRA, A.C M.de; SOUSA, M.S. da S; AZEVEDO, J.G.N. Tolerância De Genótipos De Citros Ao Estresse Hídrico Na Fase De Porta-Enxerto. **Irriga**, Botucatu, Edição Especial, p. 438 - 452, 2012.

PES, L.Z.; ARENHARDT, M.H. Fisiologia vegetal - Santa Maria, RS: Universidade Federal de Santa Maria, Colégio Politécnico, **Rede e-Tec Brasil**, 2015.

PIERRET, A.; MORAN, C.J.C, DOUSSAN. Generalization of the root length density distribution of cotton under film mulched drip irrigation, **New Phytologist**, v.166, p: 967-980. 2005.

RAMOS, Y.C.; STUCHI, E.S.; GIRARDI, E.A.; LEÃO, H.C.; GESTEIRA, A.S.; PASSOS, O.S.; SOARES FILHO, W.dos S. Dwarfing rootstocks for 'Valencia' sweet orange. **Acta Horticulturae**, v. 1065, p.351-354, 2015.

REWALD, B.; EPHRATH, J.E.; RACHMILEVITCH, S. Uma raiz é uma raiz é uma raiz? Taxas de absorção de água por ordens de raízes de citros. **Plant Cell Environ**, v. 34, p. 33-42, 2011.

RICH, S.M.; & WATT, M. Soil conditions and cereal root system architecture: review and considerations for linking Darwin and Weaver. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 5, p. 1193–1208, 2013.

RODRIGUES, M.G.S.; LEDO, C.A.S.; GIRARDI, E.A.; ALMEIDA, L.A.H. SOARES FILHO, W.dos S. Caracterização de frutos e propagação de porta-enxertos híbridos de citros em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 37, n. 2, p. 457- 470, 2015.

SAMPAIO, A.H.R. ; COELHO FILHO, M.A.; SOUZA, L.D. ; BRITO, R.B.F. ; SILVA, R.O. Yield and Quality of Pera Sweet Orange Grafted on Different Rootstocks Under Rainfed Conditions. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – S, v. 38, n. 3, 2016.

SANTANA, L.G.L.; SOUZA, E. dos S.; LEDO, C.A.da S.; PASSOS, O.S.; COELHO FILHO, M.A.; GESTEIRA, A.da S.; SOARES FILHO, W. dos S. Reaction to drought stress of citrus progenies with potential use for rootstocks development. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 7, p. 1-9, 2019.

SANTOS, D.B.; COELHO, E.F.; AZEVEDO, C.A.V. Absorção de água pelas raízes do limoeiro sob distintas frequências de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 9, n. 3, p. 327-333, 2005.

SILVA, M.C.; SOUSA, A.R. O.; CRUZ, E.S.; SCHLICHTING, A.F.; SOARES FILHO, W.dos S.; GESTEIRA, A.S.; COELHO FILHO, M.A.; COSTA, M.G.C. Phenotyping of new hybrid citrus rootstocks under water deficit reveals conserved and novel physiological attributes of drought tolerance. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, p. 105, 2019.

SOARES FILHO, W.dos S.; STUCHI, E.S.; LEÃO, H.C.; SOUZA, A.S.; COSTA, M.G.C.; LEDO, C.A.da S. Porta-Enxertos para Laranjeira 'Valência' com

Potencial de Tolerância à Seca. **In Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, Guarapari, ES, Brazil, 10–13 August 2009.

SYVERTSEN, J.P.; GRAHAM, J.H. Hydraulic conductivity of roots, mineral nutrition, and leaf gas exchange of citrus rootstocks. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 110, p. 865-869, 1985.

SUASSUNA, J.F.; FERNANDES, P.D.; NASCIMENTO, R. do; OLIVEIRA, A.C.M. de.; BRITO, K.S.A. de.; e MELO, A.S. de. Produção de fitomassa em genótipos de citros submetidos a estresse hídrico na formação do porta-enxerto. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 12, p. 1305–1313, 2012.

SELLE, G.L.; VUADEN, E.; MURARI, A.B.; HACK, C.; FARIAS, J.A.E THOMAS, R. Biomassa radicular, densidade do solo e análise química do solo de um povoamento de Pinus sp. *Ambiência* - **Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 6 n. 1, 2010.

TRUBAT, R.; CORTINA, J.; VILAGROSA, A. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency *Pistacia lentiscus* (L.). **Trees**, v. 20, p. 334–339, 2006.

WASSON, A.P.; RICHARDS, R.A.; CHATRATH, R.; MISRA, S.C.; SAI PRASAD, S.V.; REBETZKE, G.J.; KIRKEGAARD, J.A.; CHRISTOPHER, J.; WATT., M. Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 9, p. 3485–3498, 2012.

ZEKRI, M. Citrus rootstocks affect scion nutrition, fruit quality, growth, yield and economical return. **Fruits**, Les Ulis Cedex, v. 55, n. 4, p. 231–239, 2000.

ARTIGO 2

FENOTIPAGEM DE GENÓTIPOS DE CITROS VISANDO À TOLERÂNCIA À SECA²

³Artigo a ser ajustado para submissão ao Comitê Editorial do periódico científico: Brazilian Journal of Plant Physiology

FENOTIPAGEM DE GENÓTIPOS DE CITROS VISANDO À TOLERÂNCIA À SECA

RESUMO: A fenotipagem de genótipos de citros mediante avaliações biométricas tem sido uma metodologia adotada pelos programas de melhoramento genético de citros visando identificar materiais tolerantes à seca por meio das características do sistema radicular que favorecem um melhor aproveitamento da água em condições de déficit hídrico. Neste sentido dois grupos de indivíduos híbridos foram avaliados em ambiente protegido e controlado (FITOTEC), Grupo 1: BRS Donadio e BRS Matta, Grupo 2: BRS Stuchi e BRS Bravo, com objetivo de observar qual o grupo de indivíduos do mesmo cruzamento apresentaria maior capacidade de adaptação a condições de déficit hídrico, além de seis genótipos híbridos BRS N Gimenes Fernandes, BRS Matta, BRS Victoria, BRS Stuchi, BRS HLeão e BRS Bravo, comparados em condição de vaso de maior e menor diâmetro (capacidade de solo), 0,3 m de altura e 0,075 m de diâmetro e 0,3 m de altura e 0,050 m, respectivamente. As variáveis avaliadas foram: altura da planta (ALT), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), área foliar (AF), massa seca da raiz (MSR) e da parte aérea (MSPA), MSR/MSPA, comprimento total de raiz (CTR), densidade de comprimento de raiz ($DCR = CTR/\text{volume da amostra}$), comprimento específico de raiz ($SRL = CTR/MSR$), diâmetro da raiz (DR) e classes de diâmetro de raiz (LC) antes e após o déficit. Para os dois grupos de genótipos avaliados não houve diferenças nas médias das variáveis analisadas devido a semelhanças nas características agrônômicas. Para os genótipos avaliados em tubos de maior e menor diâmetro, foi descartada a possibilidade de se trabalhar com tubos de menor tamanho, pois implicaria no desempenho deste material devido ao prejuízo causado no início do seu desenvolvimento. Houve interação significativa para as variáveis CTR, DCR, DR e MSR/MSPA entre os seis genótipos avaliados, sendo que o BRS N Gimenes Fernandes apresentou maior CTR e DCR e BRS Bravo apresentou maior MSR/MSPA, demonstrando potenciais indicativos de tolerância à seca desses genótipos.

Palavras-chave: Sistema radicular, déficit hídrico, produtividade, *Citrus* spp., *Poncirus trifoliata*.

CITRUS GENOTYPE PHENOTYPING PROCESS THROUGH BIOMETRIC EVALUATIONS FOR DROUGHT TOLERANCE

ABSTRACT: Phenotyping of citrus genotypes through biometric evaluations has been a methodology adopted by citrus breeding programs aiming to identify drought-tolerant materials by characteristics of the root system that favor a better use of water under conditions of water deficit improving productivity. Two groups of hybrids were evaluated in a protected and controlled environment (FITOTEC), as follows: Group 1 - BRS Donadio and BRS Matta, Group 2 - BRS Stuchi and BRS Bravo, with the objective of evaluating which group of genotypes from the same cross has the greatest capacity to adapt to conditions of water deficit, in addition to six hybrid genotypes: BRS N Gimenes Fernandes, BRS Matta, BRS Victoria, BRS Stuchi, BRS HLeão and BRS Bravo. These genotypes were compared in the condition of pot with larger and smaller diameter (soil capacity), 0.3 m in height and 0.075 m in diameter and 0.3 m in height and 0.050 m, respectively. The following variables were evaluated: plant height, number of leaves, final dry mass of the aerial part and the root and characteristics of the root system such as root length and root length density. For the two groups of genotypes evaluated, there was no difference in the means of the analyzed variables due to the similarity in the horticultural characteristics. For the genotypes evaluated in tubes with smaller and larger soil capacity, the possibility of working with smaller tubes was discarded, as this would imply in the performance of this material due to the damage caused at the beginning of development. There was a significant interaction for CTR, DCR, D and ROOT variables among the six evaluated genotypes, with BRS N Gimenes Fernandes showing higher CTR and DCR and BRS Bravo showing higher ROOT, demonstrating potential indications of drought tolerance of these genotypes.

Keywords: Root system, water deficit, productivity, Citrus spp., *Poncirus trifoliata*

INTRODUÇÃO

Devido ao longo período de produção, a cultura dos citros permanece sujeita a diversos estresses bióticos e abióticos (WU et al., 2013). A seca é um dos fatores abióticos que mais ameaça o cultivo dos citros, causando queda de produtividade, crescimento e desenvolvimento das plantas (OSAKABE et al., 2014). E ocorre frequentemente em torno do mundo e causa danos severos a produção das culturas (NAKASHIMA AND YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2013). O risco da seca acentuará dramaticamente durante este século, conforme estabelecido por modelos climáticos (DAI, 2011).

A busca por variedades cultivadas melhor adaptadas às mudanças climáticas tem sido acelerada devido ao impacto nos sistemas de cultivo, tentando diminuir a vulnerabilidade dos mesmos (FISHER et al., 2015). Entender os mecanismos de adaptação das plantas cultivadas é de fundamental importância para a pesquisa (VOLAIRE et al., 2014; KOOYERS, 2015). De acordo com Suassuna et al. (2012) o conhecimento das respostas de espécies cítricas ao estresse hídrico, na fase de porta-enxertos, é imprescindível por sua influência na tolerância da cultivar copa e, posteriormente, na produção e desenvolvimento das plantas, a fim de fornecer subsídios ao cultivo em áreas com restrição de água.

Neste sentido genótipos de citros tem sido avaliado em condição de *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas de germinação de sementes), em ambiente controlado e protegido procurando identificar indivíduos mais adaptados a condições de estresse hídrico, fato que tem levado a baixa produtividade dos pomares de citros. Desta forma, busca a diversificação de porta-enxerto que juntamente com o limoeiro 'Cravo' (*Citrus xlimonia* Osbeck) possa compor a citricultura brasileira aumentando a base genética desses materiais.

O Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura tem dado ênfase à pesquisa voltada para porta-enxertos que tenham boa capacidade de armazenamento de água e seja

tolerante ao déficit hídrico, procurando solução para os agricultores que cultivam em ambientes áridos e sem irrigação.

O objetivo deste trabalho foi avaliar genótipos de porta-enxerto de citros através da fenotipagem da parte aérea e da raiz para observar o desenvolvimento nos tubos de maior e menor capacidade de solo, objetivando a possibilidade de reduzir os custos de produção.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Condições do experimento e localização

O trabalho foi realizado entre os anos de 2018 e 2019, em condições controladas de temperatura e de umidade relativa (26°C e 70% UR diurna e 21°C e 80% UR noturna), em fotoperíodo de 12 horas, no FITOTEC - modelo LT 13,76 UFTP, pertencente ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Município de Cruz das Almas, BA.

2.2. Híbridos avaliados no experimento

Dois grupos de indivíduos híbridos com potencial de uso como porta-enxertos, foram estudados: Grupo 1: BRS Donadio e BRS Matta, Grupo 2: BRS Stuchi e BRS Bravo com objetivo de avaliar qual o grupo de indivíduos do mesmo cruzamento apresenta maior capacidade de adaptação a condições de déficit hídrico.

Além de seis genótipos híbridos BRS N Gimenes Fernandes, BRS Matta, BRS Victoria, BRS Stuchi, BRS HLeão e BRS Bravo que foram avaliados em tubos de maior e menor diâmetro (capacidade de solo), 0,3 m de altura e 0,075 m de diâmetro e 0,3 m de altura e 0,050 m de diâmetro, respectivamente (Figura 1), com objetivo de observar se o tamanho do tubo iria interferir na qualidade dos *seedlings*, e dessa forma não havendo di, haveria possibilidade de se produzir em tubos de menor tamanho, reduzindo assim o custo da produção.

Foram avaliados sete híbridos, Tabela 1, obtidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Utilizando como parentais: os híbridos trifoliolados HTR - 051 BRS Victoria {limoeiro 'Cravo' x trifoliata [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]}, HTR - 208 BRS HLeão (tangerineira 'Sunki' comum [*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] e trifoliata 'Benecke' [*P. trifoliata* (L.) Raf.], TSKC x limoeiro 'Cravo' comum (LCR) (*C. limonia* Osb.) x *P. trifoliata* (TR) - 017 BRS Stuchi e 059 BRS Bravo, TSKC x *P. trifoliata* 'Flying Dragon' (TRFD) - 003 BRS Donadio e 006 BRS Matta, limoeiro 'Rugoso da Flórida' (LRF) (*C. jambhiri* Lush.) x (LCR x TR) - 005 BRS N Gimenes Fernandes.

Tabela 1. Híbridos utilizados no estudo, obtidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros, com a finalidade de uso como porta-enxertos.

Código PMG Citros¹	Nome da cultivar⁴
HTR - 051 ²	BRS Victoria
HTR - 208 ³	BRS HLeão
TSKC x (LCR x TR) – 017	BRS Stuchi
TSKC x (LCR x TR) – 059	BRS Bravo
TSKC x TRFD – 003	BRS Donadio
TSKC x TRFD – 006	BRS Matta
LRF x (LCR x TR) – 005	BRS N Gimenes Fernandes

¹ HTR: híbrido trifoliolado; TSKC: tangerineira 'Sunki' comum; LCR: limoeiro 'Cravo' (*C. xlimonia* Osbeck); TR: trifoliata (*P. trifoliata*); TRFD: trifoliata 'Flying Dragon' [*P. trifoliata* var. *monstrosa* (T. Ito) Swingle]; LRF: limoeiro 'Rugoso da Flórida' (*C. xjambhiri* Lush.).

² Híbrido obtido do cruzamento limoeiro 'Cravo' x trifoliata 'Barnes'.

³ Híbrido obtido do cruzamento tangerineira 'Sunki' x trifoliata 'Benecke'.

⁴ Conforme inscrição no Registro Nacional de Cultivares (RNC) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).



Figura 1: Experimento em tubos de maior (A) e menor diâmetro (B) (capacidade de solo) 0,3 m de altura e 0,075 m de diâmetro e 0,3 m de altura e 0,050 m de diâmetro, respectivamente, no FITOTEC (ambiente com controle de temperatura e umidade) - modelo LT 13,76 UTFP, pertencente ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Município de Cruz das Almas, BA.

2.3. Semeadura e cultivo de *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de sementes) nucelares

Os *seedlings* foram produzidos em sistema semi-hidropônico (Figura 2), as sementes foram irrigadas com água uma vez ao dia através do acionamento da bomba do sistema na qual estava programada para ligar durante 10 minutos. As sementes dos seis híbridos componentes deste estudo foram submetidas à germinação em tubetes de 100 cm³, dispostos em bandejas, tendo como substrato areia lavada. Após a germinação das sementes, a irrigação foi conduzida com solução nutritiva Forth Nutri® diluída em água e estando os *seedlings* com quatro ou mais folhas definitivas, mediante observações visuais da morfologia foliar foi feita a identificação dos indivíduos de origem nucelar e híbrida, descartando-se os zigóticos. Irregularidades nos tamanhos dos nucelares foram observadas, sendo utilizados no experimento os mais uniformes. Uma vez identificados, os *seedlings* de origem nucelar, geneticamente idêntico aos genótipos selecionados para compor este trabalho,

foram transplantados para tubos de PVC com maior e menor diâmetro (capacidade de solo), 0,3 m de altura e 0,075 m de diâmetro e 0,3 m de altura e 0,050 m de diâmetro, respectivamente, contendo areia lavada e esterilizada, estando os tubos com capacidade máxima de retenção de água (umidade de $0,15 \text{ cm}^3, \text{ cm}^{-3}$). O transplântio ocorreu 90 dias após a semeadura.



Figura 2: *Seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de sementes) cultivados em sistema semi-hidropônico em casa de vegetação da Embrapa mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Ba.

Na irrigação dos *seedlings* foi utilizada a solução nutritiva Forth Nutri®, na razão de 0,72 mg da solução para um litro de água, aplicando-se um volume único às plantas de todos os genótipos híbridos, em função da evapotranspiração média obtida por pesagem, de forma a manter o substrato próximo à capacidade de campo. Para se estimar o teor de água correspondente ao da umidade em capacidade de campo na areia lavada, foram amostrados aleatoriamente cinco recipientes contendo areia lavada, obtendo-se o peso do conjunto recipiente + areia seca. Após esta etapa, esses recipientes foram postos em um receptáculo com água para saturação, aguardando-se o tempo necessário para a água chegar até a superfície da areia, por ascensão capilar, momento em que os recipientes com areia lavada esterilizada foram retirados para o escoamento do excesso de água por drenagem natural, durante 24 h, quando foi quantificado o peso do conjunto recipiente + areia úmida. Pela diferença entre as duas pesagens, (recipiente +

areia úmida) - (recipiente + areia seca), obteve-se o conteúdo hídrico retido pela areia, correspondente ao da capacidade de campo (SAMPAIO et al., 2016).

2.4. Avaliação biométrica

A avaliação das variáveis biométricas, realizada antes e depois dos *seedlings* serem submetidos ao déficit hídrico durante 40 dias, deu-se de acordo com a metodologia de Dutra et al. (2017), compreendendo: altura da planta (ALT, em cm), número de folhas (NF) e diâmetro do caule (DC, em mm) (Figura 3). No final do experimento (160 dias após a semeadura), as plantas foram divididas em parte aérea (caule e folhas) e raízes. As raízes foram lavadas e acondicionadas em álcool 30% e refrigeradas até o processo de digitalização das imagens em escâner.

O processo foi realizado com o software WinRizho, versão 2013d, resolução de 400 dpi (Figura 4), para obtenção do diâmetro da raiz (DR, em mm), classes de diâmetro da raiz: LC1 - classe de diâmetro de 0-0,5 mm, LC2 - 0,5-1,0 mm, LC3 - 1,0-1,5 mm, LC4 - 1,5-2,0 mm e LC5 - 2,0-2,5 mm, comprimento total da raiz (CTR, em cm), densidade de comprimento da raiz (DCR, em cm cm^{-3} , sendo $\text{DCR} = \text{CTR}/\text{Volume amostra}$) e o comprimento específico da raiz (SRL, em cm g^{-1} , sendo $\text{SRL} = \text{CTR}/\text{MSR}$). Posteriormente determinou-se a massa seca final da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) em ambas utilizando estufa com circulação forçada de ar a 65°C , pelo período de 72 horas.



Figura 3: Avaliação das variáveis biométricas altura da planta (ALT, em cm), número de folhas (NF), área foliar (AF, em cm^2), diâmetro do caule (DC, em mm) no FITOTEC no FITOTEC (ambiente com controle de temperatura e

umidade) - modelo LT 13,76 UTPF, pertencente ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Município de Cruz das Almas, BA.



Figura 4: Digitalização das imagens das raízes em escâner com o software WinRizho, versão 2013d, pertencente ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Município de Cruz das Almas, BA.

2.5. Delineamento experimental e análise estatística

O primeiro experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, com seis genótipos de citros, representados por *seedlings* nucelares e cinco repetições com um manejo hídrico.

O segundo experimento foi instalado em esquema fatorial 6x2, seis genótipos de citros submetido ao plantio em dois tubos de maior e menor diâmetro (capacidade de solo), 0,3 m de altura e 0,075 m de diâmetro e 0,3 m de altura e 0,050 m de diâmetro, respectivamente.

Os dados foram submetidos ao teste F da análise de variância. As médias dos genótipos foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e as médias dos tubos foram comparadas.

As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico R (R Core Team, 2021).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas avaliações realizadas, observaram-se irregularidades no tamanho (altura da planta e diâmetro do caule) nos *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas de sementes) identificados como nucelares, relativamente a todos os parentais femininos empregados nos cruzamentos realizados (Figura 5). Variações em grau de maturidade e em tamanho de embriões, provavelmente, expliquem em parte, essas irregularidades, uma vez que tais *seedlings*, por serem geneticamente iguais, deveriam ter apresentado maior uniformidade (SOARES FILHO et al., 2014).

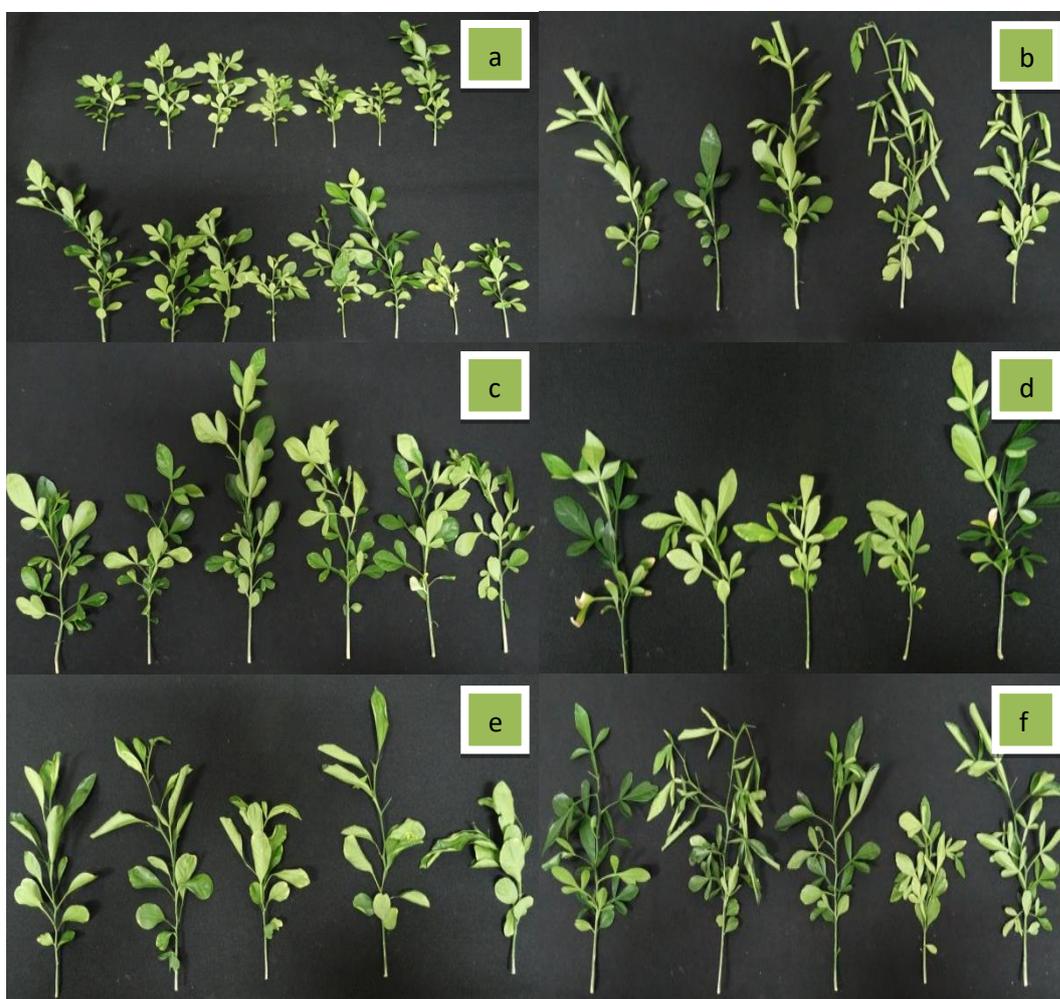


Figura 5: Irregularidades em tamanho (altura da planta e diâmetro do caule) observadas de *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas de sementes)

identificados como nucelares BRS Matta, b) BRS HLeão, c) BRS Stuchi, d) BRS Victoria, e) BRS Bravo, f) BRS N Gimenes Fernandes.

Para a análise de variância realizada pelos grupos formados no experimento, não houve diferença entre as médias das variáveis analisadas, de acordo com o teste F. De acordo com os resultados obtidos observa-se que não houve diferença significativa (Tabela 2) por se tratar de porta-enxertos selecionados em experimento em campo e por apresentar características semelhantes e visadas para citricultura como boa produção, qualidade de fruto, alta eficiência produtiva e tolerância à seca (RAMOS et al., 2015, CARVALHO et al., 2016 e COSTA et al., 2020).

O grupo 1 (Tabela 2), composto pelos híbridos BRS Donadio e BRS Matta são plantas que conjugam em nível de campo quando enxertados em laranjeira 'Valência' boa produção, qualidade de fruto e alta eficiência produtiva, similares ao o limoeiro 'Cravo Santa Cruz' (*C. xlimonia* Osbeck), em experimento realizado por Costa et al. (2020), BRS Matta foi sensível à seca, enquanto o BRS Donadio apresentou tolerância à seca, e com potencial para uso em condições edafoclimáticas semelhantes às do experimento. Esses híbridos também permitiram um adensamento viável economicamente com aumento de produção. O híbrido BRS Donadio pode ser empregado em condições de sequeiro como porta-enxerto semi-anicante (COSTA et al., 2020).

O grupo 2 (Tabela 2), formado pelos híbridos BRS Stuchi e BRS Bravo, são plantas que apresentaram em nível de campo maior eficiência produtiva e alta tolerância à seca, comparado ao o limoeiro 'Cravo Santa Cruz', apesar de apresentarem baixa estatura resultados estes observados por Costa et al. (2020). Respostas similares para o porta-enxerto BRS Bravo foram obtidas por Carvalho et al. (2016) ao estudarem o desempenho de diferentes porta-enxertos sob copa de laranja Pera nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe.

Costa et al. (2020), estudando alguns índices de seleção para porta-enxerto observou no híbrido BRS Bravo enxertado na laranjeira 'Valência' uma boa classificação na maioria dos índices de seleção estudados, apresentando respectivamente alta produção versus maior eficiência produtiva e tolerância à seca, sendo alternativas para a diversificação de porta-enxertos. Carvalho et al. (2016) observou no BRS Bravo eficiência produtiva numericamente superior ao

‘Cravo’.

A superioridade do híbrido BRS Bravo na indução de maior eficiência produtiva e produtividade também foi observada por Ramos et al. (2015), o avaliar a copa de laranjeira 'Valência', em plantas com 2, 3 e 4 anos de idade, em um conjunto de mais de 40 porta-enxertos cultivados no município de Colômbia, SP. Esse resultado é indicativo da precocidade produtiva desse porta-enxerto.

Auler et al. (2008) sugeriram que porta-enxertos que induzem copas menores e eficiência produtiva superior, como BRS Bravo são interessantes, pois possibilitam o incremento na produção com o adensamento do plantio. Além disso, a menor altura da planta favorece a eficiência na inspeção de controle de doenças e pragas, bem como a redução no custo das colheitas (BLUMER, 2005).

Tabela 2. Médias dos grupos das variáveis analisadas pelo teste F a 5% de probabilidade da altura da planta (ALT), diâmetro do caule (DC), número de folha (NF), área foliar (AF), massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte área (MSPA), comprimento total da raiz (CTR), diâmetro da raiz (DR), comprimento específico de raiz (SRL) e diâmetro de comprimento de raiz (DCR), em mudas de genótipos de citros sobre déficit hídrico. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura – PMG Citros. Cruz das Almas-BA. Abril a outubro, 2019.

GRUPOS	ALT	DC	NF	MSR	MSPA	CTR	DR	SRL	DCR
Grupo 1	15,40 a	2,69 a	15 a	0,40 a	0,62 a	490,8 a	0,60 a	1313 a	0,37 a
Grupo 2	14,59 a	2,54 a	13 a	0,41 a	0,52 a	530,90 a	0,58 a	1322 a	0,40 a
CV (%)	24,48	12,23	23,26	32,06	33,21	26,66	8,5	26,05	26,88

Médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. ¹ Grupo 1: BRS Donadio e BRS Matta e Grupo 2: BRS Stuchi e BRS Bravo

Os valores apresentados (Tabela 3) representam as variáveis biométricas que foram avaliadas durante o experimento nos tubos de maior e menor diâmetro (capacidade de solo). Para as variáveis altura da planta (ALT), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), massa seca da raiz (MSR),

massa seca da parte aérea (MSPA) e comprimento específico da raiz (SRL) e LC3 e LC5 (Tabela 3 e 4) não houve interação significativa entre os genótipos e tubos. Sendo assim, não houve diferença no cultivo desses genótipos nos tubos de maior e menor capacidade do solo para essas variáveis. Evidenciando que os fatores são independentes, ou seja, o comportamento de um fator independe da variação de outro fator.

As maiores alturas de planta relacionaram-se aos híbridos BRS N Gimenes Fernandes, BRS Stuchi e BRS Bravo e BRS HLeão, além desses o BRS Matta obteve maior média de número de folhas (NF), indicando seu potencial de expressão de maior vigor inicial, após a germinação das sementes e demonstrando maior eficiência fotossintética, respectivamente. As plantas com maior diâmetro de caule foram as dos híbridos BRS N Gimenes Fernandes, BRS Matta, BRS Stuchi e BRS HLeão. Esse comportamento indica a possibilidade de reduções no período de produção de mudas tendo esses genótipos como porta-enxertos em razão de sua rápida adequação ao início do processo da enxertia. O diâmetro do caule é um dos fatores de grande importância na seleção de bons porta-enxertos, pois tem uma estreita relação com o intervalo entre a germinação da semente da variedade porta-enxerto e o momento de sua enxertia. Quanto mais rápido for o desenvolvimento do caule, menor será esse intervalo (NASCIMENTO et al., 2012).

Observou-se que os genótipos que estavam nos tubos menores (0,3 m de altura e 0,050 m de diâmetro), apresentaram primeiro os sintomas de estresse, verificado através do enrolamento foliar. Isso ocorreu devido a menor capacidade de solo permitido por este tubo. Medina et al. (1999), relatou que sistema radicular quando limitado a um pequeno volume de substrato, pode desenvolver déficit hídrico mais rapidamente. Em condições de campo esses resultados podem ser diferentes, devido ao maior volume de solo utilizado pelo sistema radicular.

Dos seis genótipos híbridos avaliados para massa seca final da raiz (MSR), todos apresentaram maiores médias exceto o BRS Stuchi. Relativamente à variável massa seca final da parte aérea (MSPA), as maiores médias foram encontradas nos genótipos BRS N Gimenes Fernandes e BRS HLeão.

O genótipo BRS N Gimenes Fernandes foi o único que se destacou com as maiores médias nas variáveis MSR, MSPA e SRL, além de ser o único que se destacou com o maior SRL. De acordo com Pinto et al. (2019), avaliando porta-enxertos de citros in vitro, observaram neste genótipo maiores médias para massa seca de raízes. A relação crescimento e acúmulo de massa seca (MSR/MSPA) podem indicar eficiência de um genótipo no uso de carbono para a formação de células e tecidos formadores de caules, folhas e raízes (SAMPAIO et al., 2016).

Segundo Comas et al. (2013), genótipos com elevado SRL possui potencial de transporte de água e nutrientes e influencia diretamente o CTR, um dos mecanismos de tolerância à seca (CERQUEIRA et al., 2004), além de ser parte da resposta relacionada à maior produtividade dos frutos de algumas combinações copa/porta-enxerto (EISSENSTAT, 1992). De acordo com Costa et al. (2020), o genótipo CRS N Gimenes Fernandes quando enxertado na laranjeira 'Valência' apresenta bom desempenho agrônômico, sendo bastante produtivo, semelhante ao limoeiro 'Cravo Santa Cruz'. Para a variável LC3 só houve diferença na média dos genótipos para o BRS Victoria e a LC5 os BRS HLeão e BRS Bravo.

Tabela 3. Médias da altura de planta (ALT), Diâmetro do caule (DC), número de folha (NF), massa seca da raiz (MSR) e massa seca da parte área (MSPA) e comprimento específico de raiz (SRL) em mudas de genótipos de citros sob déficit hídrico. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura – PMG Citros. Cruz das Almas-BA. Abril a outubro, 2019.

GENÓTIPOS ¹	ALT	DC	NF	MSR	MSPA	SRL
BRS N Gimenes Fernandes	3,67 a	2,40 a	3,79 a	0,59 a	0,56 a	1833,30 a
BRS Matta	3,38 b	2,38 a	3,50 a	0,58 a	0,41 b	1075,62 c
BRS Victoria	3,16 b	2,03 c	3,11 b	0,43 a	0,28 c	1123,67 c
BRS Stuchi	3,52 a	2,37 a	3,51 a	0,48 b	0,46 b	1261,63 b
BRS HLeão	3,73 a	2,49 a	3,73 a	0,58 a	0,57 a	1231,78 b
BRS Bravo	3,71 a	2,24 b	3,56 a	0,60 a	0,45 b	1316,98 b
CV (%)	10,94	9,32	8,75	12,46	30,89	15,87

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Tabela 4. Classes de diâmetro de raiz de 1,0-1,5 mm (LC3) e 2,0 -2,5 mm (LC5), em *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de sementes) nucelares de 16 híbridos de citros sob déficit hídrico. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros. Cruz das Almas - BA. Abril a outubro, 2019.

GENÓTIPO ¹	LC3	LC5
BRS N Gimenes Fernandes	17,60a	4,47b
BRS Matta	16,45a	4,68b
BRS Victoria	7,52b	1,08d
BRS Stuchi	15,54a	2,80c
BRS HLeão	16,14a	6,14a
BRS Bravo	17,02a	5,47a
CV (%)	44,00	32,85

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Com relação às variáveis representadas na (Tabela 5), houve interação significativa entre os fatores analisados. O genótipo BRS N Gimenes Fernandes apresentou maior CTR, DCR para os tubos analisados e o genótipo BRS Bravo maior DCR para tubos de maior capacidade de solo. Segundo Comas et al. (2013), a DCR é uma das variáveis do sistema radicular consideradas como mais importantes para a sustentação da produtividade em condições de déficit hídrico.

De acordo com Cerqueira et al. (2004), um dos mecanismos de tolerância à seca é justamente o desenvolvimento das raízes em busca de água e Arunyanark et al. (2009), observaram que as características de tolerância à seca estão diretamente ligadas ao CTR. Segundo Tardieu (2012), um dos mecanismos de prevenção ao déficit hídrico, além do fechamento estomático, abscisão foliar, redução no crescimento, tem-se também o aumento do comprimento da raiz. O genótipo BRS Bravo foi o que apresentou maior relação (MSR/MSPA), demonstrando seu potencial indicativo de tolerância à seca. Suassuna et al. (2012), relatou que a maior relação entre a

raiz e a parte aérea está relacionada provavelmente à melhor exploração de áreas úmidas, podendo ser importante indicativo de tolerância ao déficit hídrico.

Para diâmetro de raiz o genótipo BRS Victoria apresentou maior média para tubo de maior e menor diâmetro e a BRS Matta para tubo de menor diâmetro. Com relação a variável MSR/MSPA o genótipo que apresentou maior média foi o BRS Bravo para tubo de maior tamanho e os todos os genótipos avaliados para tubo de menor tamanho.

De acordo com os genótipos avaliados dentro dos tubos de menor e maior de diâmetro, 0,3 m de altura e 0,075 m de diâmetro e 0,3 m de altura e 0,050 m de diâmetro, respectivamente, para as variáveis CTR, DCR, DR, relação (MSR/MSPA), LC1, LC2 e LC4 (Tabelas 5 e 6) houve interação significativa entre genótipos e tubos. Para a variável CTR houve diferença dos genótipos com relação aos tubos avaliados, exceto para a BRS Victoria.

Os tubos de menor tamanho apresentaram melhor desenvolvimento para a variável DCR, apesar da DCR está diretamente ligada à CTR onde $DCR = CTR / \text{volume da amostra}$, ela foi influenciada pelo volume do tubo. A variável DR houve diferença para tubo de menor tamanho para os genótipos BRS Matta e BRS Victoria e a relação (MSR/MSPA) apresentou diferença nas médias somente para tubo de menor tamanho para genótipo BRS Bravo.

Para a classe de diâmetro LC1 com relação aos genótipos que apresentaram maior desenvolvimento da variável foi o BRS Bravo para tubos de maior e menor tamanho, a LC2 o genótipo BRS N Gimenes Fernandes para os dois tubos avaliados, o genótipo BRS Bravo para tubo de maior diâmetro e o BRS HLeão para tubo de menor diâmetro. A classe LC4 o genótipo BRS Matta para tubo de maior diâmetro e os todos os genótipos avaliados para tubos de menor diâmetro. Com relação aos tubos avaliados houve diferença nas médias para tubos de menor tamanho prejudicando o desenvolvimento do genótipo BRS N Gimenes Fernandes e o BRS Bravo. Para a variável LC2 todos os genótipos foram diferiram estatisticamente para tubo de menor tamanho exceto o genótipo BRS Victoria e para o LC4 diferiram estatisticamente para tubos de menor diâmetro para os genótipos BRS Matta e BRS Bravo.

Com os resultados obtidos pode-se verificar que tubos de maior tamanho são melhores para a formação dos *seedlings*, descartando assim a possibilidade de se trabalhar com tubos de menor tamanho, o que diminuiria os

custos da produção, no entanto implicaria no desempenho deste material em campo devido aos prejuízos causado no início do seu desenvolvimento principalmente com relação a variável CTR imprescindível na exploração da água e absorção de nutrientes em camadas mais profundas do solo em períodos de seca.

Tabela 5. Médias de comprimento total de raiz (CTR), densidade de comprimento de raiz (DCR), diâmetro de raiz (DR) e relação massa seca da raiz/parte área (MSR/MSPA) em seis *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de sementes) de genótipos de citros sob déficit hídrico. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura – PMG Citros. Cruz das Almas-BA. Abril a outubro, 2019.

1GENÓTIPOS ¹	CTR		DCR		DR		MSR/MSPA	
	TA	TB	TA	TB	TA	TB	TA	TB
BRS N Gimenes								
Fernandes	816,83 aA	482,25 aB	0,62 aB	1,39 aA	0,52 cA	0,50 bA	0,89 bA	0,70 aA
BRS Matta	460,05 cA	263,62 bB	0,35 bB	0,78 cA	0,62 bA	0,57 aB	0,96 bA	0,84 aA
BRS Victoria	237,00 dA	157,27 bA	0,18 bB	0,40 dA	0,7 aA	0,59 aB	0,88 bA	0,76 aA
BRS Stuchi	384,23 cA	220,23 bB	0,29 bB	0,65 cA	0,62 bA	0,61 aA	0,72 bA	0,74 aA
BRS HLeão	496,60 cA	340,36 bB	0,37 bB	0,84 cA	0,59 cA	0,58 aA	0,79 bA	0,78 aA
BRS Bravo	657,54 bA	304,16 bB	0,50 aB	1,11 bA	0,56 cA	0,54 bA	1,19 aA	0,68 aB
CV (%)	24,59		24,01		7,10		17,51	

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a 5% de probabilidade

Tabela 6. Classes de diâmetro de 0-0,5 mm (LC1), 0,5-1,0 mm (LC2) e 1,5-2,0 mm (LC4), em *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de sementes) nucelares de seis híbridos de citros sob déficit hídrico. Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros. Cruz das Almas - BA. Abril a outubro, 2019.

GENÓTIPOS ¹	LC1		LC2		LC4	
	TA	TB	TA	TB	TA	TB
BRS N Gimenes Fernandes	536,14aA	330,05aB	249,50aA	131,94aB	4,25cA	2,91aA
BRS Matta	242,18cA	153,44bA	181,65bA	93,51bB	8,70aA	1,83aB
BRS Victoria	77,61dA	82,75bA	56,55cA	62,19bA	3,65cA	3,19aA
BRS Stuchi	183,86cA	116,25bA	172,87bA	89,57bB	3,02cA	2,17aA
BRS HLeão	283,21cA	194,17bA	185,36bA	122,11aB	4,34cA	3,07aA
BRS Bravo	399,43bA	199,90bB	220,91aA	87,43bB	6,30bA	2,70aB
CV (%)	30,98		24,82		45,45	

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste F a 5% de probabilidade

CONCLUSÕES

As variáveis analisadas não permitiram a discriminação entre os genótipos estudados.

O tubo de menor diâmetro não permitiu o bom desenvolvimento das plantas dos genótipos avaliados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARUNYANARK, A.; JOGLOY, S.; AKKASAENG, C.; VORASOOT, N.; NAGESWARA RAO, R. C.; WRIGHT, G. C.; PATANOTHAI, A. Association between aflatoxin contamination and drought tolerance traits in peanut. **Field Crops Research**, v. 114, p. 14-22, 2009.

AULER, P.A.M.; FIORI-TUTIDA, A.C.G.; TAZIMA, Z.H. Comportamento da laranjeira 'Valência' sobre seis porta-enxertos no noroeste do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 229-234, 2008.

BLUMER, S. Citrandarins e outros híbridos de trifoliata como porta-enxertos nanicantes para a laranjeira 'Valência' (Citrus sinensis L. Osbeck). 118p. **Tese (Doutorado)** – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

CARVALHO, L.M.; CARVALHO, H.W.L.; SOARES FILHO, W. S.; MARTINS, C. R.; PASSOS, O.S. Porta-enxertos promissores, alternativos ao limoeiro 'Cravo', nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 51, n. 2, p. 132-141, 2016.

CERQUEIRA, E.C.; NETO, M.T.C.; PEIXOTO, C.P.; SOARES FILHO, W. dos S.; LEDO, C.A.S.; OLIVEIRA, J.G. Resposta de porta-enxertos de citros ao déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 26, n. 3, p. 515-519, 2004.

COMAS, L.H.; MUELLER, K.E.; TAYLOR, L.L.; MIDFORD, P.E.; CALLAHAN, H.S.; and BEERLING, D.J. Evolutionary patterns and biogeochemical significance of angiosperm root traits. **International Journal of Plant Sciences**, v. 173, p. 584–595, 2012.

COMAS, L.H.; BECKER, SR.; CRUZ, V.M.; BYRNE, PF.; DIERIG, D.A. Root traits contributing to plant productivity under drought. **Frontieres in Plant Science**, v. 5, p. 442, 2013.

COSTA, D.P.; STUCHI, E.S.; GIRARDI, E.A.; GESTEIRA, A. da S.; COELHO FILHO, M.A.; LEDO, C.A. da S.; FADEL, A.L.; SILVA, A.L.V. da; LEÃO, H.C. da; RAMOS, Y.C.; PASSOS, O.S. e SOARES FILHO, W. dos S. Hybrid Rootstocks for Valencia Sweet Orange in Rainfed Cultivation Under Tropical Savannah Climate. **Journal of Agricultural Science**; v. 12, n. 11; 2020.

COSTA, D.P.; RIBEIRO, L. de O.; COELHO FILHO, M.A.; LEDO, C.A. da S.; STUCHI, E.S.; GIRARDI, E.A.; GESTEIRA, A. da S.; SOARES FILHO, W. dos S. Nonparametric indices for the selection of hybrid citrus as rootstocks grafted with 'Valência' sweet orange. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 55, e01592, 2020.

DAI, A. Drought under global warming: a review. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change**, v. 2, p. 45–65, 2011.

DUTRA, A. D.; COELHO FILHO, M.A.; PISSINATO, A.G.V.; GESTEIRA, A.S.; SOARES FILHO, W.S. and FANCELLI, M. Mathematical models to estimate leaf area of citrus genotypes. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 2, p. 125-132, 2017.

EISSENSTAT, D.M. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. **Journal of Plant Nutrition**, v. 15, p. 763-782, 1992.

KOOYERS, N.J. The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. **Plant Science**, v. 234, p: 155–162, 2015.

MEDINA, C.L.; MACHADO, E.C. Trocas gasosas e relações hídricas de laranjeira ‘Valência’, enxertada sobre limoeiro ‘Cravo’ e poncirus ‘Trifoliata’, submetida à deficiência hídrica. **Bragantia**, Campinas, v. 57, p. 1-8, 1998.

NASCIMENTO, A.K.S.; PEDRO, D.F.; SUASSUNA, J.F; OLIVEIRA, A.C.M.de; SOUSA, M.S. da S; AZEVEDO, J.G.N. Tolerância De Genótipos De Citros Ao Estresse Hídrico Na Fase De Porta-Enxerto. **Irriga**, Botucatu, Edição Especial, p. 438 - 452, 2012.

OSAKABE, Y., YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K., SHINOZAKI, K. & TRAN, L.S.P. ABA control of plant macroelement membrane transport systems in response to water deficit and high salinity. **New Phytologist**, v. 202, p. 35–49, 2014.

PINTO, C.R; MENDES, M.I de S; VERDE, D. dos S.V; NOBRE, L.V.C; SANTOS, K.C.F. dos S; SOUZA, A. da S.E.; SOARES FILHO, W dos S. Efeito de diferentes concentrações de um agente gelificante no desenvolvimento in vitro de porta-enxertos de citros. **13ª Jornada Científica – Embrapa Mandioca e Fruticultura**. ANAIS-2019-Ainfo-17 pdf.

PORTES, M.T.; ALVES, T.H AND SOUZA, G.M. Water deficit affects photosynthetic induction in *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae) and *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae) growing in understory and gap conditions.

Brazilian Journal of Plant Physiology, Londrina, v. 18, n. 4, p. 491-512, Oct./Dec.2006.

RAMOS, Y.C.; STUCHI, E.S.; GIRARDI, E.A.; LEÃO, H.C.; GESTEIRA, A.S.; PASSOS, O.S.; SOARES FILHO, W. dos S. Dwarfing rootstocks for 'Valencia' sweet orange. **Acta Horticulturae**, v. 1065, p. 351-354, 2015.

SAMPAIO, A.H.R. ; COELHO FILHO, M.A.; SOUZA, L.D. ; BRITO, R.B.F.; SILVA, R.O. Yield and Quality of Pera Sweet Orange Grafted on Different Rootstocks Under Rainfed Conditions. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – S, v. 38, n. 3, 2016.

SOARES FILHO, W. dos S; SOUZA, U; LEDO, C.A. da S; SANTANA, L.G.L; PASSOS, O.S. POLIEMBRIONIA E POTENCIAL DE OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS EM CITROS. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal - SP, v. 36, n. 4, p. 950-956, 2014.

SUASSUNA, J.F., FERNANDES, P.D., NASCIMENTO, R. do; OLIVEIRA, A. C. M. de; BRITO, K. S. A de e MELO, A.S. de. Produção de fitomassa em genótipos de citros submetidos a estresse hídrico na formação do porta-enxerto. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n.1 2, p. 1305–1313, 2012.

TARDIEU, F. Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: Just design the right drought scenario. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 1, p. 25-31, 2012.

VOLAIRE, F.; BARKAOUI, K.; NORTON, M. Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: adaptive strategies, functional traits and biotic interactions. **European Journal of Agronomy**, v. 52, p. 81– 89, 2014.

WASSON, A.P.; RICHARDS, R.A.; CHATRATH, R.; MISRA, S. C.; PRASAD, S. V.; REBET- ZKE, G. J.; et al. Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops. **Journal of Experimental. Botany**, v. 63, n. 9, p. 3485–3498, 2012.

WU, Q. S., SRIVASTAVA, A. K. & ZOU, Y. N. AMF-induced tolerance to drought stress in citrus: A review. **Scientia Horticulturae**, v. 164, p. 77–87, 2013.

ARTIGO 3

VARIABILIDADE GENÉTICA DE MEIO-IRMÃOS OBTIDOS POR POLINIZAÇÃO ABERTA DO PARENTAL FEMININO BRS BRAVO³

³Artigo a ser ajustado para submissão ao Comitê Editorial do periódico científico: Revista Brasileira de Fruticultura.

VARIABILIDADE GENÉTICA DE MEIO-IRMÃOS OBTIDOS POR POLINIZAÇÃO ABERTA DO PARENTAL FEMININO DO PORTA-ENXERTO BRS BRAVO

RESUMO: Meio-irmãos obtidos por polinização aberta do parental feminino BRS Bravo foram avaliados objetivando observar as características das raízes dos híbridos gerados, bem como avaliar a frequência de híbridos tolerantes ao déficit hídrico em experimento instalado em campo e em laboratório. O estudo compreendeu 60 genótipos de citros fornecidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura em fase inicial de desenvolvimento tendo por base características fenotípicas indicativas de tolerância ao déficit hídrico. O trabalho foi conduzido em ambiente protegido e controlado (FITOTEC). Utilizou-se a técnica de PCR por microssatélites (SSR) para auxiliar a identificação dos genótipos híbridos. Observando-se um manejo de água com déficit hídrico, foram avaliadas as variáveis massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR), diâmetro de raiz (DR), dividindo-o em classes de diâmetro (LC), comprimento total da raiz (CTR) e SRL (razão entre CTR e MSR). Os resultados foram submetidos à análise multivariada. Os dados foram usados em análise de componente principal (PCA), classificação de cluster hierárquico, teste de χ^2 , boxplot e histograma por meio do programa estatístico R. Através da análise de PCA pode-se observar as características das raízes dos indivíduos analisados. A variabilidade fenotípica total representada pelos PC1 e PC2 foi de 75,1%. As variáveis que mais contribuíram para a variação fenotípica pelo PC1 foram: MSR, CTR, MSPA e LC1, LC2, LC3 e LC5 e para PC2, D e SRL. A análise de cluster hierárquico formou três grupos distintos, 44 indivíduos foram identificados como híbridos. É possível restringir o quantitativo de plantas tolerantes ao déficit hídrico a serem levadas a campo por meio das observações das frequências obtidas dos experimentos avaliados em campo e laboratório.

Palavras-chave: Porta-enxerto, massa seca da raiz, PCR, *Citrus* spp, *Poncirus trifoliata*, marcador de DNA.

GENETIC VARIABILITY OF HALF-SIBLINGS OBTAINED BY OPEN-CROSS OF THE FEMALE PARENT OF THE BRS BRAVO ROOTSTOCK

ABSTRACT: Half-siblings obtained by open pollination of the female parent of BRS Bravo were evaluated in order to observe the characteristics of the roots of the generated hybrids, as well as to evaluate the frequency of hybrids tolerant to water deficit in an experiment installed in the field and in the laboratory. The study comprised of 60 citrus genotypes provided by the Citrus Genetic Improvement Program at Embrapa Mandioca e Fruticultura at the young stage of development, based on phenotypic characteristics indicative of water deficit tolerance. The work was conducted in a protected and controlled environment (FITOTEC). Observing a water management with water deficit, the variables of aerial part dry mass (MSPA) and root dry mass (MSR) were evaluated, root diameter (DR), dividing it into diameter classes (LC), total root length (CTR) and specific root length ratio between CTR and MSR, were also evaluated. Results were submitted to multivariate analysis. Data were used in Principal Components Analysis (PCA), hierarchical cluster classification, χ^2 test, boxplot and histogram. Correlations were performed between variables and a correlation matrix was constructed using the R software. Through the PCA analysis, the characteristics of the individual roots analyzed can be observed. The total phenotypic variability represented by the PC1 and PC2 components was 75.1%. The variables that most contributed to the phenotypic variation in PC1 were: MSR, CTR, MSPA and LC1, LC2, LC3 and LC5. For PC2 the variables that contributed the most were: D and SRL. The hierarchical cluster analysis formed three distinct groups and 44 individuals were identified as hybrids through the PCR technique. It is possible to restrict the quantity of water deficit tolerant plants to be taken into the field by observing the frequencies obtained from the experiments evaluated in the field and laboratory.

Keywords: Rootstock, root dry mass, PCR, *Citrus* spp, *Poncirus trifoliata*, DNA marker

INTRODUÇÃO

A limitação da água prejudica o crescimento das plantas, a qualidade dos frutos e em longo prazo, a sua vida útil (LAVOIE- LAMOUREUX et al., 2017). O impacto gerado pelas mudanças climáticas no sistema de cultivo acelerou a busca por variedades cultivadas melhor adaptadas, a fim de reduzir as vulnerabilidades (FISHER et al., 2015). Apesar da grande variabilidade genética presente nos bancos ativos de germoplasma de citros distribuídos no País, a diversificação de genótipos no Brasil não supre a necessidade da cultura, devido ao restrito número de combinações copa/porta-enxerto, dentre as quais predomina a combinação laranjeira 'Pera' (*Citrus sinensis* L. Osbeck) com limoeiro 'Cravo' (*Citrus xlimonia* Osbeck). Essa predominante combinação torna vulnerável a produção da cultura devido ao constante surgimento de doenças como no caso do declínio dos citros, que na década de 70 afetou laranjeiras enxertadas pelo limoeiro 'Cravo', além dos fatores abióticos como estresse hídrico devido à distribuição irregular das chuvas durante todo o ano nos Estados brasileiros.

A seleção de porta-enxerto de citros visando identificar plantas adaptadas ao convívio do estresse abiótico com ênfase na tolerância à seca vem sendo realizada através do Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros, na busca de reduzir perdas na produtividade proveniente da escassez hídrica nos pomares citrícolas. Através dessas seleções, porta-enxertos superiores ao limoeiro 'Cravo' tem sido identificados, dentre eles o híbrido BRS Bravo com alta eficiência produtiva, alta tolerância ao déficit hídrico e alta produção de frutos (RAMOS et al., 2015; CARVALHO et al., 2016 e COSTA et al., 2020).

Seleções têm sido realizadas também no sentido de identificar plantas híbridas e nucelares por meio de características morfológicas. No entanto, em algumas variedades, existe a dificuldade de seleção desses indivíduos por apresentarem características muito semelhantes entre elas. Isso se dá quando a porcentagem no grau da poliembrionia desses indivíduos é maior ou igual a 50%, havendo a necessidade de utilização de técnicas mais precisas, como o uso de marcadores moleculares, para identifica-los.

A técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) por Microsatélites (SSR – *Simple Sequence Repeat*) foi utilizada neste trabalho para identificar as plantas híbridas entre as nucelares originadas pelo híbrido BRS Bravo, porta-enxerto que tem sido utilizado na citricultura brasileira com potencial de tolerância à seca, além de outras características agrônômicas desejáveis.

Este trabalho teve como objetivo avaliar meio-irmãos obtidos por polinização aberta do parental feminino BRS Bravo, e observar as características das raízes dos híbridos gerados, bem como a frequência de híbridos tolerantes à seca em experimento instalado em campo e em laboratório. Com isto, pretende-se identificar precocemente os indivíduos com potencial de tolerância ao déficit hídrico restringindo avaliações subsequentes a um menor grupo de plantas, levando ao campo os indivíduos pré-selecionados por meio das características fenotípicas da raiz, reduzindo os custos, especialmente de espaço e de tempo, dispensados nas avaliações.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Condições do experimento e localização

O trabalho foi realizado no ano de 2019, em condições controladas de temperatura e de umidade relativa (26°C e 70% UR diurna e 21°C e 80% UR noturna), em fotoperíodo de 12 horas, no FITOTEC - modelo LT 13,76 UFTP, pertencente ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Município de Cruz das Almas, BA.

2.2. Híbridos avaliados no experimento

Foram avaliados 60 genótipos fornecidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em fase inicial de desenvolvimento de meio-irmãos obtidos por polinização aberta do parental feminino BRS Bravo. Este genótipo é superior quanto à tolerância ao déficit hídrico, com potencial uso como porta-enxerto. O principal objetivo do

trabalho foi avaliar a característica das raízes dos híbridos gerados, e a frequência de híbridos tolerantes ao déficit hídrico em experimento no campo e em laboratório.

2.3. Semeadura e cultivo dos *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de sementes) híbridos e nucelares

Sementes do híbrido BRS Bravo componente deste estudo foram submetidas à germinação em tubetes de 100 cm³, dispostos em bandejas, tendo como substrato areia lavada. Após a germinação das sementes, estando os *seedlings* com quatro ou mais folhas definitivas, mediante observações visuais da morfologia foliar, foi feita a identificação dos indivíduos de origem nucelar e híbrida, descartando-se os nucelares. Uma vez identificados, os *seedlings* de origem híbridas, foram transplantados para tubos de PVC com 0,3 m de altura e 0,075 m de diâmetro, contendo areia lavada e esterilizada, estando esses tubos com capacidade máxima de retenção de água (umidade de 0,15 cm³, cm⁻³). O transplante ocorreu 90 dias após a semeadura.

Na irrigação dos *seedlings* foi utilizada a solução nutritiva Forth Nutri®, na razão de 0,72 mg da solução para um litro de água, aplicando-se um volume único às plantas de todos os genótipos híbridos, em função da evapotranspiração média obtida por pesagem, de forma a manter o substrato próximo à capacidade de campo. Para se estimar o teor de água correspondente ao da umidade em capacidade de campo na areia lavada, foram amostrados aleatoriamente cinco recipientes contendo areia lavada, obtendo-se o peso do conjunto recipiente + areia seca. Em seguida, esses recipientes foram postos em um receptáculo com água para saturação, aguardando-se o tempo necessário para a água chegar até a superfície da areia, por ascensão capilar, momento em que os recipientes foram retirados para o escoamento do excesso de água por drenagem natural, durante 24 h, quando foi quantificado o peso do conjunto recipiente + areia úmida. Pela diferença entre as duas pesagens, (recipiente + areia úmida) - (recipiente + areia seca), obteve-se o conteúdo hídrico retido pela areia, correspondente ao da capacidade de campo (SAMPAIO et al., 2016).

2.4. Avaliação biométrica

As avaliações das variáveis biométricas foram realizadas antes e depois dos *seedlings* serem submetidos ao déficit hídrico por 40 dias. No final do experimento (160 dias após a semeadura), as plantas foram divididas em parte aérea (caule e folhas) e raízes. As raízes foram lavadas e acondicionadas em álcool 30% e refrigeradas até o processo de digitalização das imagens em escâner. O processo foi realizado com o software WinRizho, versão 2013d, resolução de 400 dpi (Figura 1), para obtenção do diâmetro da raiz (DR, em mm), classes de diâmetro da raiz: LC1 - classe de diâmetro de 0-0,5 mm, LC2 – 0,5-1,0 mm, LC3 - 1,0-1,5 mm, LC4 – 1,5-2,0 mm e LC5 - 2,0-2,5 mm, comprimento total da raiz (CTR, em cm) e o comprimento específico da raiz (SRL, em cm g⁻¹, sendo SRL = CTR/MSR). Posteriormente determinou-se a massa seca final da parte aérea (MSPA) e a massa seca final da raiz (MSR), e relação massa seca da raiz e parte aérea (MSR/MSPA), em ambas utilizando estufa com circulação forçada de ar a 65°C, pelo período de 72 horas.



Figura 1: Digitalização das imagens das raízes em escâner com o software WinRizho, versão 2013d, pertencente ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal e Meteorologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, município de Cruz das Almas, BA.

2.5. Avaliações em campo

Foram realizadas avaliações em campo na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, para tolerância à seca em 1298 híbridos, baseada nas avaliações visuais da escala de nota de déficit hídrico (enrolamento foliar): 1 - Todas as folhas da planta muito enroladas, com aspecto de secas e com muita queda de folhas; 2 - Todas as folhas da planta muito enroladas, mas com pouca queda de folhas; 3 - Folhas levemente enroladas em todos os ramos das plantas; 4 - Folhas levemente enroladas em poucos ramos da planta e 5 - Sem enrolamento foliar e para emissões de brotações: 1 - Sem brotações; 2 - Com brotações em apenas um quadrante da planta; 3 - Com brotações em dois ou três quadrantes da planta e 4 - Com brotações em todos os quadrantes da planta (SANTANA et al., 2019).

Para vigor baseada nas avaliações visuais da escala de nota de vigor: 1 - Plantas independentes da altura com vigor ruim; 2 - Plantas independentes da altura com vigor regular e 3 - Plantas independente da altura com vigor bom (SANTANA et al., 2018).

2.5. Identificação de plantas híbridas

No programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura a seleção das plantas híbridas e nucelares ao longo dos anos vem sendo realizada através das características morfológicas. No entanto, dificuldades têm sido apresentadas na identificação de plantas quando a porcentagem no grau da poliembrião desses indivíduos é maior ou igual a 50%. Para identificação das plantas híbridas utilizou-se a técnica de PCR por microssatélites (SSR). Uma população de 60 indivíduos foi avaliada, 15 combinações de primers foram utilizadas para a identificação dos indivíduos híbridos (Tabela 1).

Tabela 1. Microssatélites iniciadores usados para identificar híbridos do BRS Bravo por meio da técnica de PCR.

Primers SSR	Sequência F(5'- 3')	Sequência R (5'- 3')	Temperatura de anelamento ° C
TAA1	5' GAC AAG CAT CAA CAA CAG CAA GAG C 3'	5' AAG AAG AAG AGG CCC CAT TAG C 3'	57,0
TAA3	5' AGA GAA GAA ACA TTT GCG GAG C 3'	5' GAG ATG GGA CTT GGT TCA TCA CG 3'	57,8
CAC19	5' ACA ACC TTC AAC AAA ACT TAG G 3'	5' AAG ACT TGG TGC GAC AGG 3'	51,0
CT02	5' ACG GTG CGT TTT GAG GTA AG 3'	5' TGA CTG TTG GAT TTG GGA TG 3'	53,4
mCrCIR01E02	5' TGA ATG GTA CGG GAA ATG C 3'	5' CAG GGT CGG TGG AGA GGA T 3'	54,4
mCrCIR06B05	5' GAA CGA TGG AAT GAA GTG 3'	5' ATG TTG ATT ACG AGA CTT T 3'	43,8
CMS-4	5' CCT CAA ACC TTC TTC CAA TCC 3'	5' CTG TAA AGT ACA TGC ATG TTG G 3'	51,9
CMS-14	5' GGC TTC TCT TCT ACT AGA ACG G 3'	5' ACG CCA CGT AAG CAA TAA CC 3'	52,6
CMS-19	5' GGC TTT TGC CCA ATG ATG 3'	5' GTT GAC CTA AAA AGG GGG CAG 3'	54,0
CMS-20	5' GGA GCA TAT AAG CAT AAA CAC C 3'	5' AGG AA A ACG CAT AAA CCG TG 3'	54,0
CMS-30	5' AAC ACC CCT TGG ACG GAG 3'	5' GCT GTT CAC ACA CAC AAC CC 3'	53,2
M13	5' CCCTTGTTTTACGCCACTAG 3'	5' CTGATCCAGATCCAACCTTACG 3'	63,0
M50	5' GCGGTCGCTTAGTGAAGTGT 3'	5' TTGAATCCCGACCTTCTACC 3'	60,0
M112	5' GCAAACCACACAGTTATATCCG 3'	5' CTTCGATACCGACATCAGCA 3'	60,0
M126	5' TACGGACATCTTCTAAACCGACC 3'	5' GTCTGGACTCATTGACTTGAC 3'	60,0

TAA1 – (K 36/K 37); TAA3 – (K 42/K 43); CAC1 – (K 54/K 55); CT02 (K 62/K63); mCrCIR01E02 (K 72/K73 -); mCrCIR06B05 (K 76/K 77); CMS-4 – (K 82/K 83); CMS-14 – (K 84/K85); CMS-19 – (K86/K87); CMS-20 – (K 88/K 89); CMS-30 – (K 92/K 93); M13 – (M13); M50 – (M50); M112 – (M112) e M126 – (M126).

2.6. Extração de DNA

DNAs de folhas jovens dos indivíduos originados pelo BRS Bravo foram extraídos segundo o protocolo para extração de DNA sem nitrogênio líquido, utilizando o método da furadeira (modificado) (FERREIRA et al., 2019).

Utilizou-se sacos plásticos (20 x 10 x 0,01 cm - polietileno virgem de baixa densidade) e uma furadeira Biorema broca (Agdia®) (Figura 2) para moer tecido foliar dentro dos sacos plásticos com rotação de 2500 rpm até que o tecido estivesse totalmente dissolvido. Dois mL de tampão de extração (10% CTAB, 100 mM, NaCl a 5M, Tris-HCl, pH 8,0, 50 mM EDTA, pH 8,0, 1,4 M NaCl, 2% PVP-40, adicionou-se H₂O de milli-Q q.s.p. para completar o volume da solução e por último o B-mercaptoetanol a 0,4%) foram adicionados aos sacos plásticos contendo 300 mg de tecido foliar e macerados até obter um líquido homogeneizado. Transferiu-se 1 mL do macerado para tubos de 2 mL que foram incubados por 30 min em banho-maria a 65° C. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm em temperatura ambiente por 5 min. Depois 800 µL do sobrenadante foi coletado para novo tubo de 2 mL; adicionou-se 800 µL de clorofórmio: álcool Isoamílico (24:1) e homogeneizados. Posteriormente as amostras mais uma vez foram centrifugadas por 10 minutos a 10.000 rpm (temperatura ambiente).

Coletou-se 800 µL do sobrenadante e transferidos para novos tubos de 1,5 mL devidamente identificados. Em seguida, adicionou 600 µL de álcool Isopropílico (gelado), equivalente a aproximadamente 3/4 do volume coletado (600 µL). Homogeneizou-se suavemente, incubou-se a (-20°C) por 30 minutos; Centrifugou-se por 10 minutos a 10.000 rpm; Lavou-se o precipitado com 500 µL de etanol a 70%, e os tubos invertidos para secagem do pellet em temperatura ambiente.

Para resuspende o DNA, utilizou 100 µL de tampão TE (Tris-HCl 10 mM, pH 8,0; EDTA 1 mM), + (RNase 1,0 µL/ amostra) e as amostras colocadas em estufa a 37°C para completa solubilização do DNA durante 30 minutos. O DNA foi conservado a -20°C.



Figura 2: Biorema broca (Agdia®) utilizado para macerar o tecido foliar com tampão de extração em sacos plásticos de polietileno.

2.6. Amplificação por PCR

Para a amplificação por PCR de segmentos específicos de DNA por conjuntos de oligo relatado por Kijas et al., (1997), foi realizada uma mix para 15 μ l da reação usando 1, 2 μ l de de dNTPs 2,5 mM, 1,5 μ l do tampão Buffer 10 x, 1,5 μ l MgCl₂ 25 mM, 0,2 μ l Taq DNA polimerase comercial, 4,0 μ l de DNA (10ng/ μ l), 1,5 μ l de cada primer four e reverso 5 uM e 2,8 μ l de água nucleasse por amostra. O programa de amplificação do termociclador consistiu de um ciclo a 94 ° C por 3 min, seguido por 35 ciclos de 94 ° C por 30 seg, T ° C (do primer utilizado na reação) por 30 seg, 72 ° C por 45 seg. Uma extensão final de 7 min a 72 °C.

A amplificação dos fragmentos de DNA foi realizada em um termociclador Veriti™ 96 well Thermal Cycler. Os produtos de amplificação por PCR foram analisados em gel de agarose a 3 %. As condições de

funcionamento das amostras foram inicialmente 60 chegando a 100 V e 200 mA por 90 min.

2.7. Análise de dados

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 44 indivíduos, representados por *seedlings* de um genótipo hídrico, com um manejo hídrico com déficit hídrico. Os resultados foram submetidos à análise multivariada. Os dados foram usados em análise de componente principal (PCA), classificação de cluster hierárquico, teste χ^2 , boxplot e histograma. As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico R (R Core Team, 2021).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas híbridas foram identificadas comparando-se as bandas produzidas pelos híbridos com a do genitor BRS Bravo. Os 15 primers utilizados permitiram a identificação de *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de semente) híbridos através da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Dos 60 *seedlings* avaliados, 44 foram considerados como híbrido. Os primers que identificaram as maiores porcentagens de híbridos foram o K82/K83 com 70%, seguido do K84/K85 com 43,3%. Alguns dos híbridos identificados com esses primers estão presentes na Figura 3.

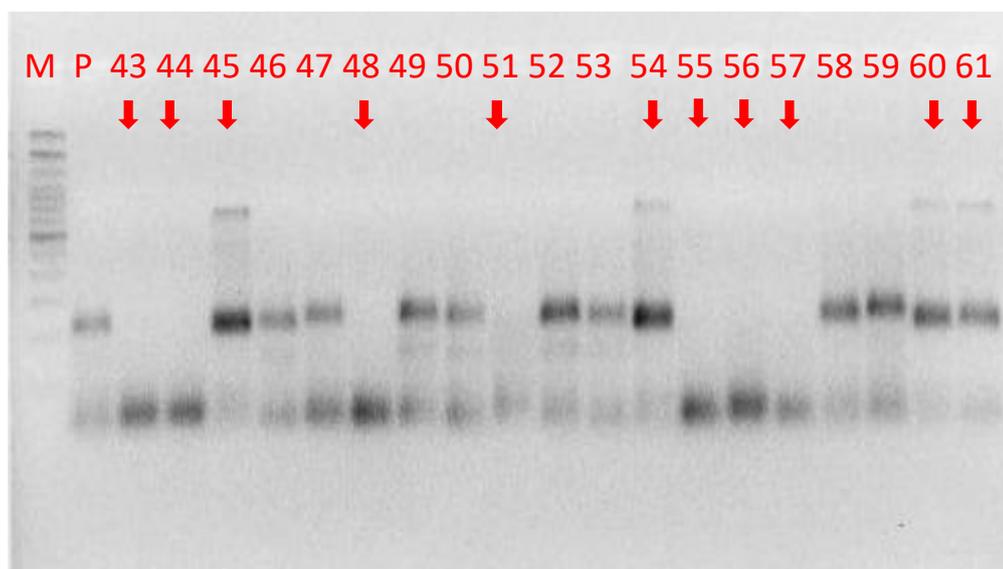


Figura 3. Análise de SSR dos *seedlings* (pés-franco ou plantas oriundas de germinação de sementes) obtidos pelo híbrido BRS Bravo em gel de agarose a 3%. Gel dos primer K82 e K83, M = marcador de 100pb, P = BRS Bravo. As setas em vermelho mostram os híbridos que foram identificados no gel.

A quantidade de híbridos identificados pelo conjunto dos 15 primers de SSR utilizados neste estudo está representada na Tabela 2. Todos os *seedlings* identificados como híbridos foram detectados por dois ou mais primers, demonstrando a acurácia dos resultados obtidos. Isso se deve aos marcadores SSR que apresentam altos níveis de polimorfismo, alto grau de confiabilidade, além de serem multialélicos e codominantes (OLIVEIRA et al., 2006).

Tabela 2. Quantidade de plantas híbridas identificadas por 15 primers de SSR utilizados para citros.

Identificação	Primers SSR	Híbridos identificados
K36, K37	TAA1	8
K42, K43	TAA3	25
K54, K55	CAC19	22
K62, K63	CT02	16
K72, K73	mCrCIR01E02	37
K76, K 77	mCrCIR06B05	24
K82, K83	CMS-4	42
K84, K85	CMS-14	26
K86, K87	CMS-19	22
K88, K89	CMS-20	18
K92, K93	CMS-30	22
M13	M13	12
M50	M50	17
M112	M112	24
M126	M126	17

A Análise de Componentes Principais ou PCA (*Principal Component Analysis*) foi utilizada para avaliar a correlação entre um grande número de variáveis e explicar essas variáveis através de suas importâncias (Figura 4). O PCA é uma técnica para reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados, aumentando a interpretabilidade, mas ao mesmo tempo, minimizando as perdas de informações (JOLLIFFE e CADIMA, 2016). Os resultados da análise de PCA indicaram grande variabilidade entre os indivíduos analisados para características da raiz indicativas de tolerância ao déficit hídrico, sendo de grande importância no desenvolvimento de indivíduos que sejam iguais ou superiores ao BRS Bravo e desta forma ampliando a base genética, das plantas oferecidas, o que irá garantir a sustentabilidade da citricultura.

A variabilidade fenotípica total representada pelos componentes PC1 e PC2 foi de 75,1%, onde PC1 contribuiu com 55,7% e PC2 contribuiu com 19,4%. Com base na análise, as principais variáveis que mais contribuíram para a variação fenotípica pelo componente PC1 em ordem decrescente foram:

MSR (massa seca de raiz) com 16,20%; CTR (comprimento total de raiz), com 16,70%; LC1 (classe de diâmetro 1) com 13,51%; LC2 (classe de diâmetro 2) com 12,68%; MSPA (massa seca da parte aérea) com % e LC3 (classe de diâmetro 3) com 8,32%, sendo as variáveis que menos contribuíram foram: ROOT (relação MSR/MSPA) com 6,00%; SRL (comprimento específico de raiz) com 0,73% e D (diâmetro de comprimento de raiz) com 0,15%. Para a CP2 as variáveis que mais contribuíram em ordem decrescente foram D com 44,54%; SRL com 18,48%; LC1 com 10,70% e LC3 com 15,90%, sendo as variáveis que menos contribuíram foram: CTR com 2,70%, ROOT com 1,02%; LC2, com 3,15%, respectivamente; MSR com 0,16% e MSPA com 0,54%.

Esses resultados demonstram a importância dessas variáveis como indicativas de tolerância à seca para o referido genótipo avaliado, sendo este superior ao limoeiro 'Cravo' quando enxertado na laranjeira 'Valência'. A superioridade deste genótipo foi constatada por Costa et al. (2020) e Ramos et al. (2015), em experimentos em campo ao avaliar copa de laranjeira 'Valência' e por Carvalho et al. (2016) ao avaliar copa de laranjeira Pera, onde apresentou alta eficiência produtiva e alta tolerância à seca.

Para o CP1 as variáveis MSR e MSPA se correlacionaram forte e positivamente, onde seus vetores formaram um ângulo próximo de zero. Sendo assim, verifica-se que quando uma variável aumenta a outra também aumenta. Com relação ao CP2 as variáveis SRL e D se correlacionaram forte e negativamente, onde seus vetores formaram um ângulo próximo a 180°, sendo inversamente proporcionais, ou seja, quando uma variável aumenta a outra diminui. Hernández et al. (2010) e Henry et al. (2012), observaram em seus experimentos que plantas lenhosas e herbáceas adaptadas a condições de seca apresentam raízes com maior SRL. Raízes com maior SRL e de pequeno diâmetro permitem que as plantas aumentem a condutância hidráulica, ampliando a superfície de contato com a água, explorando um maior volume de solo, no qual a água pode estar disponível, intensificando, portanto, a condutividade hidráulica, diminuindo, assim, a barreira apoplástica da água que entra no xilema (HERNÁNDEZ et al., 2010; COMAS et al., 2012). Consequentemente, a diminuição do diâmetro da raiz foi sugerida, por Wasson

et al. (2012), como uma característica que favorece a aquisição de água e à produtividade da planta sob a seca.

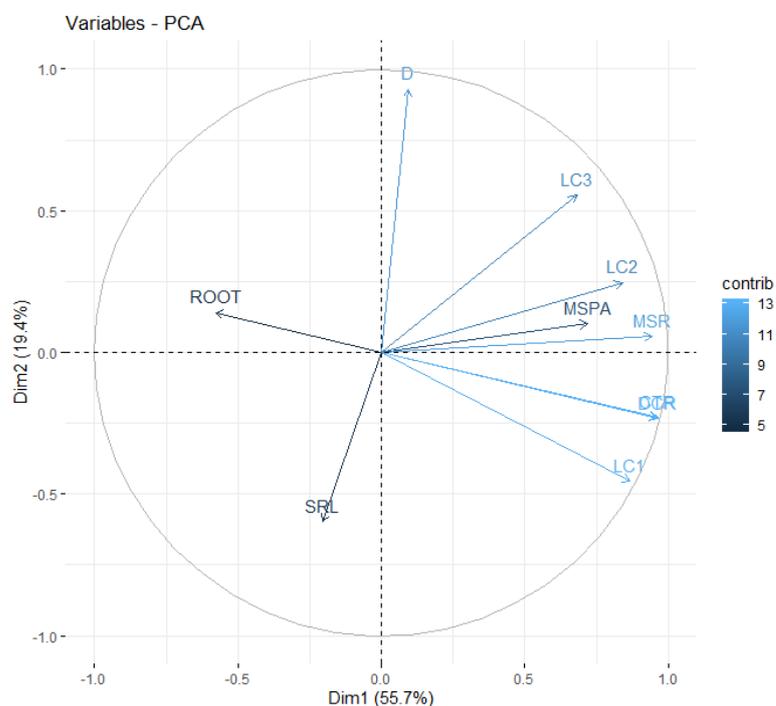


Figura 4. Biplot obtido a partir de PCA de 11 variáveis das características fenotípicas da raiz, indicativas de tolerância à seca de *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de semente) de citros, com a contribuição de cada variável para os dois primeiros eixos da PCA, usando o programa estatístico R.

Três clusters foram identificados (Figura 5). A PC1 separou indivíduos do cluster 2 e do cluster 3, enquanto o PC2 separou o cluster 1 e 2 do cluster 3. O cluster 1 foi formado pelos indivíduos que apresentaram os quatro menores valores de comprimento total de raiz. O cluster 2 foi formado pelos indivíduos que para o CP1 apresentaram os valores correlacionados negativamente com SRL e para PC2 houve baixa correlação positiva com ROOT. O cluster 3 foi

formado pelos indivíduos que apresentaram para CP1 os valores correlacionados alto e positivamente com o CTR, MSR, MSPA e LC1 e valores moderados e para PC2 os valores correlacionados alto e positivamente com as variáveis D e LC3 e alto e negativamente com o LC3. Desta forma, pode-se observar que os indivíduos do cluster 3 para o PC1 foram agrupados com todos os indivíduos que foram selecionados como tolerantes à seca a partir das variáveis fenotípicas da raiz avaliadas neste experimento como indicativas de tolerância à seca.

A dispersão desses *seedlings* observada no gráfico mostrou a grande variabilidade presente entre os mesmos. Os *seedlings* que ficaram em ponto próximo no gráfico apresentam valores associados, podendo ter desempenho semelhante em condições de campo no sentido de tolerar mais ou menos o déficit hídrico.

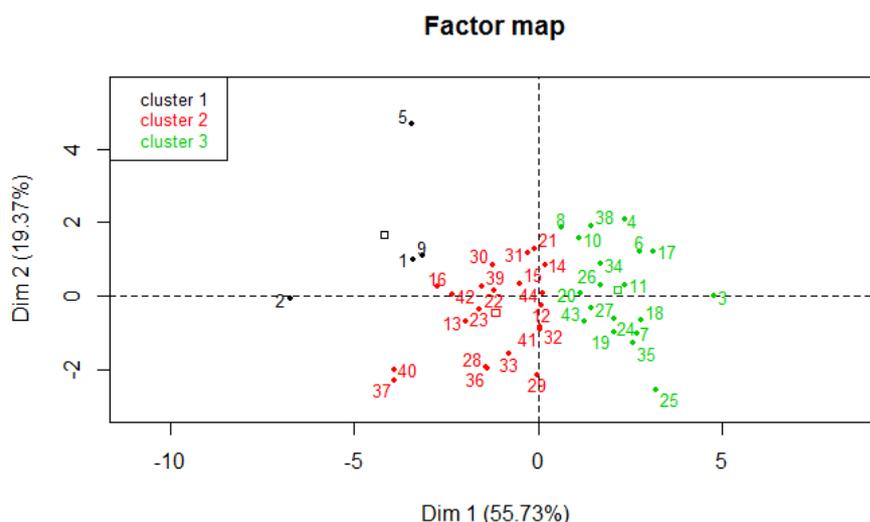


Figura 5. Biplot obtido a partir de PCA de 11 variáveis das características fenotípicas da raiz, indicativas de tolerância à seca de *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de semente) de citros, com três clusters identificados, usando o programa estatístico R.

Com relação aos dados obtidos das avaliações em campo, dos 1298 híbridos avaliados para tolerância à seca, foram identificamos 108 híbridos

tolerantes, onde foram comparados com a frequência dos 44 *seedlings* híbridos avaliados em laboratório. Desses 12 híbridos foram identificados como tolerantes à seca. Houve uma relação entre a frequência de híbridos tolerantes à seca entre campo e laboratório, de acordo com o teste do X^2 , onde $p < 0,05$ foi significativo, ou seja, não há diferença significativa em relação ao que seria esperado pela hipótese nula, de igualdade entre os tratamentos. Sendo assim, a quantidade dos híbridos tolerantes à seca em campo corresponde ao encontrado em avaliações em laboratório, conseguindo desta forma encontrar uma metodologia que facilite a condução das plantas híbridas previamente identificadas como tolerantes à seca ao campo, reduzindo substancialmente o quantitativo de genótipos para avaliações conclusivas, com economia de custos, especialmente de espaço e de tempo, dispensados nas avaliações.

Para uma classificação mais detalhada dos *seedlings* avaliados quanto as variáveis indicativas de tolerância à seca, uma análise de cluster hierárquica (HCA) foi aplicada (Figura 6). A classificação de cluster hierárquico nos ajuda a entender melhor a semelhança entre variáveis e indivíduos. Conforme as análises, três grupos distintos foram formados, de acordo com os padrões de similaridade, indicando a variabilidade entre os indivíduos híbridos. As menores distâncias (maiores similaridades) foram observadas entre os indivíduos 38 e 52 (grupo G1) no qual apresentaram valores próximos com menos de 5% de diferença das 11 variáveis analisadas, exceto para a MSPA, ROOT, LC3 e LC5, onde os valores variaram em torno de 40% e LC4 que variou 85%. O primeiro grupo (G1), foi formado por 42 dos híbridos avaliados, onde os valores das variáveis estão entre a média e acima da média. O grupo 2 e 3 foram formados por apenas um indivíduo cada grupo. O grupo 2 pelo indivíduo que apresentou o menor valor de CTR e maior valor de SRL e o grupo 3 pelo indivíduo que apresentou o segundo menor valor de CTR. Indivíduos com baixos valores de CTR e MSR e altos valores de SRL, dão formação a porta-enxerto ruins, sem interesse para as características da raiz importantes para a tolerância à seca.

Segundo Comas et al. (2013), vários traços do sistema radicular são importantes para a manutenção da produtividade da planta sob déficit hídrico, dentre eles comprimento longo de raiz (CTR) e pequenos diâmetros de raiz

fina. Assim, como diversas características morfológicas das raízes, tanto para as porções finas como grossas dos sistemas radiculares, têm sido associadas ao aumento da produtividade sob a seca. Santos et al. (2005), avaliando absorção de água pelas raízes do limoeiro ‘Tahiti’, observou que as classes de raízes com diâmetros entre 0,5-2 mm proporcionaram maior extração de água do solo.

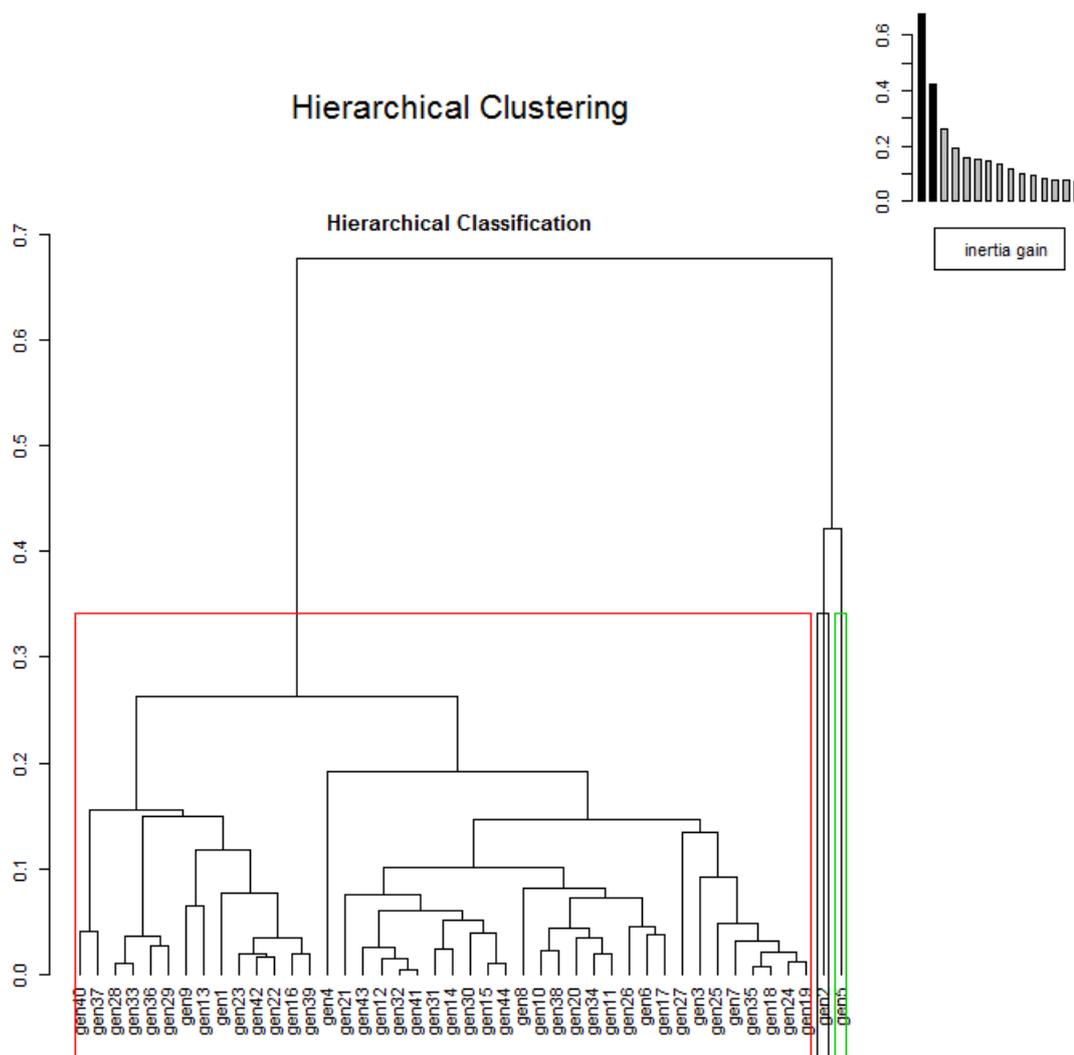


Figura 6. Dendrograma gerado pelos 44 *seedlings* (pés-francos ou plantas oriundas da germinação de semente) avaliados através das características da raiz pelo software WinRizho, versão 2013d, pelo método UPGMA.

Os gráficos de boxplot foram utilizados para selecionar os *seedlings* com melhores índices das variáveis analisadas. Dentro dos indivíduos formados pelo G1, foram selecionados 12 indivíduos, onde os valores se encontraram no

quartil superior com 25% dos maiores valores das variáveis analisadas, essas indicativas de tolerância à seca.

Através do histograma podemos observar a variabilidade presente dentre os híbridos obtidos através do BRS Bravo, nos quais foram avaliados através das características do sistema radicular importante para a sustentação da produtividade das plantas cítricas, principalmente em ambientes com déficit hídrico acentuado, onde há distribuição irregular das chuvas durante todo o ano.

CONCLUSÕES

Há características de raízes que permitem a seleção precoce de indivíduos tolerantes à seca, a saber: comprimento total e específico do sistema radicular e quantidade de raízes nas classes de diâmetro 0 -0,5 mm.

A metodologia utilizada permitiu o descarte da maioria dos indivíduos avaliados (aproximadamente 73%), reduzindo substancialmente a amostra de indivíduos a serem levados a campo para avaliações definitivas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, L.M. de; CARVALHO, H.W.L. de; SOARES FILHO, W. dos S.; MARTINS, C.R.; PASSOS, O.S. Porta-enxertos promissores, alternativos ao limoeiro 'Cravo', nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 2, p. 132-141, 2016.

COMAS, L.H.; MUELLER, K.E.; TAYLOR, L.L.; MIDFORD, P.E.; CALLAHAN, H.S. AND BEERLING, D. J. Evolutionary patterns and biogeochemical significance of angiosperm root traits. **International Journal of Plant Sciences**, v. 173, p. 584–595, 2012.

COMAS, L.H.; BECKER, S.R.; CRUZ, V.M.; BYRNE, P.F.; DIERIG, D.A. Root traits contributing to plant productivity under drought. **Frontieres in Plant Science**, v. 5, p. 442, 2013.

COSTA, D.P.; STUCHI, E.S.; GIRARDI, E.A.; GESTEIRA, A. da S.; COELHO FILHO, M.A.; LEDO, C.A. da S.; FADEL, A.L.; SILVA, A.L.V. da; LEÃO, H.C. da; RAMOS, Y.C.; PASSOS, O.S. AND SOARES FILHO, W. dos S. Hybrid Rootstocks for Valencia Sweet Orange in Rainfed Cultivation Under Tropical Savannah Climate. **Journal of Agricultural Science**, v 12, p. 11; 2020.

FISHER, M.; ABATE, T.; LUNDUKA, R.W.; ASNAKE, W.; ALEMAYEHU, Y AND MADULU RB. Drought tolerant maize for farmer adaptation to drought in sub-Saharan Africa: Determinants of adoption in eastern and southern Africa. **Climatic Change**, v. 133, p. 283–299.

FERREIRA, C.F.; GUTIERREZ, D.L. ; KREUZE, J.F. ; CARUANA, M.L.I. ; CHABANNES, M.; BARBOSA, A.C.O. ; SANTOS, T.A.; SILVA, A.G.S.; SANTOS, R.M.F.; AMORIM, E.P.; OLIVEIRA, S.A.S.; JESUS, O.N. Brief note rapid plant DNA and RNA extraction protocol using a bench drill. **Genetics and molecular research**, v. 18, p. 1-8, 2019.

HERNÁNDEZ, E.I.; VILAGROSA, A.; PAUSAS, J.G.; AND BELLOT, J. Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. **Plant Ecology**, v. 207, p. 233–244, 2010.

HENRY, A. IRRI's drought stress research in rice with emphasis on roots: accomplishments over the last 50 years. **Plant Root**, v. 7, p. 5–19, 2012.

JOLLIFFE, I.T AND CADIMA J. Principal component analysis: a review and recent developments. **Philosophical Transactions The. Royal Society. A** 374: 20150202, 2016.

OLIVEIRA, E.J.; PÁDUA, J.G.; ZUCCHI, M.I.; VENCOVSKY, R AND VIEIRA, M. L. C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 2, p. 294-307, 2006.

KIJAS, J.M.H.; THOMAS, M.R.; FOWLER, J.C.S.; ROOSE, M.L. Integration of trinucleotide microsatellites into a linkage map of Citrus. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 94, p. 701—706, 1997.

LAVOIE-LAMOUREUX, A.; SACCO, D.; RISSE, P.A AND LOVISOLO, C. Factors influencing stomatal conductance in response to water availability in grapevine: a meta-analysis. **Physiologia Plantarum**, v. 159, p. 468–482. 2017.

SANTANA, L.G.L.; SOUZA, E. dos S.; PASSOS, O.S.; GESTEIRA, A. da S.; LEDO, C. A. da S.; SOARES FILHO, W. dos S. Vigor and mortality of citrus progenies with potential use as rootstocks. **Scientia Agricola**, v. 75, p. 339-345, 2018.

SANTANA, L.G.L.; SOUZA, E. dos S.; LEDO, C.A. da S.; PASSOS, O.S.; COELHO FILHO, M.A.; GESTEIRA, A. da S.; SOARES FILHO, W. dos S. Reaction to drought stress of citrus progenies with potential use for rootstocks development. **Revista Brasileira De Botânica**, v. 7, p. 1-9, 2019.

RAMOS, Y.C.; STUCHI, E.S.; GIRARDI, E.A.; LEÃO, H.C.; GESTEIRA, A.S.; PASSOS, O.S.; SOARES FILHO, W. dos S. Dwarfing rootstocks for 'Valencia' sweet orange. **Acta Horticulturae**, v.1065, p. 351-354, 2015.

RICH, S. M.; AND WATT, M. Soil conditions and cereal root system architecture: review and considerations for linking Darwin and Weaver. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 5, p. 1193–1208, 2013.

SAMPAIO, A.H.R. ; COELHO FILHO, M.A.; SOUZA, L.D. ; BRITO, R.B.F. ; SILVA, R.O. Yield and Quality of Pera Sweet Orange Grafted on Different Rootstocks Under Rainfed Conditions. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 38, n. 3, 2016.

SANTOS, D.B. dos.; COELHO, E.F.; AZEVEDO, C.A.V. de. Absorção de água pelas raízes Absorção de água pelas raízes do limoeiro sob distintas frequências de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 327-333, 2005.

SILVA, B.M.; SANTOS, W.J.R. dos.; OLIVEIRA, J.C. de, LIMA, J. M. de.; CURTI, N.; MARQUES, J. J. Soil Moisture Space-Time Analysis To Support Improved Crop Management. **Science and Agrotechnology**, Lavras, v. 39, n. 1, p. 39-47, 2015.

WASSON, A.P.; RICHARDS, R.A.; CHATRATH, R.; MISRA, S.C.; SAI PRASAD, S.V.; REBETZKE, G.J.; KIRKEGAARD, J.A.; CHRISTOPHER, J.; WATT, M. Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops. **Journal of Experimental. Botany**, v. 63, n. 9, p. 3485–3498, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo possibilitou a identificação precoce de indivíduos com potencial de tolerância à seca, reduzindo substancialmente o quantitativo de genótipos passíveis de serem levados a campo para avaliações conclusivas, diminuindo custos relacionados, especialmente, ao espaço e tempo a serem dispensados nas avaliações.

Cabe esclarecer que esses resultados não devem ser tidos como definitivos, pois os mecanismos de tolerância à seca são múltiplos, diversos, sendo importante a continuidade dos estudos para resultados conclusivos.