

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**TOLERÂNCIA À SALINIDADE DE GENÓTIPOS DE CITROS
CULTIVADOS IN VITRO**

Adriele Nascimento Santana

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
2024**

TOLERÂNCIA À SALINIDADE DE GENÓTIPOS DE CITROS CULTIVADOS IN VITRO

Adriele Nascimento Santana

Bacharel em Agronomia
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), 2022

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Dr. Walter dos Santos Soares Filho
Coorientadora: Dra. Karen Cristina Fialho dos Santos
Coorientadora: Dra. Mariane de Jesus da Silva Carvalho

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
2024**

FICHA CATALOGRÁFICA

S232t	<p>Santana, Adriele Nascimento. Tolerância à salinidade de genótipos de citros cultivados <i>in vitro</i> / Adriele Nascimento Santana. – Cruz das Almas, BA, 2024. 86f.; il.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas, Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Walter dos Santos Soares Filho. Coorientadora: Dra. Karen Cristina Fialho dos Santos. Coorientadora: Dra. Mariane de Jesus da Silva Carvalho.</p> <p>1.Frutas cítricas – Cultivo in vitro. 2.Frutas cítricas – Salinidade. 3.Melhoramento genético – 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 Universitária de Cruz das Almas - UFRB. Responsável pela Elaboração Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

TOLERÂNCIA À SALINIDADE DE GENÓTIPOS DE CITROS CULTIVADOS IN VITRO

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Adriele Nascimento Santana

Aprovada em 30 de julho de 2024

Documento assinado digitalmente



WALTER DOS SANTOS SOARES FILHO

Data: 16/09/2024 08:44:45-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Walter dos Santos Soares Filho
Embrapa Mandioca e Fruticultura (EMBRAPA)
(Orientador)

Documento assinado digitalmente



HELLEN CRISTINA DA PAIXAO MOURA

Data: 18/09/2024 11:57:37-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Hellen Cristina da Paixão Moura
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)
(Examinador interno)

Documento assinado digitalmente



MARCOS ERIC BARBOSA BRITO

Data: 16/09/2024 08:29:50-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Marcos Eric Barbosa Brito
Universidade Federal de Sergipe (UFS)
(Examinador externo)

Dedico este trabalho à minha amada mãe, Maria Helena Ferreira Nascimento, cujo constante estímulo e apoio incansável sempre me motivaram a persistir. Agradeço de coração por tudo, mãe, pois é graças a ti que alcanço meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, expresso minha gratidão a Deus pela dádiva da vida, pela proteção constante e por guiar-me sempre em direção às melhores escolhas.

Aos meus amados pais, Valdomiro Souza Santana e Maria Helena Ferreira Nascimento, em especial à minha mãe, cujo apoio incansável e incentivo inabalável nunca me permitiram desistir, sustentando-me em cada desafio enfrentado.

À minha querida irmã, Franciele Nascimento Santana, pela cumplicidade e compreensão.

Ao meu orientador, Dr. Walter dos Santos Soares Filho, pela generosidade em me guiar e proporcionar esta oportunidade memorável, e às minhas coorientadoras, Dra. Karen Cristina Fialho dos Santos e Mariane de Jesus da Silva de Carvalho, pelas valiosas orientações.

Expresso, também, minha gratidão ao Dr. Antônio da Silva Souza, pela contribuição para o meu desenvolvimento acadêmico. Sua paciência e afeto foram fundamentais.

Em especial, agradeço à minha colega de trabalho, Denise dos Santos Vila Verde, por sua orientação, apoio, infinita paciência e carinho ao longo desta jornada. Não posso deixar de mencionar meus colegas de trabalho, que se tornaram minha segunda família e contribuíram direta ou indiretamente para esta trajetória: Caio Marinho, Larissa, Gabriel Silva, Michelle, Taise Magalhães e Jorge Melo.

Agradeço também ao professor Carlos Alberto da Silva Ledo, pela análise estatística realizada neste trabalho e a Maria Luiza, colega de laboratório, pelas excelentes fotos registradas.

Além disso, agradeço ao programa e à Embrapa Mandioca e Fruticultura pela estrutura e apoio no desenvolvimento de todo o projeto, e à CAPES pela concessão da bolsa, que foi de grande auxílio e ajuda.

Foram muitos obstáculos superados, e gostaria de expressar minha gratidão a todos, mesmo aqueles não mencionados aqui, que de alguma forma contribuíram para o meu sucesso.

TOLERÂNCIA À SALINIDADE DE GENÓTIPOS DE CITROS CULTIVADOS IN VITRO

RESUMO: A citricultura brasileira, embora seja líder mundial na produção de laranjas doces, pode romper fronteiras e otimizar a produção com a expansão para o Semiárido do País, otimizando a qualidade sanitária das plantas, por outro lado, é comum a ocorrência de áreas com problemas de sais no solo e na água, limitando a produção. Para enfrentar este desafio, o Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros vem desenvolvendo porta-enxertos tolerantes à salinidade, verificando-se na pré-seleção de genótipos de interesse com o cultivo in vitro, uma alternativa para otimizar o processo, sendo este o objetivo deste estudo. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Núcleo de Biologia Avançada da Embrapa Mandioca e Fruticultura, utilizando porta-enxertos selecionados pelo PMG Citros. No primeiro capítulo, foi adotado um delineamento experimental inteiramente casualizado, com 24 repetições. Foram analisados os efeitos da salinidade na germinação de sementes de sete genótipos em condições in vitro: BRS N Gimenes Fernandes, BRS Cunha Sobrinho, BRS L Navarro, BRS Ary S, HTR - 069, TSKC x CTSW - 033 e tangerineira 'Sunki Tropical', cultivados em concentrações de cloreto de sódio (NaCl) variando de 0,0 g L⁻¹ a 3,2 g L⁻¹ no meio de cultura WPM. As respostas ao estresse salino foram diversas. A BRS Cunha Sobrinho possui maior tolerância, mantendo crescimento e número de folhas verdes, mesmo em altas concentrações de NaCl, enquanto a 'Sunki Tropical' sofreu redução significativa no crescimento. Esses resultados oferecem uma base para a seleção in vitro de indivíduos tolerantes à salinidade, passíveis de serem utilizados como variedades porta-enxerto em ambientes sujeitos a esse estresse abiótico. No segundo capítulo, foi realizado um delineamento experimental inteiramente casualizado com 15 repetições para investigar os efeitos da salinidade no crescimento e desenvolvimento de genótipos de citros oriundos de miniestacas, em cultivo in vitro. Utilizou-se o meio WPM com sete níveis de cloreto de sódio, variando de 0,00 g L⁻¹ a 3,84 g L⁻¹, e dez genótipos: o BRS Stuchi, BRS N Gimenes Fernandes, o BRS Cunha Sobrinho, o BRS L Navarro, o BRS Ary S, o HTR - 069, o TSKC x CTSW - 033, o TSKC x (LCR x TR) - 029, o citrandarin 'Indio' e a 'Sunki Tropical'. Os resultados indicaram que BRS Cunha Sobrinho e TSKC x (LCR x TR) - 029 são mais tolerantes ao estresse salino, mantendo altas médias de altura de planta e biomassa fresca, mesmo em concentrações elevadas de NaCl. Em contraste, o HTR - 069 e a Sunki Tropical manifestaram maior sensibilidade, com reduções significativas em todas as variáveis de crescimento analisadas. Espera-se que esses resultados contribuam para o desenvolvimento de metodologias eficazes na seleção de genótipos de citros tolerantes à salinidade, sob condições in vitro.

Palavras-chave: *Citrus* spp.; Poncirus; Melhoramento genético; Porta-enxerto.

SALINITY TOLERANCE OF CITRUS GENOTYPES CULTIVATED IN VITRO

ABSTRACT: Although Brazilian citrus farming is a world leader in the production of sweet oranges, it can break boundaries and optimize production by expanding to the country's semiarid region, optimizing the sanitary quality of the plants. On the other hand, areas with salt problems in the soil and water are common, limiting production. To face this challenge, the Citrus Genetic Improvement Program of Embrapa Cassava and Fruits - PMG Citros has been developing rootstocks that are tolerant to salinity, verifying the pre-selection of genotypes of interest with in vitro cultivation, an alternative to optimize the process, which is the objective of this study. The experiment was conducted in the Tissue Culture Laboratory of the Advanced Biology Center of Embrapa Cassava and Fruits, using rootstocks selected by PMG Citros. In the first chapter, a completely randomized experimental design was adopted, with 24 replicates. The effects of salinity on seed germination of seven genotypes under in vitro conditions were analyzed: BRS N Gimenes Fernandes, BRS Cunha Sobrinho, BRS L Navarro, BRS Ary S, HTR - 069, TSKC x CTSW - 033 and 'Sunki Tropical' mandarin, grown in sodium chloride (NaCl) concentrations ranging from 0.0 g L⁻¹ to 3.2 g L⁻¹ in WPM culture medium. The responses to salinity stress were diverse. BRS Cunha Sobrinho has greater tolerance, maintaining growth and number of green leaves, even at high NaCl concentrations, while 'Sunki Tropical' suffered a significant reduction in growth. These results provide a basis for in vitro selection of salinity-tolerant individuals, which can be used as rootstock varieties in environments subject to this abiotic stress. In the second chapter, a completely randomized experimental design with 15 replicates was carried out to investigate the effects of salinity on the growth and development of citrus genotypes from minicuttings, in in vitro culture. The WPM medium with seven sodium chloride levels, ranging from 0.00 g L⁻¹ to 3.84 g L⁻¹, and ten genotypes were used: BRS Stuchi, BRS N Gimenes Fernandes, BRS Cunha Sobrinho, BRS L Navarro, BRS Ary S, HTR - 069, TSKC x CTSW - 033, TSKC x (LCR x TR) - 029, citrandarin 'Indio' and 'Sunki Tropical'. The results indicated that BRS Cunha Sobrinho and TSKC x (LCR x TR) - 029 are more tolerant to saline stress, maintaining high average plant height and fresh biomass, even at high NaCl concentrations. In contrast, HTR - 069 and Sunki Tropical showed greater sensitivity, with significant reductions in all growth variables analyzed. These results are expected to contribute to the development of effective methodologies for the selection of salinity-tolerant citrus genotypes under in vitro conditions.

Keywords: *Citrus* spp.; Poncirus; Genetic improvement; Rootstock.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 CARACTERIZAÇÃO DO GÊNERO <i>CITRUS</i>	12
2.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA CITRICULTURA	14
2.3 MELHORAMENTO GENÉTICO DE CITROS	16
2.4 TOLERÂNCIA DE CITROS À SALINIDADE	18
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
CAPÍTULO I	29
DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA PRÉ-SELEÇÃO IN VITRO DE GENÓTIPOS DE CITROS TOLERANTES À SALINIDADE OBTIDOS DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES	30
1. INTRODUÇÃO	33
2. MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1 LOCAL DO EXPERIMENTO.....	35
2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS GENÓTIPOS E CRUZAMENTOS	35
2.3 DESINFESTAÇÃO DAS SEMENTES.....	36
2.4 MONTAGEM DO EXPERIMENTO E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO	37
2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	38
2.6 AVALIAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS.....	38
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4. CONCLUSÕES.....	67
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
CAPÍTULO II	71
DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA PRÉ-SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE CITROS TOLERANTES À SALINIDADE MEDIANTE CULTIVO IN VITRO DE MINIESTACAS	71
1. INTRODUÇÃO	74
2. MATERIAL E MÉTODOS	75
2.1 LOCAL DE INSTALAÇÃO EXPERIMENTO	75
2.2 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO	75
2.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO.....	76
2.4 GENÓTIPOS SELECIONADOS	76
2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E VARIÁVEIS ANALISADAS	78
2.6 ANÁLISE DOS DADOS.....	78
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
4. CONCLUSÃO.....	102
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	102
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103

1. INTRODUÇÃO GERAL

As frutas do gênero *Citrus* (L.) são destaque na economia brasileira e mundial. No mercado internacional, o País está entre as grandes potências produtivas, sendo o maior produtor de laranja doce [*C. ×sinensis* (L.) Osbeck)] e o quinto para limas, limões e tangerinas (FAO, 2022). Entre as principais regiões produtoras estão o Sudeste, com São Paulo sendo o maior estado produtor nacional, seguido pela região Sul, e pela região Nordeste, na qual a Bahia lidera (IBGE, 2022).

O Nordeste do Brasil, no entanto, é amplamente caracterizado por regiões semiáridas, com altas temperaturas, baixa umidade relativa e índices pluviométricos reduzidos. Segundo a Articulação do Semiárido Brasileiro no Nordeste (ASA), mais da metade dos estados da região possui acima de 85% de sua área classificada dessa forma (ASA, 2019). A elevada taxa de evaporação da água, associada a solos salinos e à pouca disponibilidade de água com baixa condutividade elétrica, impactam negativamente a produção dos citros (SENTELHAS, 2005; FERNANDES et al., 2011).

A irrigação surge como uma alternativa para suprir a demanda hídrica requerida pela cultura. Porém, em muitas circunstâncias, a qualidade da água utilizada para esses sistemas é baixa, em razão da fonte de onde são extraídas, apresentando assim, elevadas concentrações de sais, principalmente em poços. Esses sais se acumulam no solo à medida que o processo de irrigação se prolonga (OKUR; ÖRÇEN, 2020).

O teor de sais no solo pode ocasionar redução do crescimento e da produção das plantas, além da queima e queda de folhas (POMPEU JUNIOR, 2005). Os efeitos no vigor da planta estão relacionados a diferença de potencial osmótico da planta com o solo, impedindo a absorção de água e de nutrientes (GARCÍA-LEGAZ et al., 1993; TESTER; DEVENPORT, 2003), além disso, os íons dos sais hidrolisados nas folhas resultam em toxidez vegetal (BERNSTEIN, 1975).

A sensibilidade à salinidade é uma das características dos citros, embora haja divergências quanto ao limiar de tolerância (MASS, 1993; SINGH; SAINI; BEHL, 2003; FERGUSON; GRATTAN, 2005). Com isso, ao se presumir que a sensibilidade à salinidade é uma característica estabelecida das espécies cítricas, e reconhecendo as discrepâncias nos limites de tolerância entre vários porta-enxertos, pressupõe-se que os porta-enxertos cítricos submetidos à testes *in vitro* apresentarão diferenças consideráveis em sua tolerância à salinidade, facilitando assim a prévia identificação

de genótipos mais resistente e adequados para o cultivo em ambientes de solo salino. Diante desses desafios, a Embrapa Mandioca e Fruticultura, por meio do Programa de Melhoramento Genético de Citros (PMG Citros), tem se empenhado no desenvolvimento e disponibilização, para o mercado citrícola nacional, de novos porta-enxertos adaptados às condições tropicais predominantes no Brasil (SOARES FILHO et al., 2003). Parte desses porta-enxertos caracterizam-se por sua tolerância à seca e/ou à salinidade, capazes de suportar as altas temperaturas e se desenvolver bem em uma variedade de tipos de solo.

Para otimizar a seleção de porta-enxertos, procedimentos biotecnológicos podem ser implementados como uma alternativa para pré-seleção quanto identificação de genótipos tolerantes em laboratórios, antes da verificação de sua tolerância em campo (NÓBREGA et al., 2004; SHARMA et al., 2013). Um dessas ferramentas é a cultura de tecidos, por meio do cultivo in vitro, que possibilita determinar a sensibilidade do genótipo à salinidade, bem como para avaliar aspectos básicos do crescimento e desenvolvimento das plantas, permitindo, assim, testar genótipos precocemente, em pouco tempo e espaço, e por consequência reduzindo os custos (PÉREZ-CLEMENTE et al., 2008; PÉREZ-JIMÉNEZ; PÉREZ-TORNERO, 2020).

Portanto, esse método contribui para o aprimoramento do melhoramento genético tradicional ao identificar cultivares potenciais tolerantes à salinidade, efetuando assim, uma avaliação prévia para que permitirá futuramente o cultivo futuro em várias composições de solo e diversas circunstâncias ambientais (MAHMOUD et al., 2020).

Sendo assim, objetivou-se estabelecer um protocolo de seleção de genótipos tolerantes à salinidade, utilizando sementes e miniestacas mediais, submetidas a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), em condições de cultivo in vitro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERIZAÇÃO DO GÊNERO *CITRUS*

Ao longo de cerca de dois milênios, as espécies de citros têm sido cultivadas globalmente, com suas raízes evolutivas estendendo-se às regiões subtropicais e tropicais da Ásia, abrangendo também áreas da Austrália e da África (DONADIO; MOURÃO FILHO; MOREIRA, 2005). Essas frutas cítricas, presentes na agricultura e na alimentação humana, remontam a civilizações antigas, como as egípcias e as gregas (ROOSE; SCOOST, 1996).

A disseminação global dessas plantas está intrinsecamente ligada a eventos históricos significativos, como as conquistas de Alexandre, o Grande, a expansão do Islã e as viagens de Cristóvão Colombo, que introduziu os citros no Novo Mundo (KOEHLER-SANTOS; DORNELLES; FREITAS, 2003). No contexto brasileiro, a introdução dos citros ocorreu durante a colonização portuguesa (ARAÚJO; ROQUE, 2005; MATTOS JÚNIOR et al., 2005).

Os citros, pertencentes à família Rutaceae e à subfamília Aurantioideae, são classificados em duas tribos, seis subtribos, seis gêneros e 40 espécies. Dentro desta diversidade, os gêneros *Poncirus*, *Fortunella* e *Citrus* são os mais empregados no comércio. Além destes, a família inclui os gêneros *Microcitrus*, *Eremocitrus*, *Clymenia* e diversos híbridos resultantes de cruzamentos entre membros das Rutáceas (TANAKA, 1954; COLE; MILTON; APPELHANS, 2021).

O gênero *Citrus* possui grande importância econômica, com destaque para as laranjas doces [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], as tangerinas (*C. reticulata* Blanco e *C. clementina* hort. ex Tanaka), as mexericas (*C. deliciosa* Tenore) e os limões verdadeiros [*C. limon* (L.) Brum. F. e *C. aurantiifolia* (Christm.)]. O grupo das laranjas doces é o mais significativo nos pomares dos países citrícolas, representando cerca de 50% da produção mundial de citros, seguido das tangerinas, dos limões e das limas ácidas (SEMINARA, et al., 2023).

Esse gênero é composto por plantas de porte mediano, que podem ser tanto arbustivas quanto arbóreas, e são caracterizadas por possuírem flores de cores variadas, com destaque a flores brancas, amarelas, amarelas clara, roxas, entre outras cores (KANDOWANGKO; FEBRIYANTI, 2023) e aromas distintivos. Os frutos são classificados como bagas, possuem vesículas cheias de um líquido que forma o

suco, que é altamente valorizado no mercado. Quanto à folhagem, apresenta folhas coriáceas, simples e alternadas, como descrito em Mattos Júnior et al. (2005) e em Lorenzi et al. (2006).

As espécies, em geral, são classificadas em um grupo intermediário entre a autogamia e a alogamia, possuindo um alto grau de heteroziguidade. Elas são capazes de cruzar entre si e com outros gêneros relacionados, produzindo, muitas vezes, híbridos férteis. Essa característica resulta em uma vasta variabilidade genética e impõe a necessidade de condições específicas de cultivo para gerar frutos, com ou sem sementes (COSTA et al., 2002). Além disso, podem se reproduzir nas sementes por meio de apomixia ou poliembrionia, além da reprodução sexual tradicional, criando um ou mais embriões nucelares (OLIVEIRA et al., 2002).

A morfologia dos citros é influenciada por diversos fatores, incluindo as condições climáticas, a qualidade do solo, o estágio de crescimento da planta e a variedade específica cultivada. Em regiões onde não existem restrições de temperatura ou água, as árvores de citros podem florir quase o ano inteiro. Por outro lado, em áreas com limitações climáticas, especialmente devido a temperaturas mais baixas, o período de floração tende a ser mais curto. Além disso, o estresse ambiental pode intensificar a indução floral. Em ambientes com invernos secos e temperaturas amenas, as condições fisiológicas da planta são particularmente determinantes para a floração (AZEVEDO et al., 2017).

Em citros, o acúmulo de íons estão relacionados aos fatores morfológicos e fisiológicos, sendo o nível de ploidia um fator a ser considerado na tolerância à salinidade, as plantas cítricas tetraploides são mais espessas e suculentas do que os genótipos diploides correspondentes. Em relação ao seu progenitor diploide, o duplo diploide ou autotetraploide apresenta expressão genética diferencial (ALLARIO et al., 2011; DAMBIER et al., 2011) e melhor tolerância à salinidade. Isso ocorre devido as raízes dos genótipos autotetraploides serem mais espessas, menos ramificadas, com menor número de raízes e com maior deposição de suberina nas paredes celulares das células da exoderme, em seções próximas ao ápice radicular. Os híbridos somáticos e zigóticos alotetraploides também excluem os íons Na^+ e Cl^- de forma mais eficiente do que seus pais diploides correspondentes (MOUHAYA et al., 2010). Contudo, Colmenero-Flores et al. (2020) afirmam que essa potencialidade dos tetraploides precisa ser testada a nível de campo, entretanto como observado nos estudos de Saleh et al. (2008), Ruiz et al. (2016) e Khalid et al. (2019) em condição

de estresse salino os tetraploides mostram-se com menores acúmulos de íons cloreto nas folhas das plantas e melhores respostas a variáveis fisiológicas como fotossíntese, condutância estomática, taxa de transpiração e verdor das folhas.

Os pomares cítricos comerciais, no geral, apresentam material vegetal combinado de duas plantas distintas, através do método da enxertia. Sendo eles a copa, correspondente a parte superior da planta, responsável pela produção, e o porta-enxerto, equivalente ao sistema radicular. O porta-enxerto pode agregar à copa diversas características, como um maior ou menor porte, vigor, qualidade e quantidade de frutos, precocidade, além de resistência/tolerância a doenças e pragas, assim como a estresses hídricos, térmicos e salinos (POMPEU JÚNIOR, 2005).

O limoeiro 'Cravo' (*C. limonia* Osbeck) é um porta-enxerto amplamente predominante nos pomares de citros no Brasil, escolhido por sua vigorosidade, tolerância ao estresse hídrico, fácil obtenção de sementes, grande vigor no viveiro, bom pegamento de mudas no plantio, rápido crescimento, produção alta e precoce, com frutos de qualidade regular (OLIVEIRA et al., 2014). Além disso, apresenta compatibilidade com todas as variedades copa, média tolerância ao frio, além de bom comportamento em solos arenosos.

Outros porta-enxertos utilizados na citricultura brasileira são: as tangerineiras 'Cleópatra' (*C. reshni* hort. ex Tanaka) e 'Sunki' (*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka), o Citrumelo 'Swingle' (*C. paradisi* x *Poncirus trifoliata*), os 'Trifoliatas' comum e o 'Flying Dragon' (*P. trifoliata* (L.) Raf.), o limoeiro 'Volkameriano' (*C. volkameriana* Ten. & Pasq.) e o limoeiro Rugoso (*C. jambhiri* Lush) (POMPEU JUNIOR, 2005; BASTOS et al., 2014).

2.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA CITRICULTURA

A citricultura está disseminada globalmente, sendo cultivada em todos os continentes para consumo e produção. O Brasil lidera a produção mundial de laranjas, totalizando 16,93 milhões de toneladas, representando, aproximadamente, 26% de toda a produção global. Esse valor é cerca de 35% maior do que o segundo colocado, a Índia, que produz quase 11 milhões de toneladas, seguida pela China com 7,60 milhões, México em quarto lugar com 4,85 milhões e os Estados Unidos em quinto, com 3,95 milhões (FAO, 2022). No Brasil, cerca de 70% dos frutos são destinados à produção de suco concentrado e congelado de laranja, para exportação, enquanto os

30% restantes são cultivados para consumo direto, ou seja, in natura (IBGE, 2022). O Brasil é o maior produtor e exportador de suco de laranja no mundo, de acordo com Research and Markets (2023) existe uma tendência de crescimento do mercado mundial de suco de laranja concentrado e congelado, que elevar-se nos próximos anos, atingindo um volume de 2,5 milhões de toneladas até o final de 2025. No ano de 2018, o Brasil emergiu como a nação líder nessa produção com (1,1 milhão de toneladas), representando 49% da produção total, sucedido pelos Estados Unidos (413 mil toneladas) e México (137 mil toneladas).

No cultivo de limas e limões, o Brasil ocupa a quinta colocação, com um total de 1,62 milhões de toneladas; atrás da Índia, em primeiro lugar, com 3,77 milhões, México com 3,01 milhões de toneladas, China com 2,59 milhões e Argentina em quarto, com 1,83 milhões de toneladas produzidas. As tangerinas estão em quinta colocação, com 1,08 milhões de toneladas, atrás da China responsável por aproximadamente 61% da produção mundial dos frutos desse segmento (tangerinas, mandarinas, clementinas e satsumas), com 27 milhões, seguida pela Turquia com 1,86 milhões, Espanha com 1,80 milhões e Marrocos com 1,36 milhões (FAO, 2021).

A produção dessas frutas é amplamente distribuída pelo território nacional, sendo produzidas em 26 estados e no Distrito Federal. A região Sudeste lidera o ranking produtivo de laranjas, com 83,91% do percentual total, sendo São Paulo responsável por 72,62% da produção, seguida pela região Sul, contribuindo com 6,18%. Na região Nordeste, destacam-se a Bahia e Sergipe como os principais produtores, respondendo juntos por 86,50% dos frutos cítricos colhidos nessa região (IBGE, 2022).

A citricultura, além de ser fundamental para a produção de inúmeros empregos e contribuir para a geração de renda, destaca-se pela sua influência positiva na qualidade dos produtos disponibilizados no mercado, evidenciando o papel significativo desempenhado pelo setor para a economia nacional (NEVES et al., 2010). Na geração de empregos, a produção de laranja resultou na criação de 43.156 vagas durante a safra 2020/21 (julho de 2020 a junho de 2021), conforme informações provenientes do Cadastro Geral de Empregados e Desempregados (CAGED) compilado pela Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos (CitrusBR). Esse número marca um aumento de 8% em relação à temporada anterior de 2019/20 e representa 5,94% das 726.489 oportunidades de emprego geradas pelo setor agrícola no país durante esse período (BRASILAGRO, 2022).

2.3 MELHORAMENTO GENÉTICO DE CITROS

O primeiro programa oficial de melhoramento genético de citros foi iniciado em 1893, na Flórida, sob a supervisão do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). Seu objetivo era transferir a tolerância ao frio do *P. trifoliata* para as principais variedades copa utilizadas, resultando em híbridos como citranges, citrumelos, citrandarins, citradias, citremons e citrumquats (SOOST; ROOSE, 1996).

No Brasil, a partir de 1920, foi lançado um programa de melhoramento genético de porta-enxertos de citros na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) (POMPEU JÚNIOR, 2005). Em 1988, o Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura - PMG Citros foi criado, visando a obtenção de novos materiais vegetais para conferir uma maior variabilidade genética nos pomares e agregar características como maior produção, qualidade e tolerância/resistência a fatores bióticos e abióticos (SOARES FILHO et al., 2003).

O melhoramento genético convencional dos citros se concentra, principalmente, na identificação de mutações naturais ou induzidas, bem como na exploração de híbridos que ocorrem espontaneamente ou por meio de cruzamentos controlados (OLIVEIRA et al., 2014). Os principais fatores associados a essas mutações genéticas dizem respeito ao vigor, fase fenológica de produção, cor do fruto, quantidade de sementes, além das concentrações de sacarídeos e ácidos orgânicos presentes na polpa. Além disso, podem surgir mutantes espontâneos exibindo características deletérias, incluindo aberrações morfológicas em frutos e folhas que manifestam características atípicas; no entanto, nesse caso, essas variantes são sistematicamente eliminadas. No caso dos híbridos, importância na produção de variabilidade, sua obtenção facilita a incorporação de recursos adaptativos para suportar pressões bióticas (atribuíveis a pragas) e desafios abióticos (relativos ao clima e ao solo), bem como a utilização de genes associados às características hortícolas desejáveis presentes nas espécies cítricas (OLIVEIRA et al., 2014).

Adicionalmente, a biotecnologia desempenha um papel significativo nesse processo, envolvendo a introdução e seleção de materiais superiores adaptados a diversas condições ambientais (OLIVEIRA et al., 2011a; 2011b). Entre as abordagens estratégicas empregadas, destacam-se a fusão de protoplastos, a realização de

mapeamento genético, a aplicação de técnicas de transformação genética, a edição gênica e o sequenciamento completo do genoma (OLIVEIRA et al., 2014).

O melhoramento genético de citros, ainda, pode ocorrer por meio de plantas transgênicas ou geneticamente modificadas, o que está em andamento em vários países, possibilitando a introdução de material genético em situações de incompatibilidade sexual e acelerando o processo de obtenção de cultivares melhoradas, enquanto minimiza a adição de genes indesejáveis (MACHADO et al., 2005). Como citado por Dutt e colaboradores (2018) nos citros a transformação genética tem sido conduzida principalmente via *Agrobacterium tumefaciens* usando tecidos juvenis dos segmentos epicótilos obtidos da germinação in vitro de sementes. Pesquisas nessa área incluem resistência a vírus, fungos, solos salinos e características agronômicas (PEÑA; NAVARRO, 1999; CERVERA et al., 2000; YANG et al., 2000; FAGOAGA et al., 2001; PEÑA et al., 2001; BOSCARIOL, 2004; DORTA; MACHADO; FREITAS-ASTÚA, 2019).

Embora as espécies de Citrus, juntamente com outros gêneros, como *Poncirus* e *Fortunella*, tenham a capacidade de cruzar entre si e produzir híbridos férteis, fatores biológicos e genéticos, como a heterozigosidade elevada, poliembrionia, longos ciclos reprodutivos, esterilidade de pólen e estigma, incompatibilidade e depressão por endogamia, têm representado desafios nos programas de melhoramento por hibridação controlada (SOARES FILHO et al., 2003).

A partir dos anos 80, com os avanços em biotecnologia, a hibridação somática por fusão de protoplastos ganhou espaço em diversos programas de melhoramento de citros ao redor do mundo, visando o aumento da resistência a doenças como a tristeza dos citros e a morte súbita nos pomares (OLIVEIRA et al., 2014).

No contexto da biotecnologia, a técnica de cultura de tecidos vegetais, que envolve o cultivo de partes de plantas em condições controladas e assépticas, desempenha um papel fundamental. A micropropagação é, particularmente, importante para a propagação de plantas de alta qualidade em viveiros. Ela acelera a multiplicação vegetativa, produz plantas livres de vírus e permite a produção contínua ao longo do tempo, ocupando espaço limitado (BARLASS; SKENE, 1982).

Estudos in vitro sobre a tolerância à salinidade são cruciais para a produção de plantas comerciais cultivadas em áreas com irrigação constante, pois permitem a compreensão mais precisa dos efeitos do estresse salino sob os genótipos, bem como no desenvolvimento das culturas, possibilitando a seleção de genótipos mais

adaptados. Ao replicar condições controladas em laboratório, os cientistas podem avaliar diretamente o impacto da salinidade nas plantas, identificando estratégias para melhorar a resistência das culturas a esse estresse. Exemplos adicionais incluem a pesquisa sobre a tolerância à salinidade em culturas importantes, como milho (BEZERRA; WILLADINO; CAMARA., 2001), feijão (XAVIER et al., 2007) e arroz (BENITEZ, 2008), visando aumentar a produtividade e a qualidade das safras em áreas afetadas pela salinização do solo.

Em citros, alguns estudos também estão sendo desenvolvidos visando avaliar o desempenho de diferentes genótipos sob diferentes concentrações de sal adicionado ao meio de cultivo, visando selecionar as mudas mais tolerantes e capazes de sobreviver em condições de estresse salino. Dentre estes podem ser citados os trabalhos de Sharma et al. (2013), de El-Habashy (2018), de Perez-Jimenez e Perez-Turnero (2020), e de Verde et al. (2024).

2.4 TOLERÂNCIA DE CITROS À SALINIDADE

A salinização dos solos é um processo natural influenciado por diversos fatores, como sedimentação de sais, a ascensão de íons por capilaridade e as altas taxas de evapotranspiração (RIBEIRO, 2010; PEDROTTI et al., 2015; WALTER et al., 2018). No entanto, a intervenção humana intensifica essa questão, especialmente com o uso de água de irrigação de baixa qualidade e a aplicação de fertilizantes e agroquímicos com teor elevado de sais (RIBEIRO, 2010; DALIAKOPOULOS et al., 2016). A salinidade do solo pode causar toxicidade às plantas, levando à queda de folhas e redução na produção (GKIOUGKIS et al., 2015).

A viabilidade do uso de água salina para irrigação depende da seleção de plantas capazes de sobreviver e prosperar nessas condições, já que a tolerância à salinidade é variável entre espécies, entre genótipos de uma mesma espécie e em diferentes estágios de desenvolvimento da planta, sendo influenciada, ainda, por fatores ambientais (FLOWERS; FLOWERS, 2005). No estudo de Pessoa et al. (2022) na região semiárida do Nordeste do Brasil, por exemplo, foi constatado que os teores de cátions e ânions foram maiores nas áreas desertificadas e cultivadas, aumentando assim a salinidade do solo, além disso como citam Fernandes et al. (2015) a predominância de Na⁺ e Cl⁻ na solução do solo de áreas cultivadas e desertificadas reflete a baixa qualidade da água utilizada na região, que contém altos teores desses

elementos em sua composição. Sob estresse salino, as plantas podem acumular íons sódio (Na^+) e Cloreto (Cl^-) nos tecidos vegetais, o que perturba o equilíbrio de nutrientes e resulta em comprometimento fisiológico significativo (MINAZADEH, KARIMI; PARAST, 2018). Em solos salinos, a alta força osmótica reduz a absorção de água pelas raízes, induzindo o estresse osmótico, o desequilíbrio iônico, a toxicidade por íons específicos e o desequilíbrio nutricional nas plantas (GUPTA, 2010).

Os citros são frequentemente categorizados como culturas com baixa tolerância à salinidade. Dessa forma, a irrigação com água salina pode, rapidamente, paralisar o crescimento das árvores e prejudicar a qualidade dos frutos, tendo efeito mais pronunciado do que em outras culturas (PRIOR et al., 2007). A nível celular e do organismo, as plantas cítricas enfrentam o estresse causado pelo excesso de sal e o déficit hídrico por meio da ativação de mecanismos de prevenção e tolerância, sendo essenciais para impedir o acúmulo excessivo de íons e a desidratação dos tecidos, além de preservar a integridade das células e a funcionalidade de biomoléculas vitais (SANTANA-VIEIRA et al., 2016).

Mecanismos como o ajuste osmótico, a exclusão de íons e o fechamento dos estômatos são acionados (MAGALHÃES FILHO et al., 2008; HUSSAIN et al., 2012) e ocasionam alterações fisiológicas que alteram o número de folhas, a área foliar e o diâmetro do caule, que podem ser afetadas pela salinidade, resultando em um crescimento mais lento, uma adaptação comum sob estresse salino (PATRIA, 2014). O impacto sobre a fisiologia das plantas de citros implica, principalmente, na redução da condutância estomática, o que resulta na diminuição da difusão de gás carbônico (CO_2) e na taxa fotossintética.

A sensibilidade à salinidade nas plantas cítricas apresenta uma gama de limiares, conforme ilustrado por diferentes estudos: Mass (1993) sugere um limiar de $1,4 \text{ dS m}^{-1}$, enquanto Singh, Saini e Behl (2003) mencionam $2,0 \text{ dS m}^{-1}$. Ferguson e Grattan (2005) afirmam que as plantas de citros podem tolerar salinidade entre $1,2$ e $1,5 \text{ dS m}^{-1}$, com redução no crescimento e produção além desse ponto. Em contraste, estudos adicionais sugerem limiares de salinidade ainda mais elevados. Simpson et al. (2014) identificaram que valores de condutividade elétrica (CE) acima de 3 dS m^{-1} e uma razão de adsorção de sódio (SAR) superior a 9 dS m^{-1} em extrato saturado de solo são considerados críticos para a sobrevivência do cultivo.

Além disso, Al-Yassin (2004) relatou que os limiares de salinidade na rizosfera de laranjeiras cv. Valência variam entre 2,5 e 3,5 dS m⁻¹. Este estudo sugere que as plantas de citros podem tolerar níveis mais altos de salinidade do que inicialmente se pensava, embora ainda haja um impacto negativo na produtividade e no crescimento. Brito et al. (2014) corroboraram a ideia de um limiar de condutividade elétrica de 2,0 dS m⁻¹ para irrigação de citros, com uma leve restrição no crescimento de genótipos recomendados como porta-enxertos.

A propagação in vitro de plantas é uma ferramenta crucial na biotecnologia, colaborando com o aprimoramento genético de vegetais (SOUZA; PEREIRA, 2007). Exemplos de estudos como o de Pátria (2014), utilizaram o cultivo in vitro para avaliar o efeito de diferentes níveis de salinidade de cloreto de sódio em seis genótipos de citros. Os resultados permitiram classificá-los quanto à tolerância, sendo o *P. trifoliata* mais tolerante ao estresse salino, seguido por TSKC x (LCR x TR) - 059 e o limoeiro 'Volkameriano' como moderadamente tolerantes, o limoeiro 'Cravo' e o híbrido trifoliado HTR - 069 como moderadamente sensíveis, e a tangerineira 'Cleópatra' como mais sensível. Essas descobertas indicam a necessidade de ajustes, pois apresentam divergências em relação a outros estudos.

O estudo de Pérez-Jiménez e Pérez-Tornero (2020) adotou uma estratégia comparativa para avaliar as respostas do emprego do estresse salino in vitro e em campo sobre genótipos de *Citrus*, revelando resultados consistentes em ambas as condições, para isso, realizou-se um pré seleção in vitro dos mutantes do porta-enxerto *Citrus macrophylla* mais resistentes, estes foram então cultivados em casa de vegetação e irrigados com soluções salinas com distintas concentrações, após 8 semanas avaliou-se o desempenho desse quanto ao crescimento e dano visual às folhas e teores de clorofila, prolina, amido, açúcares solúveis e íons para determinar seu grau de resistência a este nível de salinidade. Esse tipo de estudo destaca a utilidade da pré seleção in vitro como uma ferramenta valiosa para o estudo da tolerância à salinidade em estágios iniciais de pesquisa, como forma de escolha previa de genótipos.

Para avaliar a tolerância in vitro de plantas, os principais agentes salinos usados são o cloreto de sódio (NaCl) e o cloreto de cálcio (CaCl₂). Esses sais são comumente empregados em estudos para investigar o comportamento das plantas sob estresse salino. O cloreto de sódio é amplamente utilizado devido à sua prevalência na salinização do solo e sua capacidade de influenciar negativamente o

crescimento das plantas (SOBHANIAN et al., 2010; SHU et al., 2017). O cloreto de cálcio também é frequentemente utilizado devido à sua capacidade de afetar o equilíbrio iônico das plantas, interferindo nos processos fisiológicos e afetando a absorção de nutrientes essenciais e a manutenção da integridade celular (CERQUEIRA et al., 2008; COLMER, 2008).

Esses agentes salinos são essenciais para simular condições de estresse salino em estudos de laboratório, permitindo aos pesquisadores entenderem melhor os mecanismos de resposta das plantas e desenvolver estratégias para melhorar a tolerância das culturas à salinidade do solo (MAHOUACHI, 2018; AHANGER et al., 2019).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHANGER, M. A.; AZIZ, U.; ALSAHLI, A.A.; ALYEMENI, M. N.; AHMAD, P. Influence of exogenous salicylic acid and nitric oxide on growth, photosynthesis, and ascorbate-glutathione cycle in salt stressed *Vigna angularis*. **Biomolecules**, v.10, n.1, p.42, 2019.

ALLARIO, T.; BRUMOS, J.; COLMENERO- FLORES, J. M.; IGLESIAS, D. J.; PINA, J. A.; NAVARRO, L.; MORILLON, R. Tetraploid Rangpur lime rootstock increases drought tolerance via enhanced constitutive root abscisic acid production. **Plant, cell & environment**, v. 36, n. 4, p. 856-868, 2013.

AL-YASSIN, A. Influence of salinity on citrus: a review paper. **Journal of Central European Agriculture**, v. 5, n. 4, p. 263-272, 2004.

ANJUM, M. A. Effect of NaCl concentrations in irrigation water on growth and polyamine metabolism in two citrus rootstocks with different levels of salinity tolerance. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, p. 43-52, 2008.

ARAÚJO, E.F.; ROQUE, N. Taxonomia de citros. In: MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JÚNIOR, P. **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, Fundag, cap. 9, p. 223-226, 2005

ASA – ARTICULAÇÃO SEMIÁRIDO BRASILEIRO. É NO SEMIÁRIDO que a vida pulsa! Por um semiárido rico em vidas. **ASA**, 2019. Disponível em: <http://www.asabrasil.org.br/semiarido>. Acesso em: 16 Set. 2023.

AZEVEDO, F. A. de; ROLIM, G. de S.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; MARTELLI, I. B.; ROSSETTO, M. P. Floração e frutificação de laranjeira Valência enxertada em tangerineira Cleópatra e limoeiro Cravo. **Citrus Research & Technology**, v. 33, n. 2, p. 59-64, 2017.

BARLASS, M.; SKENE, K. G. M. In vitro plant let formation from Citrus species and hybrids. **Scientia Horticulturae**, v. 17, n. 4, p. 333-341, 1982.

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

BENITEZ, L. C. **Tolerância à salinidade avaliada em genótipos de arroz, cultivados ex vitro e in vitro**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, p. 47-84, 2008.

BERNSTEIN, L. Effects of salinity and sodicity on plant growth. **Annual review of phytopathology**, v. 13, n. 1, p. 295-312, 1975.

BEZERRA, J. S.; WILLADINO, L.; CAMARA, T.R. Crescimento de calos embriogênicos de milho submetidos ao estresse salino. **Scientia Agricola**, v. 58, p.259-263, 2001.

BOSCARIOL, R. L. **Transformação genética de laranja doce com os genes manA, atacinaA e Xa21**. 2004. 102 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

BRASILAGRO. **Produção de laranja gerou mais de 43 mil vagas, 5,94% da agricultura 2022**. Disponível em: <https://www.brasilagro.com.br/conteudo/producao-de-laranja-gerou-mais-de-43-mil-vagas-594-da-agricultura.html>. Acesso em: 30 Jun. 2024.

BRITO, M. E. B.; FERREIRAS, P. D.; GHEYI, H. R.; MELO, A. S.; SOARES FILHO, W. S.; SANTOS, R. T. Sensibilidade à salinidade de híbridos trifoliados e outros porta-enxertos de citros. **Revista Caatinga**, v. 27, p. 17-27, 2014.

CERQUEIRA, L.; FADIGAS, F.; PEREIRA, F.; GLOAGUEN, T.; COSTA, J. Desenvolvimento de *helicônia psittacorum* e *gladiolus hortulanus* irrigados com águas residuárias tratadas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.6, p. 606-613, 2008.

CERVERA, M.; ORTEGA, C.; NAVARRO, A.; NAVARRO, L.; PENA, L. Generation of transgenic citrus plants with tolerance to salinity gene HAL2 from yeast. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 75, p. 26-30, 2000.

CHAGAS, E. A.; PASQUAL, M.; DUTRA, L. F.; SILVA, A. B. da.; CAZETTA, J. O.; SANTOS, F. C.; CARDOSO, P. Desempenho de diferentes estádios embrionários no cultivo in vitro de embriões de 'Pêra Rio' x 'Poncã'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 523-525, 2003.

COLE, T.; MILTON, G.; APPELHANS M.S. Filogenia das Rutaceae (português). **Research Gate**, 2021. Disponível em:<https://www.researchgate.net/search.Search.html?query=Filogenia+das+Rutacea+e+&type=publication>. Acesso em: 02 Jan. 2024.

COLMER, T. D.; FLOWERS, T. J. Flooding tolerance in halophytes. **New Phytologist**, v. 179, n. 4, p. 964-974, 2008.

COLMENERO-FLORES, J. M.; ARBONA, V.; MORILLON, R.; & GÓMEZ-CADENAS, A. Salinity and water deficit. *In: The genus citrus*. Woodhead Publishing, p. 291-309, 2020.

COSTA, M. A. P. D. C.; MOURÃO FILHO, F. D. A. A.; MENDES, B.; JANUZZI, M. Isolamento e eficiência de plaqueamento de protoplastos de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p.472-476, 2002.

DALIAKOPOULOS, I.N.; TSANIS, I.K.; KOUTROULIS, A.; KOURGIALAS, N.N.; VAROUCHAKIS, A.E.; KARATZAS, G.P.; RITSEMA, C.J. The threat of soil salinity: a European scale review. **Science of The Total Environment**, v.573, p.727-739, 2016.

DAMBIER, D.; BENYAHIA, H.; PENSABENE-BELLAVIA, G.; AKA KAÇAR, Y.; FROELICHER, Y.; BELFALAH, Z.; ... OLLITRAULT, P. Somatic hybridization for citrus rootstock breeding: an effective tool to solve some important issues of the Mediterranean citrus industry. **Plant cell reports**, v. 30, p. 883-900, 2011.

DONADIO, L. C.; MOURÃO FILHO, F. de A. A.; MOREIRA, C. C. Centros de origem, distribuição geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. *In: MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JÚNIOR, J. Citros*. Campinas: Editora IAC/Fundag, 2005. p3-18.

DORTA, S. O.; MACHADO, M. A.; FREITAS-ASTÚA, J. Desenvolvimento de estratégias alternativas visando ao controle do huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, v. 40, p. 1-12, 2019.

DUARTE, F. E. V. de. O.; BARROS, D. dos. R.; GIRARDI, E. A.; SOARES FILHO, W. S.; PASSOS, O. S. Poliembrionia e atributos morfológicos de sementes de porta-enxertos de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n.1, p. 246-254, 2013.

DUTT, M.; ERPEN, L.; GROSSER, J. W. Genetic transformation of the 'W Murcott'tangor: comparison between different techniques. **Scientia Horticulturae**, v. 242, p. 90-94, 2018.

EL-HABASHY, S. In vitro evaluation and selection for salinity tolerance in some citrus rootstock seedlings. **Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants**, v. 10, p. 17-27, 2018.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Countries by commodity. 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 12 Set. 2023.

FAGOAGA, C.; RODRIGO, I.; CONEJERO, V.; HINAJEROS, C.; TUSET, J. J.; ARNAU, J.; PINA, J. A.; NAVARRO, L.; PEÑA, L. Increase tolerance to Phytophthora citrophthora in transgenic plants constitutively expressing a tomato pathogenesis related protein PR-5. **Molecular Breeding**, v. 7, p. 175-185, 2001.

FERGUSON, L.; GRATTAN, S. R. How salinity damages citrus: osmotic effects and specific ion toxicities. **Hort Technology**, v. 15, n. 1, p. 95-99, 2005.

FERNANDES, J. G.; FREIRE, M. B. D. S.; CUNHA, J. C., GALVÍNCIO, J. D.; CORREIA, M. M.; dos SANTOS, P. R. Qualidade físico-química das águas utilizadas no perímetro irrigado cachoeira ii, serra talhada, Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 1, p. 27-34, 2009.

FERNANDES, P. D.; BRITO, M. E. B.; GHEYI, H. R.; SOARES FILHO, W. dos S.; MELO, A. S. de; CARNEIRO, P. T. Crescimento de híbridos e variedades porta-enxerto de citros sob salinidade. **Acta Scientiarum**, v. 33, n. 2, p. 259-267, 2011.

FITA, A.; RODRÍGUEZ-BURRUEZO, A.; BOSCAIU, M.; PROHENS, J.; VICENTE, O. Breeding and domesticating crops adapted to drought: a new paradigm for increasing food production. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 978, 2015.

FLOWERS, T. J.; FLOWERS, S. A. Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders. **Agricultural Water Management**, v.78, n.1, p.15- 24, 2005.

GARCÍA-LEGAZ, M.F.; ORTIZ, J.M.; GARCÍA-LIDÓN, A.; CERDÁ, A. Effect of salinity on growth, ion content and CO₂ assimilation rate in lemon varieties on different rootstock. **Physiology plantarum**, v.89, n.3, p. 427- 432, 1993.

GKIOUGKIS, I.; KALLIORAS, A.; PLIAKAS, F.; PECHTELIDIS, A.; DIAMANTIS, V.; DIAMANTIS, I.; DAFNIS, I. Avaliação da salinização do solo no leste do Delta do Rio Nestos, NE da Grécia. **Catena**, v. 128, p. 238-251, 2015.

GONÇALVES, M.; CRUZ, M.; SANTOS, R.; PORCIÚNCULA, D.; RAMOS, A. Geoquímica e análise multivariada aplicadas na investigação da distribuição dos níveis do flúor das águas subterrâneas e estimativa de riscos de fluorose dentária endêmica no oeste da Bahia, Brasil. **Concilium**, v.22, n.6, p.760-785, 2022.

GUPTA, S. D. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. *In: Reactiveoxygen species and antioxidants in higherplants.* **CRC Press**, p. 193-220, 2010.

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de embriões. *In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.).* **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas.** Brasília: EMBRAPA-CBAB, p. 371-394,1998.

HUSSAIN, S.; LURO, F.; COSTANTINO, G.; OLLITRAULT, P.; MORILLON, R. Physiological analysis of salt stress behavior of citrus species and genera: Low chloride accumulation as an indicator of salt tolerance. **South African Journal of Botany**, v. 81, p. 103 - 112. 2012.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal. **IBGE**, 2022. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613#resultado>>. Acesso em: 19 Jul. 2023.

KANDOWANGKO, N. Y.; FEBRIYANTI, F. Genetic Diversity of The Genus Citrus in Tomini Bay coastal areas, Indonesia based on morphological characters. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v.24, n.5, p. 2938 - 2952, 2023.

KHALID, M. F.; HUSSAIN, S.; ANJUM, M. A.; AHMAD, S.; ALI, M. A.; EJAZ, S.; MORILLON, R. Better salinity tolerance in tetraploid vs diploid Volkamer lemon seedlings is associated with robust antioxidant and osmotic adjustment mechanisms. **Journal of plant physiology**, v. 244, p. 153071, 2020.

KOEHLER-SANTOS, P.; DORNELLES, A.L.C.; FREITAS, L.B. de. Characterization of mandarin citrus germplasm from Southern Brazil by morphological and molecular analyses. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n.7, p. 797-806, 2003.

LORENZI, H., BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas**: de consumo in natura. Nova Odessa: Editora Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 674p.

LU, Y.; LEI, J. Q.; ZENG, F.J.; ZHANG, B.; LIU, G. J.; LIU, B.; LI, X.Y. Effect of NaCl induced changes in growth, photosynthetic characteristics, water status and enzymatic antioxidant system of *Calligonum caput-medusae* seedlings. **Photosynthetica**, v. 55, n.1, p. 96-106, 2017.

MACHADO, M. A.; CRISTOFANI, M.; AMARAL, A.M.; OLIVEIRA, A. C. Genética, melhoramento e biotecnologia de citros. In: MATTOS JÚNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEUJUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico; FUNDAG, p. 223-277, 2005.

MAGALHÃES FILHO, J. R.; AMARAL, L. R.; MACHADO, D. F. S. P.; MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C. Deficiência hídrica, trocas gasosas e crescimento de raízes em laranja 'valência' sobre dois tipos de porta-enxerto. **Bragantia**, v. 67, n.1, p. 75-82, 2008.

MAHOUACHI, J. Long-term salt stress influence on vegetative growth and foliar nutrient changes in mango (*Mangifera indica* L.) seedlings. **Scientia horticulturae**, v. 234, p. 95-100, 2018.

MASS, E. V. Salinity and citriculture. **Tree Physiology**, v. 12, n.2, p. 195-216, 1993.

MATTOS J., D. de; NEGRI, J. D. de, FIGUEIREDO, J. D.; POMPEU JÚNIOR, J. **Citros**: principais informações e recomendações de cultivo. Campinas: IAC, v. 200, 2005. (Boletim técnico).

MINAZADEH, R.; KARIMI, R.; MOHAMMADPARAST, B. The effect of foliar nutrition of potassium sulfate on morpho-physiological indices of grapevine under salinity stress. **Iranian Journal of Plant Biology**, v. 10, n. 3, p. 83-106, 2018.

MOUHAYA, W.; ALLARIO, T.; BRUMOS, J.; ANDRES, F.; FROELICHER, Y.; LURO, F.; MORILLON, R. Sensitivity to high salinity in tetraploid citrus seedlings increases with water availability and correlates with expression of candidate genes. **Functional plant biology**, v. 37, n. 7, p. 674-685, 2010.

NAVARRO, L. Necesidades y problemática de lamejo rasanitária y genética de los cítricos em España. **Phytoma**, Valencia, n. 170, p. 2-5, 2005.

NEVES, M. F.; BUSTILLOS, Ó. V.; NAKKANI, V. E.; SANTA CRUZ, L. M.; COSTA, A. R.; LACERDA, J. P. A. de. **O retrato da citricultura brasileira**. Ribeirão Preto: Citrus BR, 2010.

NÓBREGA, R. S. A.; MOTTA, J. S.; LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S. Tolerância de bactérias diazotróficas simbióticas à salinidade in vitro. **Ciência agrotecnológica**, v. 28, n. 4, p. 899-905, 2004.

OKUR, B.; ÖRÇEN, N. Soil salinization and climate change. *In: Climate change and soil interactions*. Elsevier, p. 331-350, 2020.

OLIVEIRA, R. P.; CRISTOFANI, M.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; MACHADO, M. A. Diversidade genética entre híbridos de tangerina 'Cravo' e laranja 'Pêra'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 4, p. 479-484, 2002.

OLIVEIRA, R. P.; SOARES FILHO, W. D. dos S.; MACHADO, M. A.; FERREIRA, E. A.; SCIVITTARO, W. B.; GESTEIRA, A. S. Melhoramento genético de plantas cítricas. **Informe Agropecuário**, v.35, p.22-29, 2014.

OLIVEIRA, R. P.; SOARES FILHO, W. D. dos S.; PASSOS, O. S.; SCIVITTARO, W. B.; ROCHA, P. S. G. Cultivares-copa. *In: OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. (Eds.). Cultivo de citros sem sementes*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 2011a. p. 65-108. (Sistema de Produção Nº 21).

OLIVEIRA, R. P.; SOARES FILHO, W. D. dos S.; PASSOS, O. S.; SCIVITTARO, W. B.; ROCHA, P. S. G. Porta-enxertos. *In: OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. (Eds.). Cultivo de citros sem sementes*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 2011b. p.51-63. (Sistema de Produção Nº 21).

PÁTRIA, F. M. F. **Tolerância de genótipos de citros à salinidade in vitro e hodropônicos**. 87f. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 2014.

PEDROTTI, A.; CHAGAS, R. M.; RAMOS, V. C.; PRATA, A. P. N.; LUCAS, A. A.T.; SANTOS, P. B.; Causas e consequências do processo de salinização dos solos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 1308-1324, 2015.

PEÑA, L.; NAVARRO, L. Citros transgênicos. *In: Árvores transgênicas*. Berlim, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, v. 8, p. 39-54, 1999.

PEÑA, L.; MARTIN-TRILLO, M.; JUAREZ, J.; PINA, J. A.; NAVARRO, L.; MARTINEZ-ZAPATER, J.M. Constitutive expression. Of Arabidopsis LEAFY or APETALA1, genes in citrus reduces their generation time. **Nature Biotechnology**, v. 19, p. 263-267, 2001.

PÉREZ-CLEMENTE, R. M.; MONTOLIU, A.; LÓPEZ, P.; LÓPEZ-CLIMENT, M. F.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. In vitro tissue culture approaches for the study of salt stress in citrus. In: **Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance**. Birkhäuser Basel. p. 37-42, 2008.

PÉREZ-JIMÉNEZ, M.; PÉREZ-TORNERO, O. I. In vitro plant evaluation trial: Reliability test of salinity assays in citrus plants. **Plants**, v. 9, n. 10, p. 1352, 2020.

PESSOA, L. G.; FREIRE, M. B. D. S.; GREEN, C. H.; MIRANDA, M. F.; DE A FILHO, J. C.; PESSOA, W. R. Assessment of soil salinity status under different land-use conditions in the semiarid region of Northeastern Brazil. **Ecological Indicators**, v. 141, p. 109139, 2022.

POMPEU JÚNIOR, J. Porta-enxertos. In: MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JÚNIOR, P(Ed.). **Citros**. Campinas: IAC: FUNDAG, cap. 4, p. 63-104, 2005.

PRIOR, L. D.; GRIEVE, A. M.; BEVINGTON, K.B.; SLAVICH, P.G. Long-term effects of saline irrigation water on 'Valencia' orange trees: relationships between growth and yield, and salt levels in soil and leaves. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.58, n.4, p.349-358, 2007.

RESEARCH AND MARKETS. World - suco de laranja concentrado - análise de mercado, previsão, tamanho, tendências e insights. Relatório. Covina, EUA: IndexBox, 2023. Disponível em: <<https://www.researchandmarkets.com/reports/4847018/world-concentrated-orange-juice-market>>. Acesso em: 10 de ago. 2024.

RIBEIRO, M. R. Origem e classificação dos solos afetados por sais. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Orgs.) **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, p. 12-19, 2010.

ROOSE, M. L.; SOOST, R.K. Citrus. In: JANICK, J.; MOORE, J. N. (Eds.). **Fruit Breeding: Tree and Tropical Fruits**. v.1, New York: John Wiley& Sons,1996. p. 285-328.

RUIZ, M.; QUIÑONES, A.; MARTÍNEZ-ALCÁNTARA, B.; ALEZA, P.; MORILLON, R.; NAVARRO, L.; ... MARTÍNEZ-CUENCA, M. R. Effects of salinity on diploid (2x) and doubled diploid (4x) Citrus macrophylla genotypes. **Scientia Horticulturae**, v. 207, p. 33-40, 2016.

SALEH, B.; ALLARIO, T.; DAMBIER, D.; OLLITRAULT, P.; MORILLON, R. Tetraploid citrus rootstocks are more tolerant to salt stress than diploid. **Comptes rendus biologiques**, v. 331, n. 9, p. 703-710, 2008.

SANTANA-VIEIRA, D. D. S.; FRESCHI, L.; ALMEIDA, L. A. D. H.; MORAES, D. H. S. D.; NEVES, D. M.; SANTOS, L. M. D.; GESTEIRA, A. D. S. Survival strategies of citrus rootstocks subjected to drought. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 38775, 2016.

SEMINARA, S.; BENNICI, DI BENNICI, DI GUARDO, M.; CARUSO, M.; GENTILE, A.; LA MALFA, S.; DISTEFANO, G. SWEET Orange: Evolution, characterization, varieties, and breeding perspectives. **Agriculture**, v. 13, n. 2, p. 264, 2023.

SENTELHAS, P. C. Agrometeorologia dos Citros. *In*: MATTOS JUNIOR, D.; NEGRI, J. D.; PIO, R.M.; POMPEU JÚNIOR, P(Ed.). **Citros**. Campinas: IAC: FUNDAG, cap. 11, p. 63-104, 2005.

SINGH, A.; SAINI, M. L.; BEHL, R. K. Screening of citrus rootstocks for salt tolerance in semi-arid climates-A review. **Tropics**, v. 13, n. 1, p. 53-66, 2003.

SHARMA, L. K.; KAUSHAL, M.; BALI, S. K.; CHOUDHARY, O. P. Evaluation of rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush.) as rootstock for salinity tolerance at seedling stage under in vitro conditions. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 44, p. 6267-6275, 2013.

SHAYGAN, M.; BAUMGARTL, T. Reclamation of salt-affected land: a review. **Soil Systems**, v.6, n.3, 2022.

SIMPSON, C. R.; NELSON, S.D.; MELGAR, J. C.; JIFON, J.; KING, S. R.; SCHUSTER, G.; VOLDER, A. Growth response of grafted and ungrafted citrus trees to saline irrigation. **Scientia Horticulturae**, v.169, p.199-205, 2014.

SINGH, A.; SAINI, M. L.; BEHL, R. K. Screening of citrus rootstocks for salt tolerance in semi-arid climates – A review. **Tropics**, v. 13, n. 1, p. 53-66, 2003.

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. (Eds.). **Cultura dos citros**, v. 1, p. 61-102, 2013.

SOARES FILHO; W. S. dos; VILARINHOS, A. D.; ALVES, A. A. C.; CUNHA SOBRINHO, A. P.; OLIVEIRA, A. A. R.; SOUZA, A. S.; LEDO, C. A. S.; CRUZ, J. L.; SOUZA, L. D.; CASTRO NETO, M. T.; GUERRA FILHO, M. dos S.; PASSOS, O. S.; MEISSNER FILHO, P. E. **Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura**: obtenção de híbridos. 106. Cruz das Almas: Embrapa CNPMF, 2003.

SOUZA, A. V.; PEREIRA, A. M. S. Revisão: Enraizamento de plantas cultivadas in vitro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.4, p.103-117, 2007.

SOUZA, L. B. **Mapeamento genético de híbridos intraespecíficos de laranja doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], obtidos por cruzamentos controlados**.2010. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de são Paulo, Piracicaba, 2010.

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.

SPEHAR, C. R.; SOUZA, L. A. C. Selection for aluminum tolerance in tropical soybeans. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.36, n.1, p.01-06, 2006.

TANAKA, T. Species problem in Citrus. **Japanese Society for the Promotion of Science**, Tokyo. 1954.

TESTER, M.; DEVENPORT, R. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. **Annals of botany**, v.91, n.5, p.503-527, 2003. WALTER, J.; LÜCK, E.; BAURIEGEL, A.; FACKLAM, M.; ZEITZ, J. Seasonal dynamics of soil salinity in peatlands: **A geophysical approach**, v. 310, p. 1-11, 2018.

VERDE, D. S. V.; MENDES, M. I. D. S.; NOBRE, L. V. D. C.; SOUZA, A. D. S.; dos SANTOS, K. C. F.; SOARES FILHO, W. D. S. In vitro tolerance of citrus rootstocks under saline stress. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 156, n. 1, p. 13, 2024.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M.; RUMJANEK, N. G.; NEVES, M. C. P. Tolerância de rizóbio de feijão-caupi à salinidade e à temperatura em condição in vitro. **Revista Caatinga**, v. 20, n. 4, p.1-9, 2007.

YANG, Z. N.; INGELBRECHT, I. L.; LOUZADA, E.; SKARIA, M.; MIRKOV, T. E. Agrobacterium-mediated transformation of the commercially important grapefruit cultivar Rio Red (*Citrus paradise* Macf.). **Plant Cell Reports**, v. 19, p. 1203-1211, 2000.

CAPÍTULO I

DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA PRÉ-SELEÇÃO IN VITRO DE GENÓTIPOS DE CITROS TOLERANTES À SALINIDADE OBTIDOS DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES

DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA PRÉ-SELEÇÃO IN VITRO DE GENÓTIPOS DE CITROS TOLERANTES À SALINIDADE OBTIDOS DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES

RESUMO: A produção de mudas de citros é essencial para a citricultura, envolvendo o uso de porta-enxertos propagados a partir de sementes. Esses porta-enxertos são fundamentais, pois influenciam o vigor, a resistência a pragas e doenças, e a tolerância a condições ambientais adversas. A germinação de sementes é uma etapa crucial para a obtenção de mudas saudáveis, no entanto, condições inadequadas de salinidade durante a germinação in vitro podem afetar, negativamente, a qualidade das mudas, resultando em plantas menos vigorosas e produtivas, o que pode ser mitigado com o uso de porta-enxertos tolerantes. Assim, objetivou-se analisar os efeitos da salinidade na germinação de sementes de híbridos de citros em condições de cultivo in vitro. Foram selecionados sete genótipos (BRS N Gimenes Fernandes, BRS Cunha Sobrinho, BRS L Navarro, BRS Ary S, HTR - 069, TSKC x CTSW - 033 e a tangerineira 'Sunki Tropical'), que foram cultivados em seis níveis de cloreto de sódio (salinidade) no meio de cultura WPM (0,0 g L⁻¹, 0,64 g L⁻¹, 1,28 g L⁻¹, 1,92 g L⁻¹, 2,56 g L⁻¹ e 3,20 g L⁻¹) durante 120 dias sob condições controladas de temperatura, intensidade luminosa e fotoperíodo. As variáveis avaliadas foram a porcentagem de germinação, a altura das plantas, o número de folhas verdes e senescentes, o número de raízes, o comprimento da maior raiz, o número de miniestacas, e as massas frescas e secas da parte aérea e das raízes. Os dados foram submetidos ao teste F, aplicando-se a transformação de Box-Cox, conforme necessário para algumas variáveis, usando-se os pacotes ExpDes.pt, MASS e ggplot2 no software R. A partir da análise de variância, notou-se efeitos significativos da interação entre o NaCl e os genótipos em diversas características de crescimento e biomassa. Analisando os genótipos de citros, observou-se variabilidade na resposta ao estresse salino, com alguns híbridos mostrando maior tolerância. Genótipos como TSKC x CTSW - 041 mantiveram crescimento e número de folhas verdes mesmo em altas concentrações de NaCl, enquanto outros, como Sunki Tropical, apresentaram uma redução significativa no desenvolvimento. Nas condições estabelecidas neste estudo, nenhuma concentração de NaCl mostrou-se prejudicial para o desenvolvimento das plantas. No entanto, concentrações até 1,92 g L⁻¹ proporcionaram resultados mais satisfatórios nas características avaliadas. No geral, foi possível observar que é fundamental considerar não apenas a concentração de NaCl, mas também a viabilidade das sementes de diferentes genótipos para otimizar a germinação em ambientes salinos. Os resultados do estudo indicaram que a influência da concentração de NaCl na taxa de germinação varia entre os genótipos avaliados. Além disso, a viabilidade das sementes desempenha um papel crucial na determinação da taxa de germinação sob condições salinas. Os genótipos mostraram diferentes níveis de tolerância à salinidade, não seguindo a classificação existente na literatura, o que indica a necessidade de novos estudos para alinhar as condições in vitro com as de campo e aprimorar a seleção de genótipos tolerantes à salinidade.

Palavras-chave: Citricultura; Porta-enxertos; Germinação in vitro; Estresse salino.

DEVELOPMENT OF A PROTOCOL FOR IN VITRO PRE-SELECTION OF SALINITY-TOLERANT CITRUS GENOTYPES OBTAINED FROM SEED GERMINATION

ABSTRACT: Citrus seedling production is essential for citrus farming, involving the use of rootstocks propagated from seeds. These rootstocks are essential because they influence vigor, resistance to pests and diseases, and tolerance to adverse environmental conditions. Seed germination is a crucial step to obtain healthy seedlings; however, inadequate salinity conditions during in vitro germination can negatively affect seedling quality, resulting in less vigorous and productive plants, which can be mitigated by using tolerant rootstocks. Thus, the aim of this study was to analyze the effects of salinity on the germination of citrus hybrid seeds under in vitro cultivation conditions. Seven genotypes (BRS N Gimenes Fernandes, BRS Cunha Sobrinho, BRS L Navarro, BRS Ary S, HTR - 069, TSKC x CTSW - 033 and the mandarin tree 'Sunki Tropical') were selected and grown at six sodium chloride levels (salinity) in WPM culture medium (0.0 g L⁻¹, 0.64 g L⁻¹, 1.28 g L⁻¹, 1.92 g L⁻¹, 2.56 g L⁻¹ and 3.20 g L⁻¹) for 120 days under controlled conditions of temperature, light intensity and photoperiod. The variables evaluated were the germination percentage, plant height, number of green and senescent leaves, number of roots, length of the largest root, number of minicuttings, and fresh and dry masses of the shoots and roots. The data were subjected to the F test, applying the Box-Cox transformation, as necessary for some variables, using the ExpDes.pt, MASS and ggplot2 packages in the R software. From the analysis of variance, significant effects of the interaction between NaCl and genotypes were noted on several growth and biomass characteristics. Analyzing the citrus genotypes, variability was observed in the response to saline stress, with some hybrids showing greater tolerance. Genotypes such as TSKC x CTSW - 041 maintained growth and number of green leaves even at high NaCl concentrations, while others, such as Sunki Tropical, showed a significant reduction in development. Under the conditions established in this study, no NaCl concentration was shown to be detrimental to plant development. However, concentrations up to 1.92 g L⁻¹ provided more satisfactory results in the evaluated characteristics. Overall, it was possible to observe that it is essential to consider not only the NaCl concentration, but also the viability of seeds of different genotypes to optimize germination in saline environments. The results of the study indicated that the influence of NaCl concentration on germination rate varies among the genotypes evaluated. In addition, seed viability plays a crucial role in determining the germination rate under saline conditions. The genotypes showed different levels of salinity tolerance, not following the classification existing in the literature, which indicates the need for further studies to align in vitro conditions with field conditions and improve the selection of salinity-tolerant genotypes.

Keywords: Citrus farming; Rootstocks; In vitro germination; Saline stress.

1. INTRODUÇÃO

Na citricultura, assim como em outras culturas, a utilização de sementes é um método fundamental para a obtenção de porta-enxertos (BASTOS et al., 2014). Para a germinação das sementes é necessário um ambiente propício para o desenvolvimento, que envolvam condições favoráveis como luz, temperatura e disponibilidade de água (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Porém, nem sempre essas condições são favoráveis, principalmente em solos salinos e sódicos. Geralmente, solos afetados por sais são encontrados em zonas áridas e semiáridas, onde a evaporação é superior à precipitação, resultando no acúmulo de sais solúveis e no incremento do sódio trocável na superfície dos solos (BARROS et al., 2004). Essas regiões são comumente encontradas no Nordeste Brasileiro, onde a salinidade do solo é abundante, podendo, dessa forma, limitar a produção agrícola (RIBEIRO et al., 2001).

A salinidade do solo é considerada uma ameaça significativa à sustentabilidade dos solos agrícolas e, como resultado, à segurança alimentar nas regiões semiáridas em todo o mundo (SHRIVASTAVA; KUMAR, 2015). Em termos da extensão das áreas afetadas pelo sal em todo o mundo, as estimativas revelam que cerca de 6% dos solos do planeta são afetados pela salinidade, com 54% deles também sofrendo de sodicidade, (KHAIME et al., 2018). Além disso, cerca 20% das terras irrigadas, equivalentes a 45 milhões de hectares, já sofreram salinização (SHRIVASTAVA; KUMAR, 2015). Solos afetados por sais são encontrados principalmente nas regiões áridas e semiáridas, sendo que a salinização induzida pela irrigação afeta 18,4 milhões de hectares na América Latina e no Caribe, particularmente em países como Argentina, Brasil, Chile, México e Perú. Na região nordeste do Brasil, a área agrícola irrigada abrange aproximadamente 500 mil hectares, com 25-30% em processo de salinização. A salinização resultante da irrigação é um problema crítico de degradação do solo que prejudica a produtividade agrícola na região semiárida do Brasil (HEINZE, 2002; FAO, 2015).

O elevado teor de sais, especialmente de cloreto de sódio (NaCl), pode impedir ou dificultar a germinação das sementes de citros devido à diminuição do potencial osmótico, prejudicando as fases subsequentes do processo (LIMA et al., 2005). Como a produção de mudas cítricas, geralmente, envolve o uso de porta-enxertos propagados a partir de sementes (BASTOS et al., 2014), se as condições de

salinidade não forem adequadas durante a germinação, a qualidade das mudas pode ser afetada negativamente, com conseqüentemente impacto na produção. Diante disso, o controle e a otimização das condições de cultivo são essenciais.

A tolerância à salinidade é uma característica que apresenta considerável variação entre diferentes genótipos, sendo um fator essencial na seleção de plantas adequadas para cultivo em solos salinos. A implementação de métodos de propagação *in vitro* representa uma abordagem altamente eficiente para a seleção rápida e precisa de materiais genéticos, possibilitando o desenvolvimento saudável das mudas por meio de condições que favorecem a germinação, pois permite a replicação de ambientes controlados, incluindo estresse salino, agilizando assim a identificação e avaliação dos genótipos mais tolerantes. Além disso, a propagação *in vitro* facilita a produção de plantas geneticamente uniformes, o que aprimora a eficiência dos processos de seleção e cultivo (SEPEHRTAJ; SHAHSAVAR, 2017; MENDES et al., 2023).

A seleção de genótipos cítricos por meio de técnicas biotecnológicas, como o cultivo *in vitro*, oferece um potencial significativo para aprimorar a eficiência da citricultura, garantindo sua continuidade e crescimento sustentável no Nordeste brasileiro (FAGERIA; GHEYI, 1997). Portanto, é crucial investir em pesquisas e práticas que otimizem as condições de cultivo *in vitro*, especialmente em relação à salinidade, a fim de garantir a produção de mudas de citros de alta qualidade e, conseqüentemente, o sucesso da citricultura na região. Dentro desse contexto desafiador, a utilização de porta-enxertos que demonstrem tolerância à salinidade pode representar uma solução viável para enfrentar o estresse salino na produção de mudas de citros (BASTOS et al., 2014).

Programas de melhoramento genético de citros, como o conduzido pela Embrapa Mandioca e Fruticultura, têm como principal objetivo a seleção de porta-enxertos híbridos com elevada resistência a fatores de estresse abiótico e biótico, ao mesmo tempo em que buscam promover a produção precoce e controlar o tamanho da copa das árvores de citros (SOARES FILHO et al., 2013).

Dessa forma, objetivou-se analisar os efeitos da salinidade na germinação de sementes de genótipos de citros em condições de cultivo *in vitro*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Núcleo de Biologia Avançada da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizado no município de Cruz das Almas, Bahia.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS GENÓTIPOS E CRUZAMENTOS

O material vegetal utilizado foi proveniente do Programa de Melhoramento Genético de Citros (PMG Citros) (Tabela 1), sendo eles os genótipos: HTR – 069 (BRS Santana), (LCR x TR) – 005 (BRS N Gimenes Fernandes), TSKC x CTSW - 041 (BRS Cunha Sobrinho), TSKC x CTSW – 033, Sunki Tropical, TSKC x CTQT1439 - 014 (BRS L Navarro) e LVK x LCR - 038 (BRS Ary S).

Tabela 1. Lista dos genótipos de porta-enxertos de citros estudados, classificados quanto à tolerância à salinidade como pés-francos de origem nucelar (plantas obtidas da germinação de sementes em campo), conforme critério descrito por Soares Filho et al. (2016).

Genótipo ¹	Nome científico	Classe ²
Tangerineira 'Sunki Tropical'	<i>Citrus sunki</i> (Hayata) hort. ex Tanaka	3
Híbrido trifoliolado HTR - 069	<i>C. xsinensis</i> (L.) Osbeck x [<i>C. xsinensis</i> x <i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.]	4
LRF x (LCR x TR) - 005 (BRS N Gimenes Fernandes)	<i>C. xjambhiri</i> Lush. x (<i>C. xlimonia</i> Osbeck x <i>P. trifoliata</i>)	4
LVK x LCR - 038 (BRS Ary S)	<i>C. xvolkameriana</i> V. Ten. & Pasq x <i>C. limonia</i>	4
TSKC x CTQT1439 - 014 (BRS L Navarro)	<i>C. sunki</i> x [(<i>Fortunella margarita</i> Lour. Swingle x (<i>C. xsinensis</i> x <i>P. trifoliata</i>)]	2
TSKC x CTSW - 033	<i>C. sunki</i> x (<i>C. xparadisi</i> Macfad. x <i>P. trifoliata</i>)	1
TSKC x CTSW - 041 (BRS Cunha Sobrinho)	<i>C. sunki</i> x (<i>C. xparadisi</i> x <i>P. trifoliata</i>)	2

Legenda: ¹HTR - 069 laranja 'Pera' x citrange 'Yuma'; LRF: limoeiro 'Rugoso da Flórida'; LCR: limoeiro 'Cravo'; TR: *P. trifoliata*; LVK: limoeiro 'Volkameriano'; TSKC: tangerineira 'Sunki' comum; CTQT: citrangequat 'Thomasville'; CTSW: citrumelo 'Swingle'.

²Classificação quanto à tolerância à salinidade, conforme critério descrito por Soares Filho et al. (2016): 1 - Sensível; 2 - Moderadamente sensível; 3 - Moderadamente tolerante; 4 - Tolerante.

Os genótipos TSKC x CTSW – 041 (BRS Cunha Sobrinho), TSKC x CTQT1439 – 014 (BRS L Navarro), LRF x (LCR x TR) – 005 (BRS N Gimenes Fernandes), LVK x LCR – 038 (BRS Ary S) e BRS Sunki Tropical são porta-enxertos desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura (PMG Citros) e já estão registrados no Registro Nacional de Cultivares do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RNC/MAPA). Por outro lado, os porta-enxertos HTR – 069 (BRS Santana) e TSKC x CTSW – 033, também selecionados pelo PMG Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, estão atualmente em processo de inscrição no RNC/MAPA.

2.3 DESINFESTAÇÃO DAS SEMENTES

Para a montagem do experimento, as sementes, obtidas de frutos maduros, foram retiradas, lavadas com água corrente (Figura 1) e tiveram o tegumento removido. Em seguida, passaram por um processo de desinfestação, sendo imersas em álcool 70% por um período de 5 minutos, em uma solução de hipoclorito de sódio a 1%, com a adição de uma gota de Tween 20®, por 20 minutos e posterior tríplice lavagem com água de osmose reversa autoclavada. Todo esse processo de desinfestação foi conduzido em câmara de fluxo laminar, garantindo condições assépticas antes da introdução das sementes no meio de cultura.

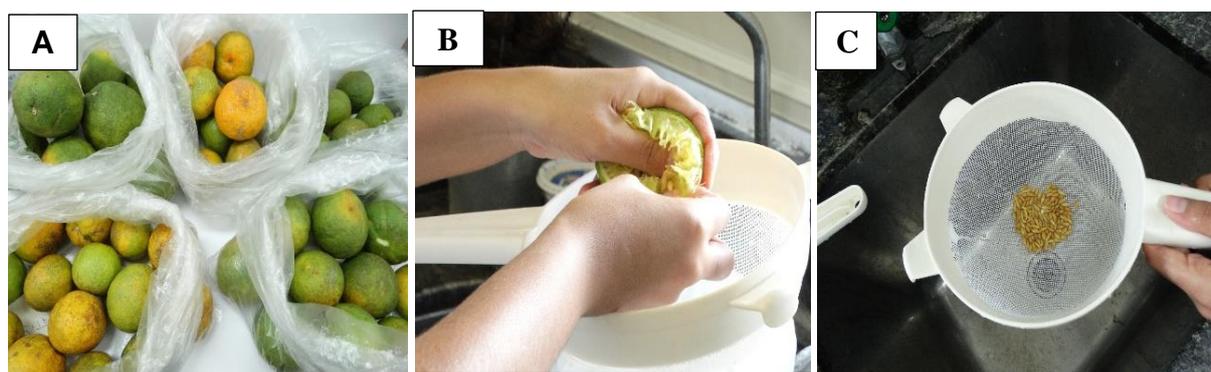


Figura 1. Processo de obtenção de sementes de citros: (A) Frutos maduros colhidos no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Citros; (B) Extração de sementes dos frutos; e (C) Lavagem das sementes com água corrente. Foto: Maria Luiza Santos, 2023.

2.4 MONTAGEM DO EXPERIMENTO E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO

As sementes foram introduzidas em tubos de ensaio contendo 12 mL de meio de cultura WPM, conforme a formulação basal descrita por Lloyd e McCown (1980). O meio foi suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e NaCl nas seguintes concentrações: 0,00 g L⁻¹, 0,64 g L⁻¹, 1,28 g L⁻¹, 1,92 g L⁻¹, 2,56 g L⁻¹ e 3,20 g L⁻¹, correspondendo a condutividades elétricas de 0,00 dS m⁻¹, 1,09 dS m⁻¹, 2,19 dS m⁻¹, 3,28 dS m⁻¹, 4,37 dS m⁻¹ e 5,47 dS m⁻¹, respectivamente. O meio foi solidificado com 2,4 g L⁻¹ de Phytigel® e pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem a 120 °C por 20 minutos. As concentrações de NaCl utilizadas neste estudo foram estabelecidas com base na literatura existente, como relatado por Maas (1993), que indica que a produção de frutos cítricos é comprometida quando a condutividade elétrica do extrato de saturação ultrapassa 1,4 dS m⁻¹. Com o intuito de avaliar a capacidade de tolerância e adaptação das variedades de porta-enxerto ao estresse salino, foram utilizadas concentrações superiores a esse limite.

Os tubos foram mantidos em sala de crescimento (Figura 2), na temperatura de 27 ±1 °C, com densidade de fluxo de fótons de 30 μmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas.



Figura 2. Semente de citros em sala de crescimento, em processo de germinação. Foto: Jorge Eduardo Melo, 2023.

2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para o experimento, foi adotado um delineamento experimental inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 7 x 6, que inclui 7 genótipos e 6 níveis de salinidade, com 24 repetições, sendo que, em cada parcela experimental, tinha-se um tubo de ensaio contendo uma semente.

2.6 AVALIAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

Após o período de 120 dias, procedeu-se à avaliação do vigor das plântulas que germinaram, a partir de embriões nucelares, geneticamente idênticos à planta-mãe. A seleção foi realizada com base em observações morfológicas, especialmente das folhas, que apresentavam características correspondentes ao padrão da planta parental materna da variedade que forneceu as sementes. Essa uniformidade observada dentro do grupo indica a garantia de sua origem nuclear. Nesse processo, foram registradas a porcentagem de germinação, a altura de planta (APA, em cm), número de folhas verdes (NFV) e senescentes (NFS), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CMR, em cm), número de miniestacas (NM), massas das matérias fresca (MFPA, em mg) e seca (MSPA, em mg) de parte aérea, massas da matéria fresca (MFR, em mg) e seca (MSR, em mg) de raízes.

Os dados foram submetidos ao teste F da análise de variância. Para algumas variáveis foi aplicada a transformação de Box-Cox (Box; Cox, 1964) para atender aos pressupostos necessários. A análise de variância foi conduzida utilizando o pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2021), e as transformações de Box-Cox foram implementadas com o pacote MASS (VENABLES; RIPLEY, 2002), ambos integrados ao software R (R CORE TEAM, 2024).

Foram utilizados gráficos de boxplot e mapas de calor (heatmap) para investigar como os genótipos se relacionam em diferentes níveis de NaCl. Essas visualizações foram construídas com o auxílio do pacote ggplot2 (WICKHAM, 2016) no ambiente estatístico R (R CORE TEAM, 2024).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da taxa de germinação indicam que a adição de NaCl favoreceu a germinação do híbrido TSKC x CTSW - 041, nas concentrações de 0,64 g L⁻¹ a 1,92 g L⁻¹. No LRF X (LCR XTR) – 005 e na Sunki Tropical observa-se a elevação taxa de germinação com 1,92 g L⁻¹ do agente salino, enquanto no HTR – 069 esse comportamento ocorreu na concentração de 0,64 g L⁻¹ de NaCl (Figura 3).

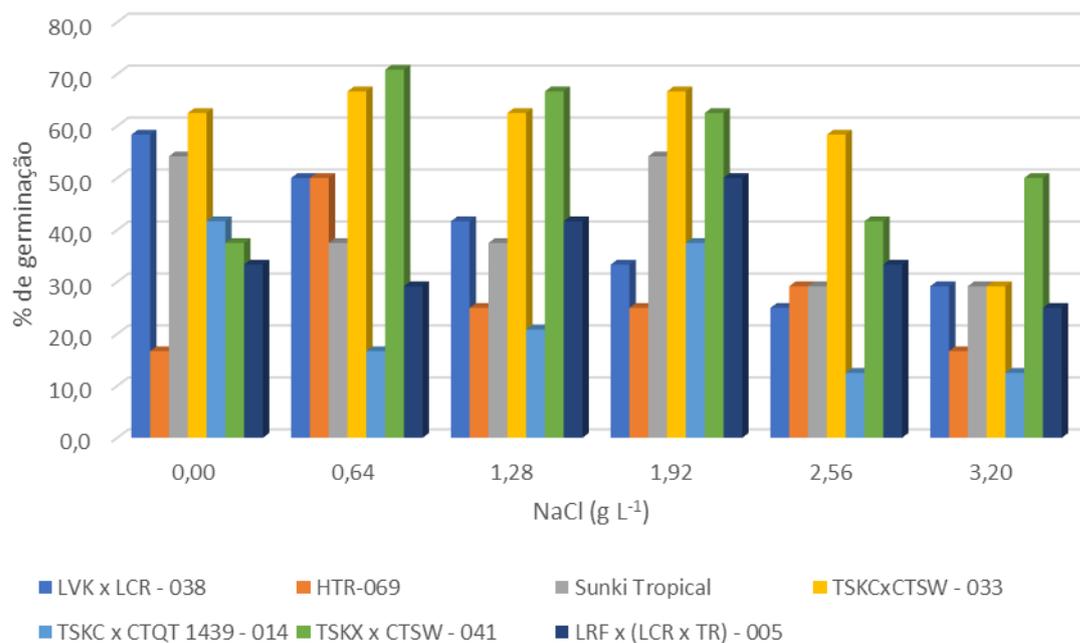


Figura 3. Percentual de germinação dos genótipos de citros HTR – 069, (LCR x TR) – 005, TSKC x CTSW - 041, TSKC x CTSW – 033, Sunki Tropical, TSKC x CTQT1439 - 014 e LVK x LCR - 038, submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio.

Legenda: LVK: limoeiro 'Volkameriano'; LCR: limoeiro 'Cravo'; HTR – 069: laranja 'Pera' x citrange 'Yuma'; TSKC: tangerineira 'Sunki' comum; CTSW: citrumelo 'Swingle'; CTQT: citrangequat 'Thomasville'; LRF: limoeiro 'Rugoso da Flórida'; TR: *P. trifoliata*.

Em alguns genótipos como o LVK x LCR – 038 e TSKC x CTQT1439 – 014, a presença do NaCl reduziu a taxa de germinação das sementes, já na Sunki Tropical e no TSKC x CTSW - 033 essa redução foi mais acentuada em concentrações mais elevadas. Sharma et al. (2013), estudando os efeitos da salinidade em *C. jambhiri*, alcançaram a máxima germinação na ausência do agente salino (NaCl), sendo que na presença do NaCl a partir da concentração de 86 mM as sementes incharam, brotaram, mas não houve formação de plântulas.

A variação observada na germinação das sementes, reforça ainda o estresse salino é considerado múltiplo, ocasionando modificações em que vários elementos, incluindo o meio de crescimento, a duração da exposição, tratamentos anteriores (como desinfestação) e até mesmo o momento da colheita das sementes, podem influenciar os resultados. Portanto, tais resultados indicam que uma análise mais precisa e contextual dos efeitos da salinidade em processos fisiológicos estão relacionados como a germinação. Como afirmam BOHNERT, et al. (1995) e SANÉ et al. (2021) a germinação representa o estágio fisiológico inicial influenciado pela salinidade e, conseqüentemente, é uma fase vital para a avaliação preliminar de variedades que apresentam tolerância ou suscetibilidade à salinidade, sendo este processo extremamente crucial para o estabelecimento e crescimento das plantas, particularmente no contexto de restrições ambientais desfavoráveis, como o estresse salino.

Assim, ao analisar a média geral de germinação para diferentes genótipos, é possível observar as seguintes porcentagens: 39,6%, 27,1%, 40,3%, 57,6%, 23,6%, 54,9% e 35,4%, respectivamente, para os genótipos LVK x LCR - 038, HTR - 069, Sunki Tropical, TSKC x CTSW - 033, TSKC x CTQT1439 - 014, TSKC x CTSW - 041 e LRF x (LCR x TR) - 005. Além disso, para as diferentes concentrações de NaCl (0,0 g L⁻¹, 0,64 g L⁻¹, 1,28 g L⁻¹, 1,92 g L⁻¹, 2,56 g L⁻¹ e 3,20 g L⁻¹) nesta mesma ordem houve a germinação geral de 40,6%, 42,7%, 39,6%, 42,7%, 29,2% e 24,0%, nas distintas concentrações de NaCl.

Apesar do efeito salino na germinação das sementes, que pode ser evidenciado nas concentrações mais elevadas, fatores como a viabilidade e vigor podem ser considerados determinantes na taxa de germinação, como ressalta Carvalho et al. (2021), esses fatores podem explicar a variação nos resultados obtidos, mesmo com a ausência do NaCl, em que a maioria dos genótipos apresentaram menos de 50% de sementes germinadas. Nesse aspecto a poliembrião, característica comum nas sementes de citros, é fundamental para a interpretação dos resultados do experimento, pois indica a presença de múltiplos embriões em uma única semente, influenciando a uniformidade e o vigor das plântulas germinadas (SIDHU et al., 2024). No presente estudo, os genótipos de citros avaliados apresentam as seguintes porcentagens de sementes poliembriônicas: LRF x (LCR x TR) - 005 com 100%, TSKC x CTQT1439 - 014 com 85%, TSKC x CTSW - 041 com 90%, LVK x LCR - 038 com 94%, HTR - 069 com 87% e Sunki Tropical com 98%.

A partir da análise de variância, verifica-se efeito significativo da interação dos fatores (NaCl X Genótipos) em todas as variáveis avaliadas, exceto na altura da parte área.

Tabela 2. Resumo da análise de variância para as variáveis de crescimento, número de folhas verdes (NFV), altura de parte área (APA), comprimento da maior raiz (CMR), massas das matérias fresca (MFPA) e seca (MSPA) de parte aérea, massas da matéria fresca (MFR) e seca (MSR) de raízes, dos genótipos HTR - 069, LRF x (LCR x TR) – 005, TSKC x CTSW - 041, TSKC x CTSW - 033, Sunki Tropical, TSKC x CTQT1439 - 014 e LVK x LCR - 038, submetidos a distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM, por 120 dias.

FV	GL	QM						
		NFV	APA	CMR ¹	MFPA ¹	MSPA ¹	MFR ¹	MSR ¹
NaCl	5	258,07**	38,81**	3,67**	0,162**	0,00*	0,45**	0,09**
Genótipo	6	141,08**	68,74**	26,95**	0,83**	0,01**	0,93**	0,25**
NaCl x Genótipo	30	16,54**	4,14 ^{ns}	1,54**	0,09**	0,00*	0,08**	0,02**
Resíduo	360	7,50	3,14	0,72	0,042	0,00	0,04	0,01
Média Geral		4,99	4,39	9,91	0,13	0,03	0,12	0,03
CV (%)		54,86	40,31	22,62	14,52	51,00	13,86	5,73

Legenda:¹Dados transformado por Box-Cox (1964). ** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste F. ^{ns} não significativo a 5% pelo teste F.

FV: Fator de variação; GL: Grau de liberdade, QM: Quadrado médio, CV: Coeficiente de variação.

Observa-se que, entre as variáveis estudadas, houve uma variação considerável dos coeficientes de variação, oscilando entre 5,73% a 54,86%, para a massa da matéria seca de raízes e número de folhas verdes, respectivamente. Apesar disso, no cultivo in vitro, coeficientes de variação comumente são elevados, sendo assim, essa variação quanto aos percentuais obtidos entre as variáveis é esperada em função de algumas condições não controladas, como por exemplo, variações na luminosidade e temperatura, concentrações do meio de cultivo, variações do material genético, que acabam causando interferências e resultando na variação dos dados.

Por meio dos heatmaps e blox-plots foi possível realizar uma comparação das médias das características em função das diferentes concentrações estudadas e dos genótipos utilizados.

Para o número de folhas verdes, o TSKC x CTSW - 041 apresentou maior tolerância as concentrações salinas, já a Sunki Tropical, o LVK x LCR - 038, e o LRF x (LCR x TR) - 005 mostraram maior redução do número de folhas verdes com a adição do NaCl, principalmente nas concentrações mais elevadas (2,56 gL⁻¹ e 3,20 g L⁻¹), evidenciado pela ocorrência da cor azul (Figura 4). O HTR - 069 apresentou

maiores médias nas concentrações de 0,64 g L⁻¹ e 2,56 g L⁻¹, enquanto houve uma redução considerável nas doses de 1,28 g L⁻¹ e 3,2 g L⁻¹. Autores como Moya et al. (1999) e Khoushbakht et al. (2010) afirmam que a diminuição no número de folhas pode estar relacionada aos efeitos inibidores ocasionados pela presença do sal, bem como aos efeitos nocivos da sua toxicidade, resultando na desfolha (queda) das folhas danificadas, aumentando assim a senescência.

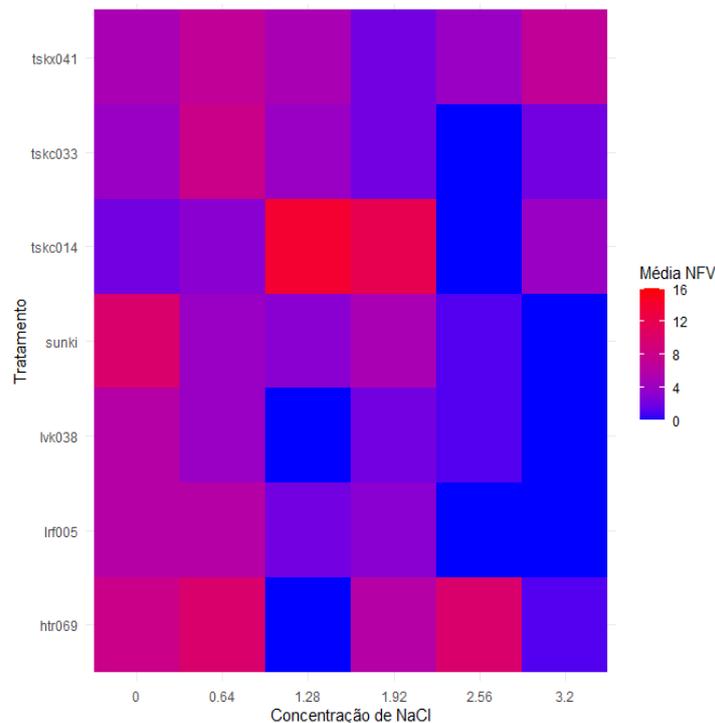


Figura 4. Heatmap para o número de folhas verdes (NFV) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

O número de folhas verdes diminuiu com o aumento da concentração de NaCl para a maioria dos genótipos (Figura 5). Na Sunki Tropical, por exemplo, observou-se uma redução acentuada no número de folhas verdes a partir de 1,28 g L⁻¹ de NaCl. A média de folhas do indivíduo TSKC x CTQT1439 - 014 eleva-se consideravelmente na concentração de 1,28 g L⁻¹. LVK x LCR - 038 mostrou uma redução gradual do número de folhas verdes com o aumento na concentração de NaCl. Esses resultados sugerem que a presença do NaCl no meio de cultivo resultou no estresse nas plantas, levando à senescência e perda de folhas (Figura 6).

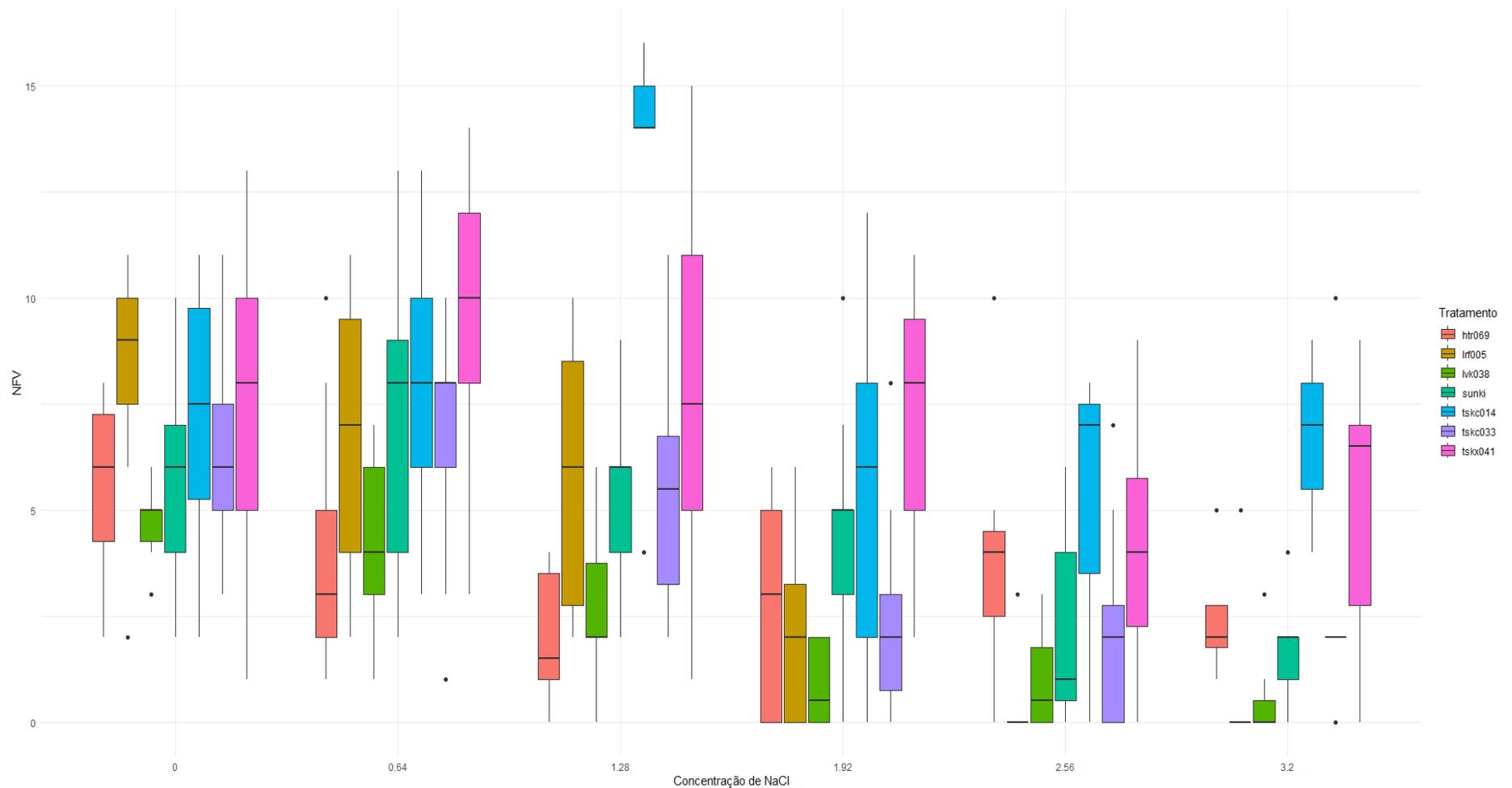


Figura 5. Blox-plot para o número de folhas verdes (NFV) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranjeira ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Quanto ao número de folhas senescentes (Figura 6), observa-se que na ausência do NaCl, todos os genótipos, exceto o TSKC x CTSW – 033, não apresentaram senescência após 120 dias de cultivo. Com o aumento da concentração de NaCl para 0,64 g L⁻¹, apenas o TSKC x CTSW - 041 apresentou folhas senescentes. Com o aumento das concentrações de NaCl de 1,28 g L⁻¹, 1,92 g L⁻¹ e 2,56 g L⁻¹, os genótipos TSKC x CTQT1439 – 014, (LCR x TR) – 005 e o HTR – 069 permaneceram tolerantes à senescência, fator este que pode estar associado à sua tolerância à salinidade, visto que, de acordo com a classificação de Soares Filho et al. (2016) estes são, respectivamente, moderadamente sensível, tolerante e tolerante enquanto porta-enxerto. Na dose mais elevada, esse comportamento ocorre apenas no TSKC x CTSW – 041 e no TSKC x CTQT1439 – 014, classificados como moderadamente sensíveis. Ainda na concentração mais elevada, observa-se um aumento da senescência foliar, especialmente em Sunki Tropical e LVK x LCR – 038, isso ocorre porque as plantas de citros não conseguem eliminar o sódio do sistema, sendo assim a concentração de sódio aumenta nas folhas, causando danos às folhas, como citam Sharma et al. (2013).

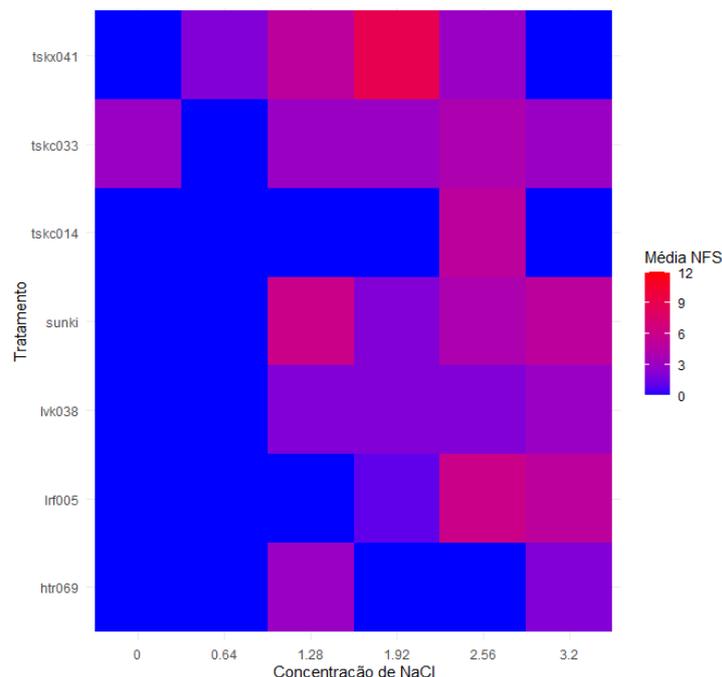


Figura 6. Heatmap para o número de folhas senescentes (NFS) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranjeira ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Conforme mostrado na Figura 7, o número de folhas senescentes aumenta com o aumento da concentração de NaCl, um comportamento esperado, pois a salinidade exerce uma influência significativa no crescimento da planta em vários estágios de seu ciclo de vida, elevando a pressão osmótica da solução do solo, o que posteriormente promove o acúmulo de certos íons em concentrações prejudiciais nos tecidos vegetais e interrompe sua nutrição mineral, como cita Allison (1964). Desse modo, o acúmulo de íons prejudiciais, como sódio e cloro, nas folhas pode resultar na senescência prematura das folhas, uma vez que os tecidos foliares apresentam maior sensibilidade ao estresse induzido pelo sal, além disso, as discrepâncias osmóticas e nutricionais ocasionadas pela salinidade prejudicam o processo de fotossíntese e aceleram a deterioração das células foliares, culminando na morte prematura das folhas e, como consequência direta, na diminuição da eficácia fotossintética da planta.

Dentre os genótipos, observamos que, na Sunki Tropical e no LRF x (LCR x TR) – 005 notam-se aumentos consideráveis no NFS em concentrações mais altas de NaCl. Este aumento na senescência foliar indica que as plantas estão sofrendo danos significativos sob estresse salino, resultando na morte prematura das folhas, visto que tal comportamento não ocorre na ausência do NaCl. Como citado por Perez-Jimenez e Perez-Turnero (2020), quando a concentração de sais ultrapassa os limites de tolerância, os danos físicos começam a aparecer na forma de danos às folhas, que apresentam branqueamento ou escurecimento e podem cair prematuramente, estando estes sintomas relacionados a diminuição do conteúdo total de clorofila.

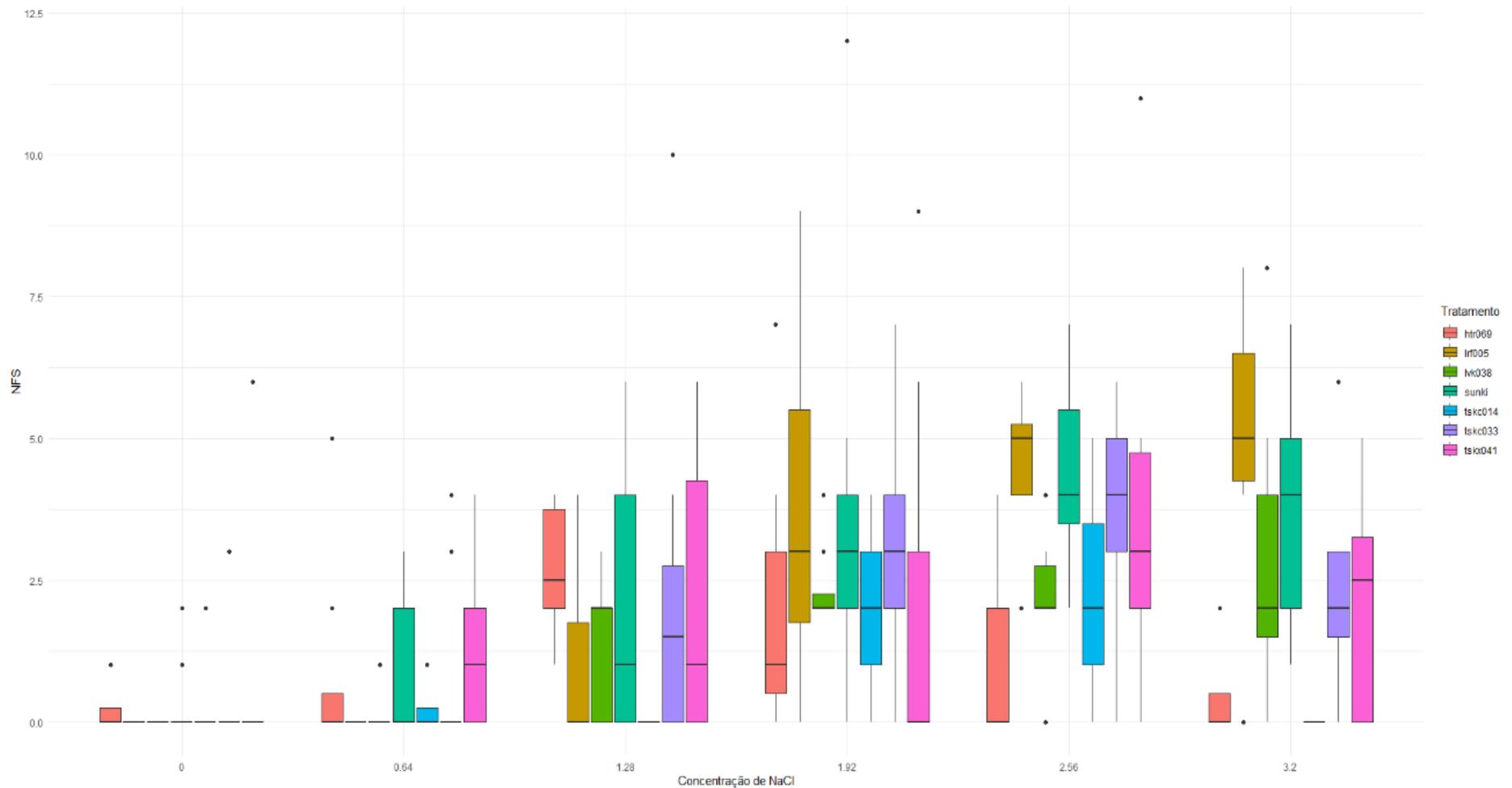


Figura 7. Blox-plot para o número de folhas senescentes (NFS) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Para a altura de parte aérea (Figura 8), no TSKC x CTSW – 033 e na Sunki Tropical notaram-se as menores médias dessa variável. O LVK x LCR - 038 destaca-se com a maior média na ausência do sal, e na concentração de 1,92 g L⁻¹, embora tenha sido notado redução considerável no crescimento da planta nas demais concentrações, principalmente na de 2,56 g L⁻¹. Observa-se que a redução do crescimento das plantas é uma consequência do efeito do NaCl, que causa inibição do seu desenvolvimento, além disso, autores como Pérez-Tornero et al. (2009) citam que tal redução vem acompanhada da diminuição das miniestacas, massa fresca e número de folhas.

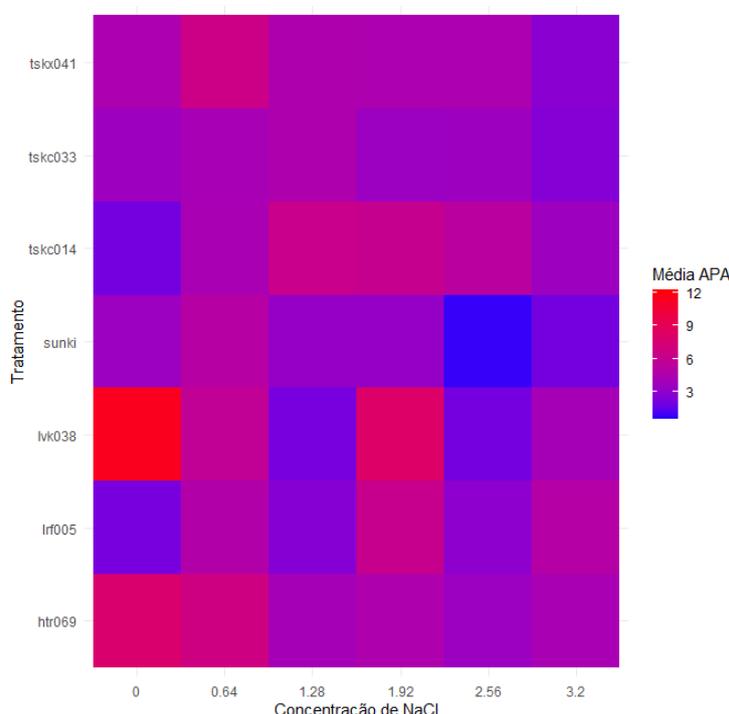


Figura 8. Heatmap para a altura da parte aérea (APA) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

No blox-plot para a altura da parte aérea, observa-se que essa característica variou significativamente nos genótipos com o aumento da concentração de NaCl (Figura 9). A altura média do indivíduo HTR - 069 foi de, aproximadamente, 7 cm na ausência de NaCl no meio de cultura, diminuindo para aproximadamente 3,5 cm

quando cultivado em meio nutritivo com 3,20 g L⁻¹ de NaCl. No caso do LVK x LCR - 038, tem-se a maior média na ausência e na concentração de 1,28 g L⁻¹ de NaCl. Esses resultados indicam que a salinidade afeta negativamente o crescimento das plantas, e corroboram com os resultados encontrados no trabalho de Alam et al. (2020), em que a altura da planta foi afetada, negativamente, pelo aumento do nível de salinidade em mudas dos porta-enxertos cítricos, de pomelo, tangerineira 'Cleopatra' e Calamansi. Contudo, no presente trabalho, alguns genótipos têm maior tolerância, como o LVK x LCR – 038, (LCR x TR) – 005, TSKC x CTQT1439 - 014 (BRS L Navarro), mantendo uma boa altura sob determinadas concentrações de sal, e outros maior sensibilidade como o TSKC x CTSW – 033 e a Sunki Tropical, fatores estes que podem estar associados à sua classificação quanto à tolerância à salinidade conforme a Tabela 1.

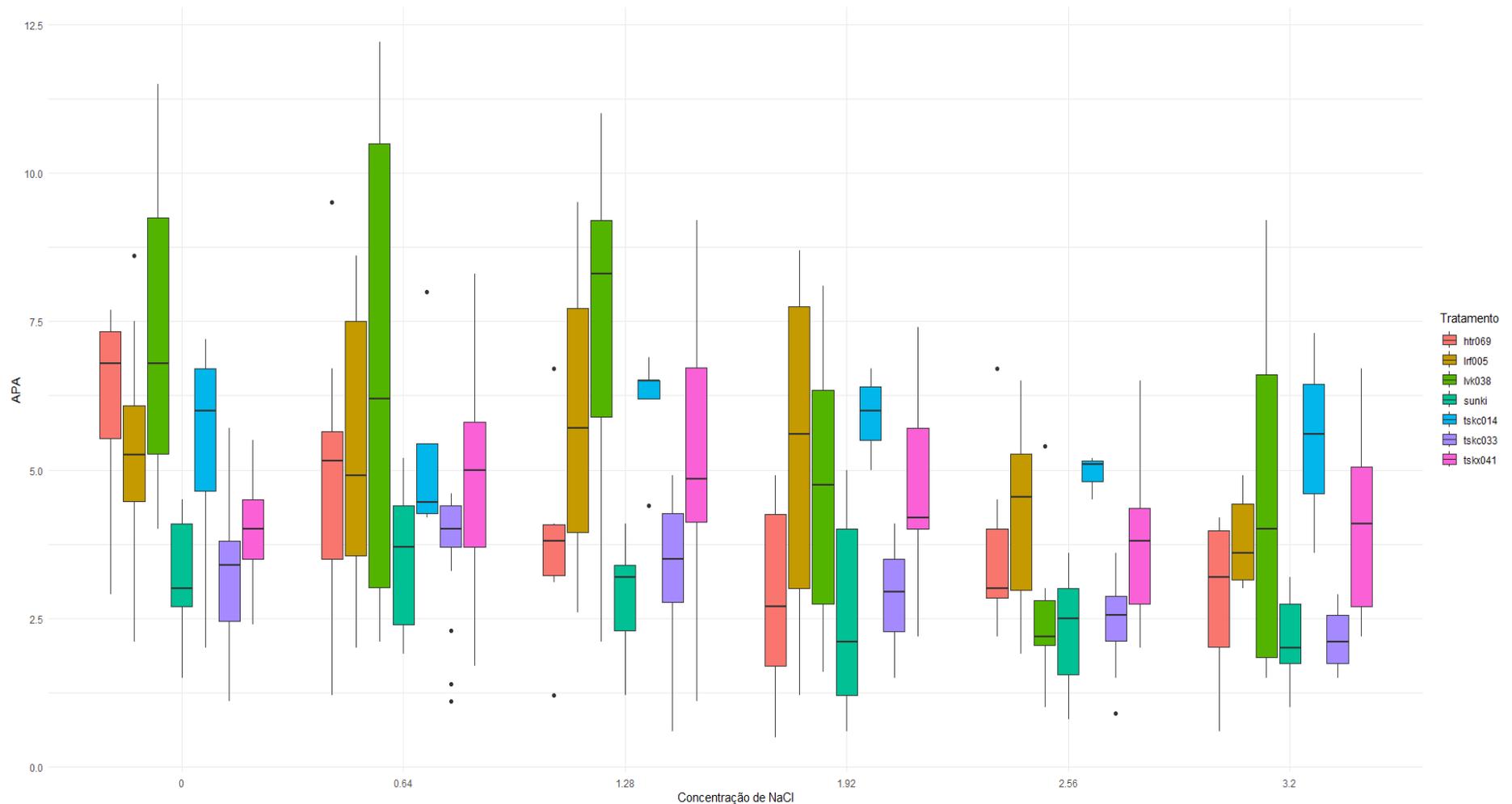


Figura 9. Blox-plot para a altura da parte aérea (APA) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle’; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranjeira ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Para o número de miniestacas, um tipo de segmento nodal, usado na propagação vegetativa, contendo pelo menos uma gema de 1 cm, observa-se de acordo com a Figura 10, que a concentração de 0,64 g L⁻¹ favoreceu o aumento da média para o TSKC x CTSW - 041 e o HTR - 069 quando comparados a ausência do NaCl, genótipos classificados, conforme a Tabela 1, em moderadamente sensível e tolerante, respectivamente. No caso do número de miniestacas, relata-se que concentrações moderadas de salinidade causam aumento da osmolaridade, o que é capaz de promover o aumento das taxas de multiplicação e, conseqüentemente, a produtividade (SOTIROPOULOS; DIMASSI, 2004; SOTIROPOULOS et al., 2006; PÉREZ-TORNERO et al., 2009).

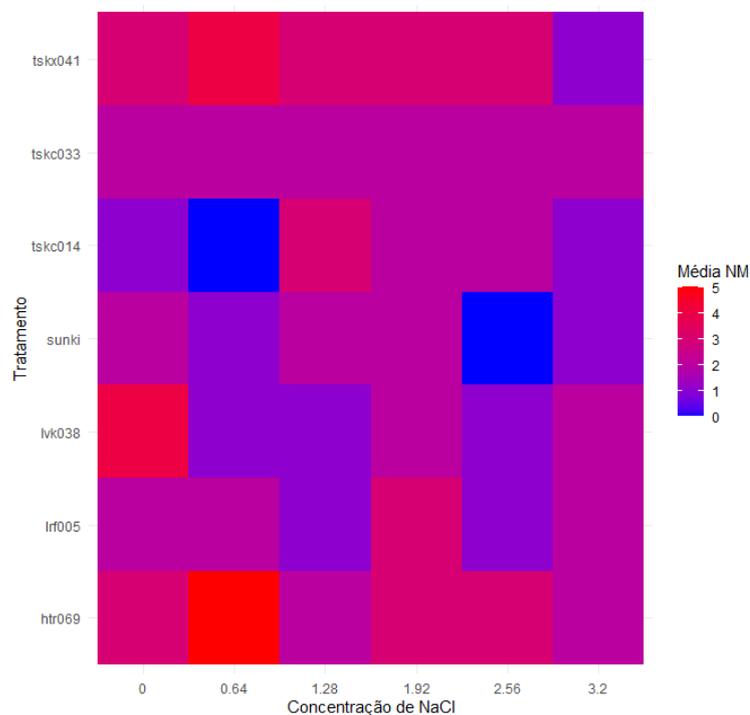


Figura 10. Heatmap para o número de miniestacas (NM) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Na Figura 11 é evidenciado que o número de miniestacas (NM) sofre menos impacto negativo com o aumento da salinidade, refletindo na capacidade de reprodução vegetativa. O híbrido TSKC x CTSW - 033 apresentou menor variação no NM, reduzindo o valor médio dessa característica a partir da concentração de 2,56 g

L⁻¹ de NaCl. Esses resultados sugerem que a capacidade de propagação vegetativa das plantas é mantida, e até favorecida, até determinados níveis de salinidade, impactando, positivamente, na capacidade de regeneração e estabelecimento das plantas.

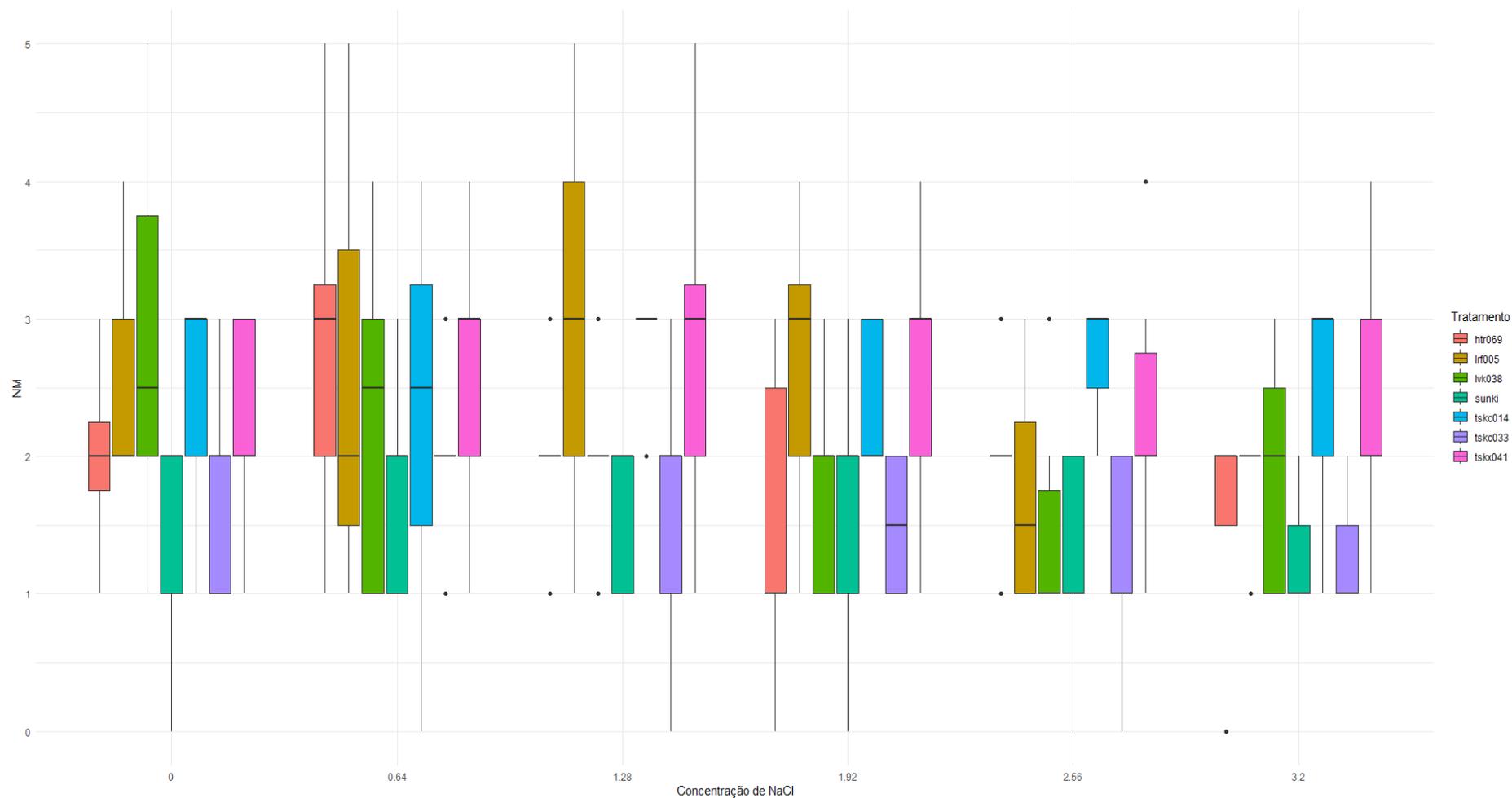


Figura 11. Blox-plot para o número de miniestacas (NM) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Para o número de raízes, de acordo com a Figura 12, o genótipo TSKC x CTQT1439 - 014 apresentou o menor valor médio na ausência do NaCl e na concentração de 3,20 g L⁻¹, enquanto nos demais genótipos pelo menos uma raiz foi formada, independente da concentração do NaCl, inferindo que a adição do mesmo não afetou o desenvolvimento dessa variável.

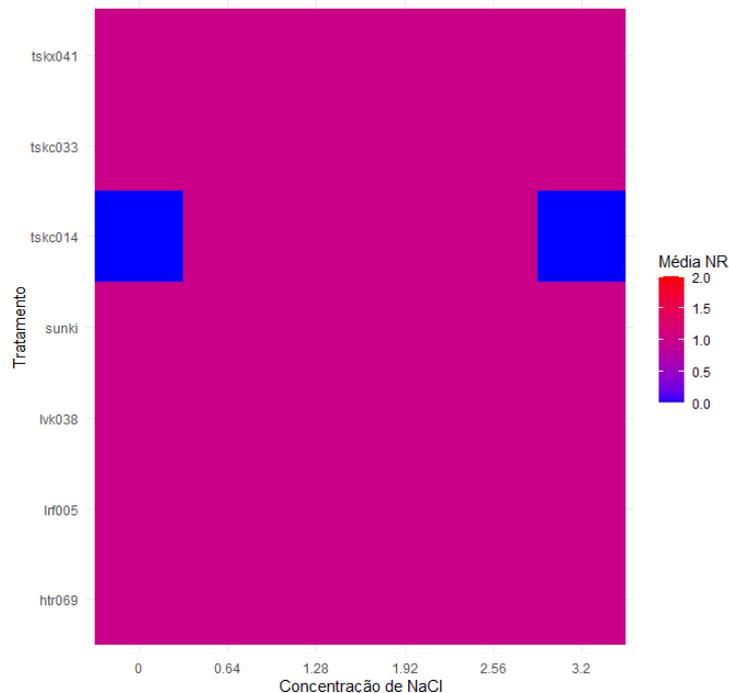


Figura 12. Heatmap para o número de raízes (NR) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumele ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Conforme mostrado na Figura 13, o número de raízes apresenta pouca variação com o aumento da concentração de NaCl. Apenas o TSKC x CTQT1439 – 014 apresenta variação, com menos de uma raiz na maior concentração de NaCl. Esses dados sugerem que, apesar da salinidade ser um fator que pode afetar negativamente o desenvolvimento radicular, nesse estudo os resultados obtidos foram semelhantes ao da ausência do agente salino. Apesar das sementes apresentarem o tecido reserva contribuindo para serem mais tolerantes ao sal, esses resultados alinham-se aos Verde et al. (2024) que com miniestacas observaram que a adição do sal gerou menos impacto no desenvolvimento das raízes em comparação ao controle e as demais variáveis.

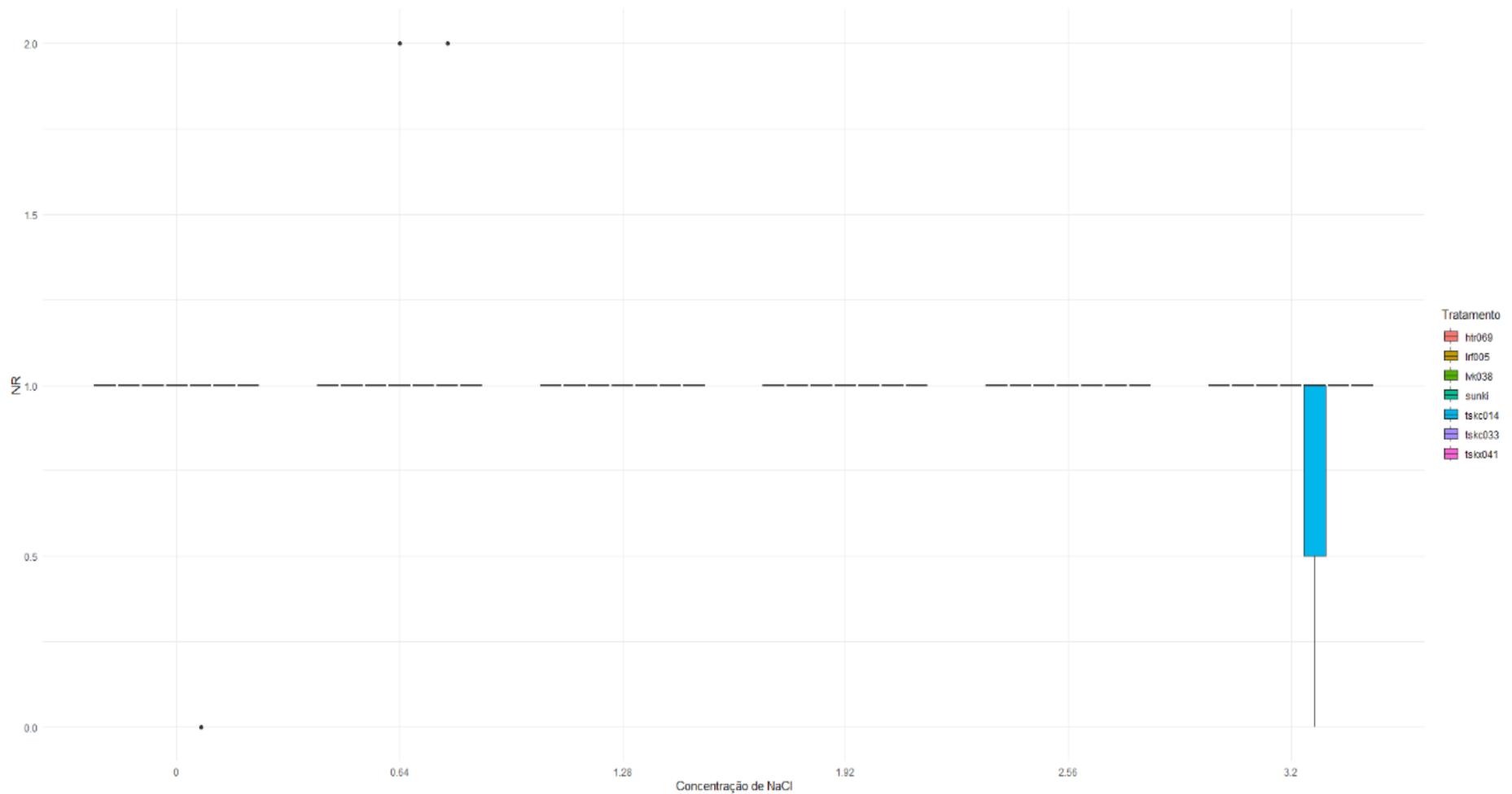


Figura 13. Blox-plot para o número de raízes (NR) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Para o comprimento da maior raiz conforme a Figura 14, observa-se que o TSKC x CTQT1439 - 014 apresentou menor média quando compara-se aos outros genótipos na ausência de sal. Contudo, houve um aumento considerável dessa variável com a adição do NaCl no LRF x (LCR x TR) – 005. No LVK x LCR - 038 e TSKC x CTSW – 033 houve uma pequena redução do comprimento da maior raiz com a presença do cloreto de sódio.

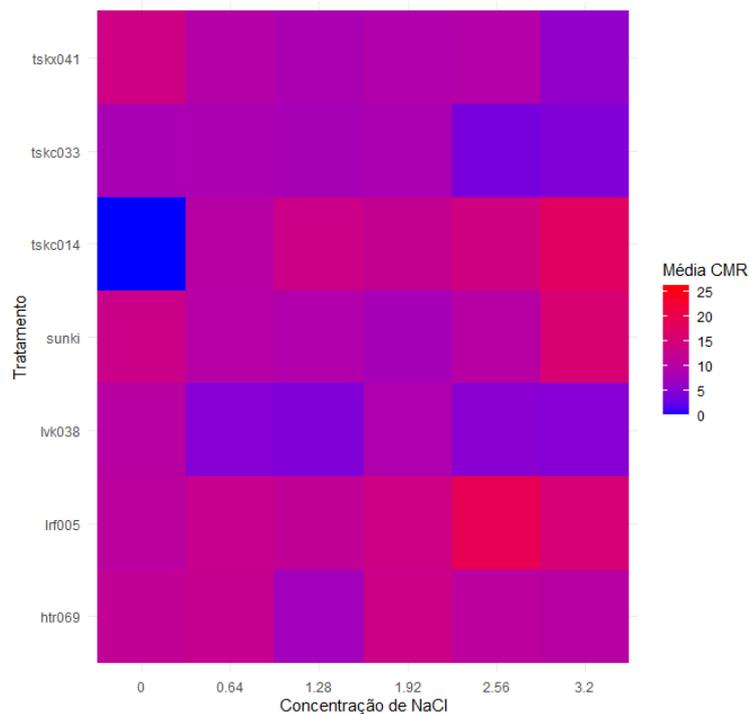


Figura 14. Heatmap para o comprimento da maior raiz (CMR) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Na Figura 15 se nota que o comprimento da maior raiz é favorecido pela adição do NaCl, indicando um bom desenvolvimento radicular, mesmo nas concentrações mais elevadas. O genótipo TSKC x CTSW-041 conseguiu manter o comprimento da raiz até cerca de 10 cm mesmo com 3,20 g L⁻¹ de NaCl. Em contrapartida, o indivíduo LVK x LCR - 038 apresentou uma redução significativa a partir da concentração de 1,92 g L⁻¹. Esses resultados sugerem que o aumento da salinidade pode favorecer o desenvolvimento das raízes, possibilitando a absorção de água e nutrientes essenciais para o crescimento da planta, ocorrendo apenas pequenas variações

quanto a resposta dos genótipos, algo comum nas espécies de citros, decorrente de das características genéticas de cada porta-enxerto, que como cita Schinor et al. (2011) é fortemente relevante nas respostas obtidas in vitro. Corroborando com esta afirmação, no estudo do efetuado por Sharma et al. (2013), o comprimento da raiz teve aumento proporcional a elevação da concentração de sal no meio, sendo positivamente correlacionado.

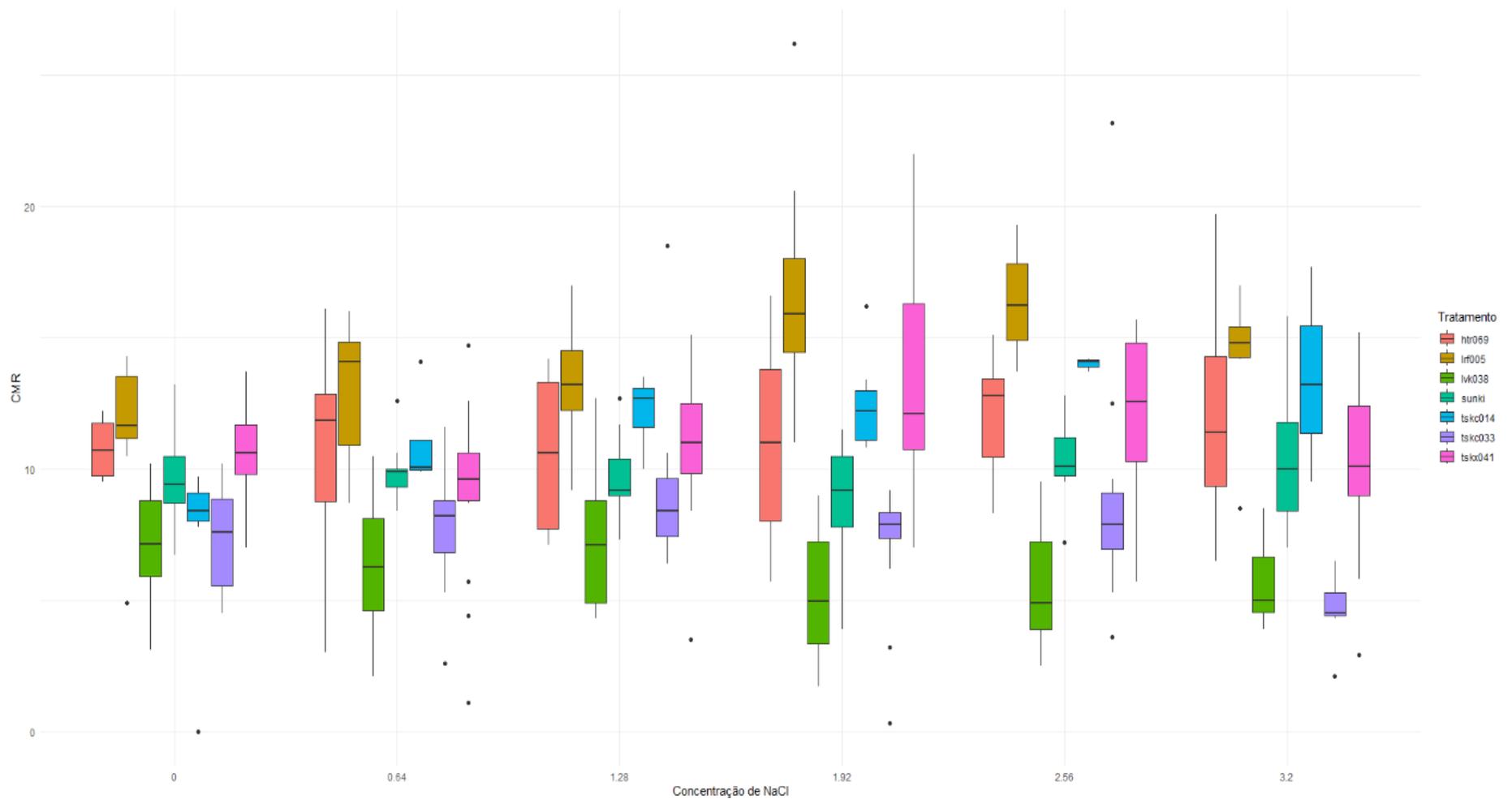


Figura 15. Blox-plot para o comprimento da maior raiz (CMR) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Os genótipos (LCR x TR) – 005 e TSKC x CTQT1439 - 014 apresentaram os menores valores de massa fresca de parte área, enquanto o LVK x LCR - 038 possui a maior média na ausência do NaCl, seguido da concentração de 1,92 g L⁻¹ (Figura 16). Resultados estes que se alinham a classificação da tolerância salinidade estabelecida na Tabela 1, que classifica o LVK x LCR – 038 como tolerante. Brito et al. (2015) cita que um dos mecanismos de tolerância à salinidade é exclusão de íons tóxicos durante a absorção de nutrientes, resultando em maior acúmulo de sais no substrato. A característica massa seca da parte área exibe um comportamento semelhante à massa fresca de parte área.

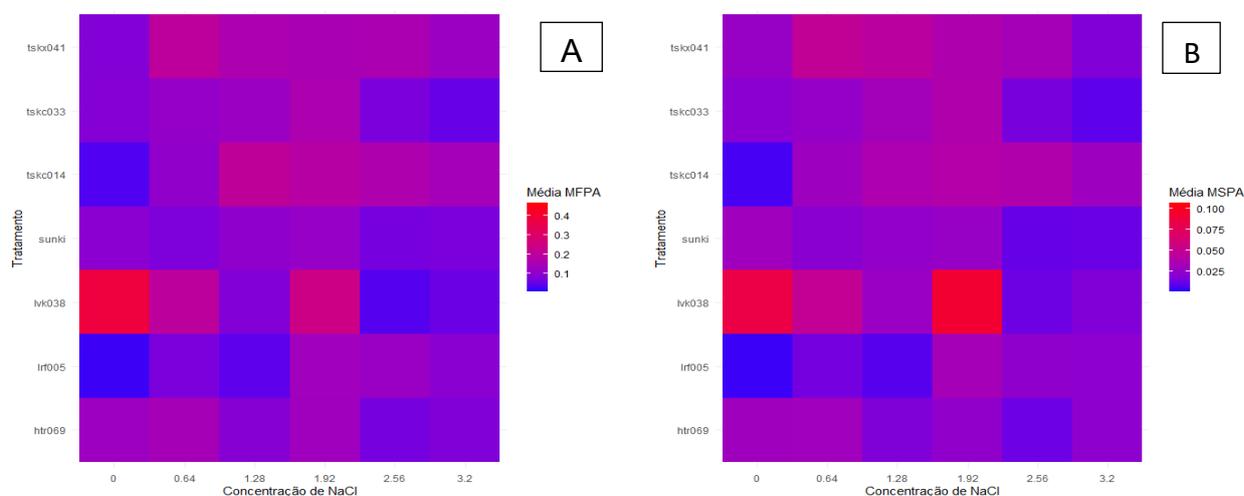


Figura 16. Heatmap para a massa fresca de parte aérea (MFPA) (A) e massa seca de parte aérea (MSPA) (B), dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

A Figura 17 revela que a massa da matéria fresca da parte aérea nos genótipos avaliados diminuiu consideravelmente a partir da concentração de 1,92 g L⁻¹ de NaCl, principalmente no LVK x LCR – 038, indicando que o crescimento da parte aérea em termos de massa fresca é negativamente afetado pelo estresse salino. A diminuição da massa fresca de parte área interfere na capacidade de produção de biomassa fresca, o que pode comprometer o desenvolvimento geral das plantas. Nesse sentido, Akilan et al. (1997) afirmam que a redução da massa da planta na presença do NaCl, deve-se ao seu efeito osmótico que impede o crescimento da planta e reduz sua produção.

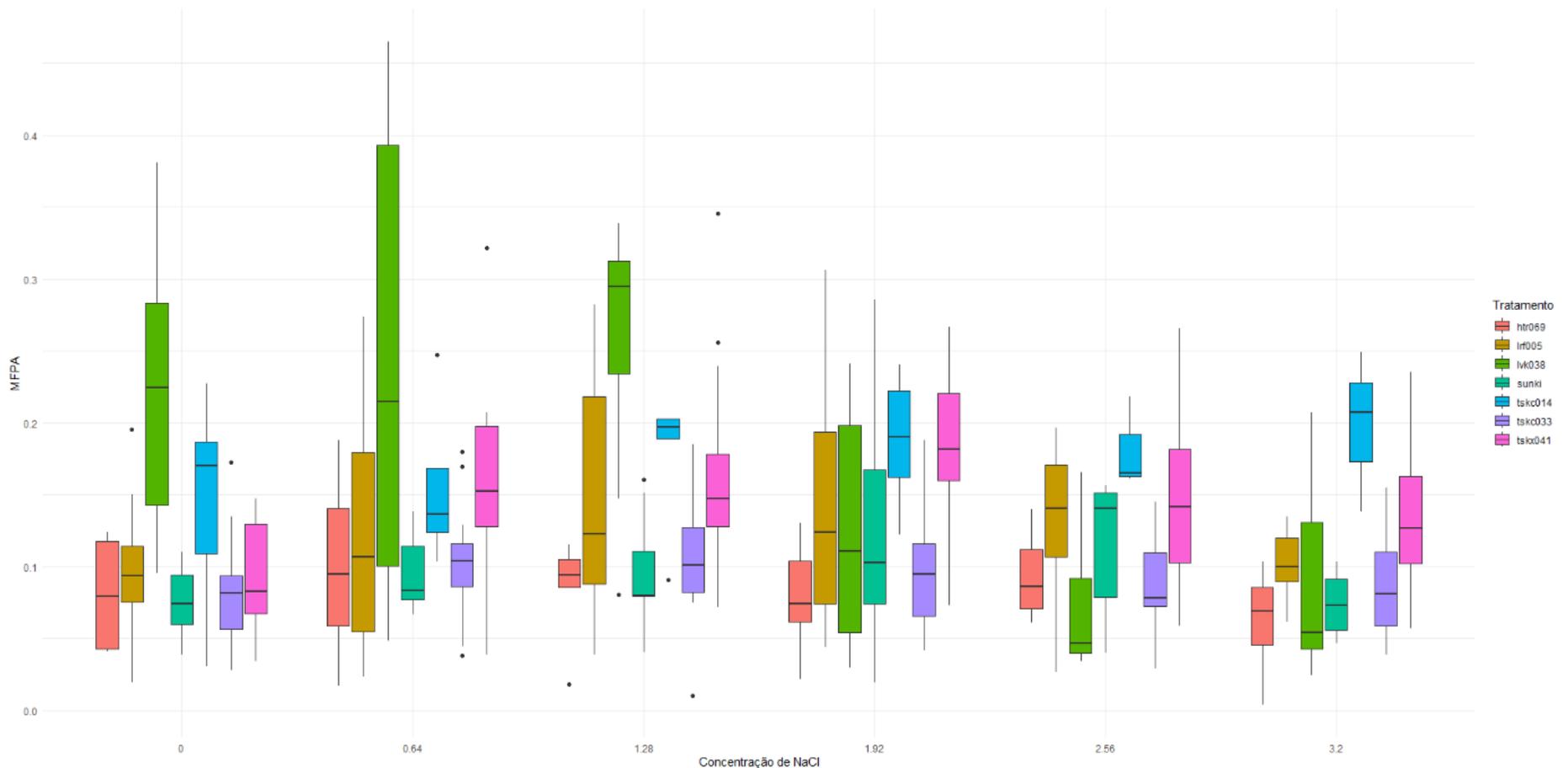


Figura 17. Blox-plot para a massa da matéria fresca da parte aérea (MFPA) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

A massa da matéria seca da parte aérea segue uma tendência semelhante à do peso da matéria fresca (Figura 18). No entanto, alguns genótipos, como TSKC x CTQT1439 – 014 e o TSKC x CTSW - 041 apresentam menos variações na média, com a adição do NaCl. Isso sugere que, apesar da redução na produção de biomassa fresca, ocorrer em alguns genótipos, a acumulação de biomassa seca pode ser menos impactada em outros.

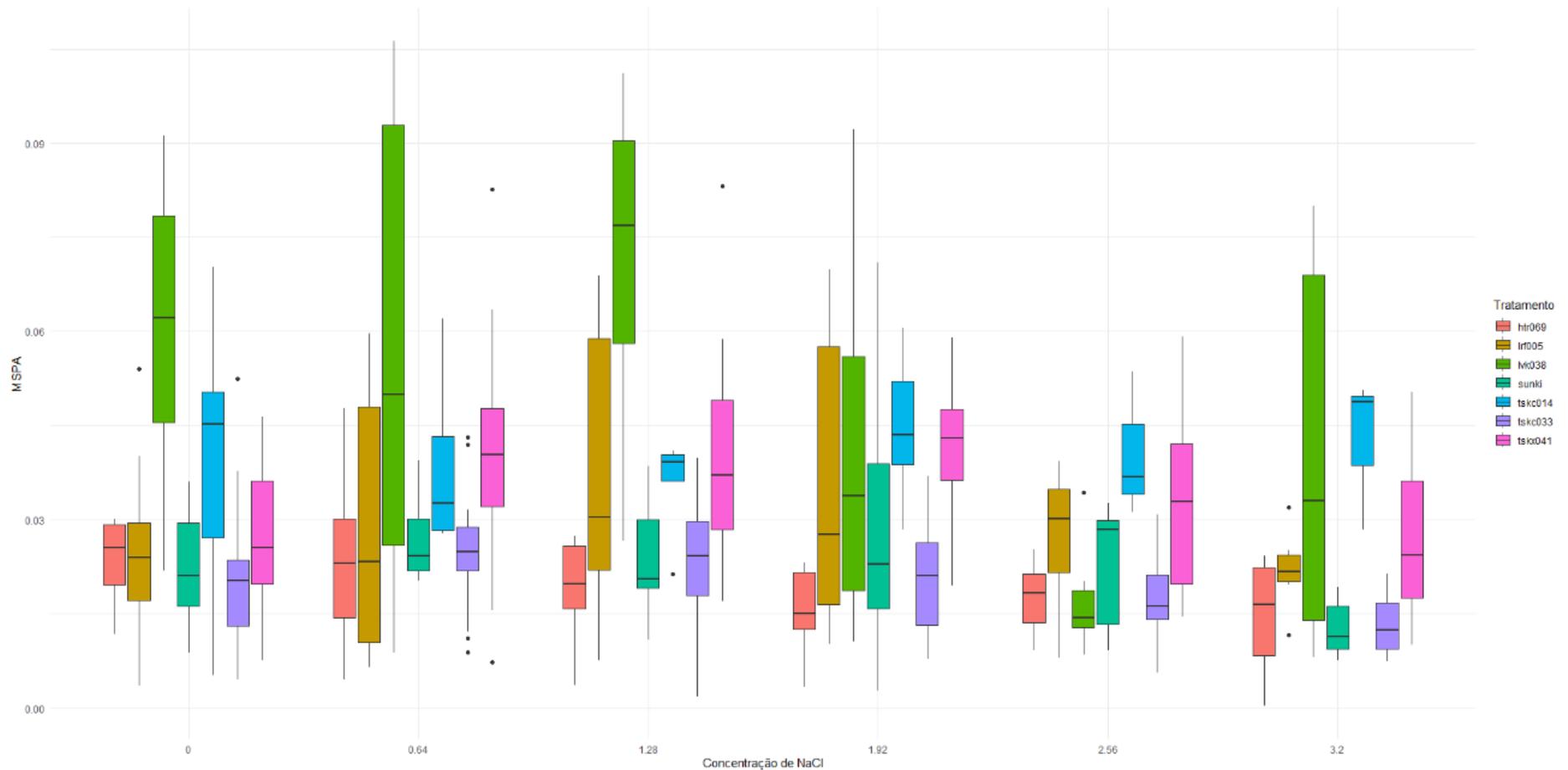


Figura 18. Blox-plot para a massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranjeira ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Para a massa fresca de raízes, o TSKC x CTQT1439 – 014 e o LRF x (LCR x TR) – 005 apresentaram os menores valores na ausência de NaCl, como também se observa para a característica massa seca de raízes (Figura 19). Para esses genótipos, LRF x (LCR x TR) – 005 e o TSKC x CTQT1439 – 014, houve aumento da massa fresca e seca de raízes com a adição de NaCl. No entanto, para TSKC x CTSW – 041, TSKC x CTSW – 033 e LVK x LCR – 038, a presença do sal nas concentrações de 2,56 g L⁻¹ e 3,20 g L⁻¹ reduziu consideravelmente a média das massas fresca e seca de raízes.

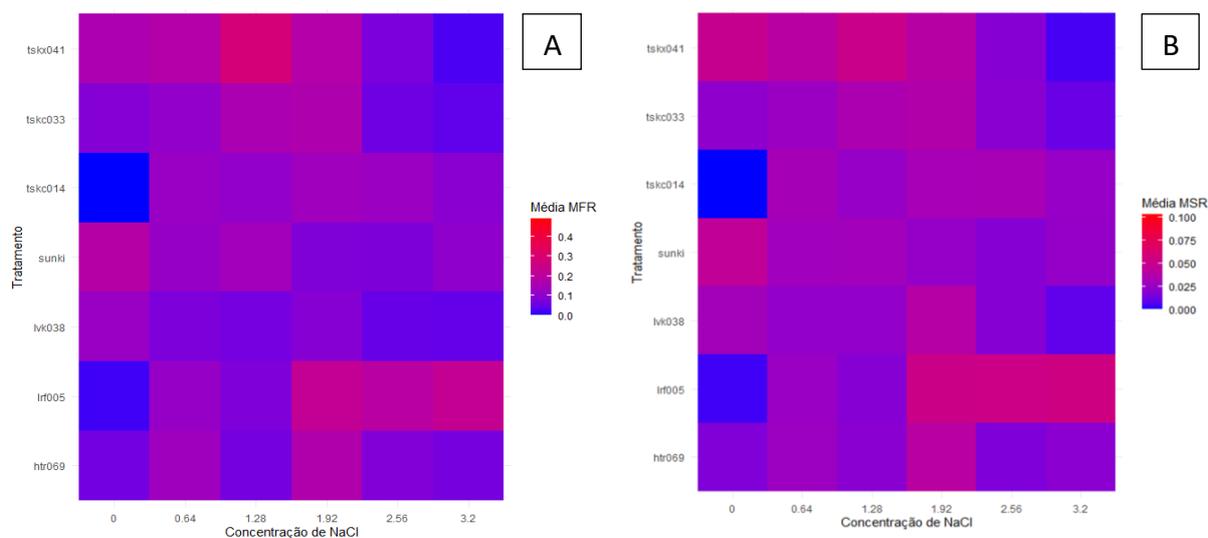


Figura 19. Heatmap para a massa fresca de raízes (MFR) (A) e massa seca de raízes (MSR) (B), dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Na Figura 20 destaca-se os dados de massa fresca das raízes, onde se nota variação significativa entre os híbridos e com o aumento da concentração de NaCl. Por exemplo, o genótipo LVK x LCR - 038 mostra uma redução na MFR em concentrações mais altas de NaCl, como nas concentrações de 2,56 g L⁻¹ e 3,20 g L⁻¹, enquanto no LRF x (LCR x TR) – 005 o aumento na concentração de NaCl foi favorável para incrementar a média dessa característica. A variabilidade entre os híbridos indica que alguns são mais resilientes ao estresse salino em termos de produção de biomassa radicular fresca, possivelmente devido a adaptações no desenvolvimento radicular que ajudam a mitigar os efeitos adversos da salinidade.

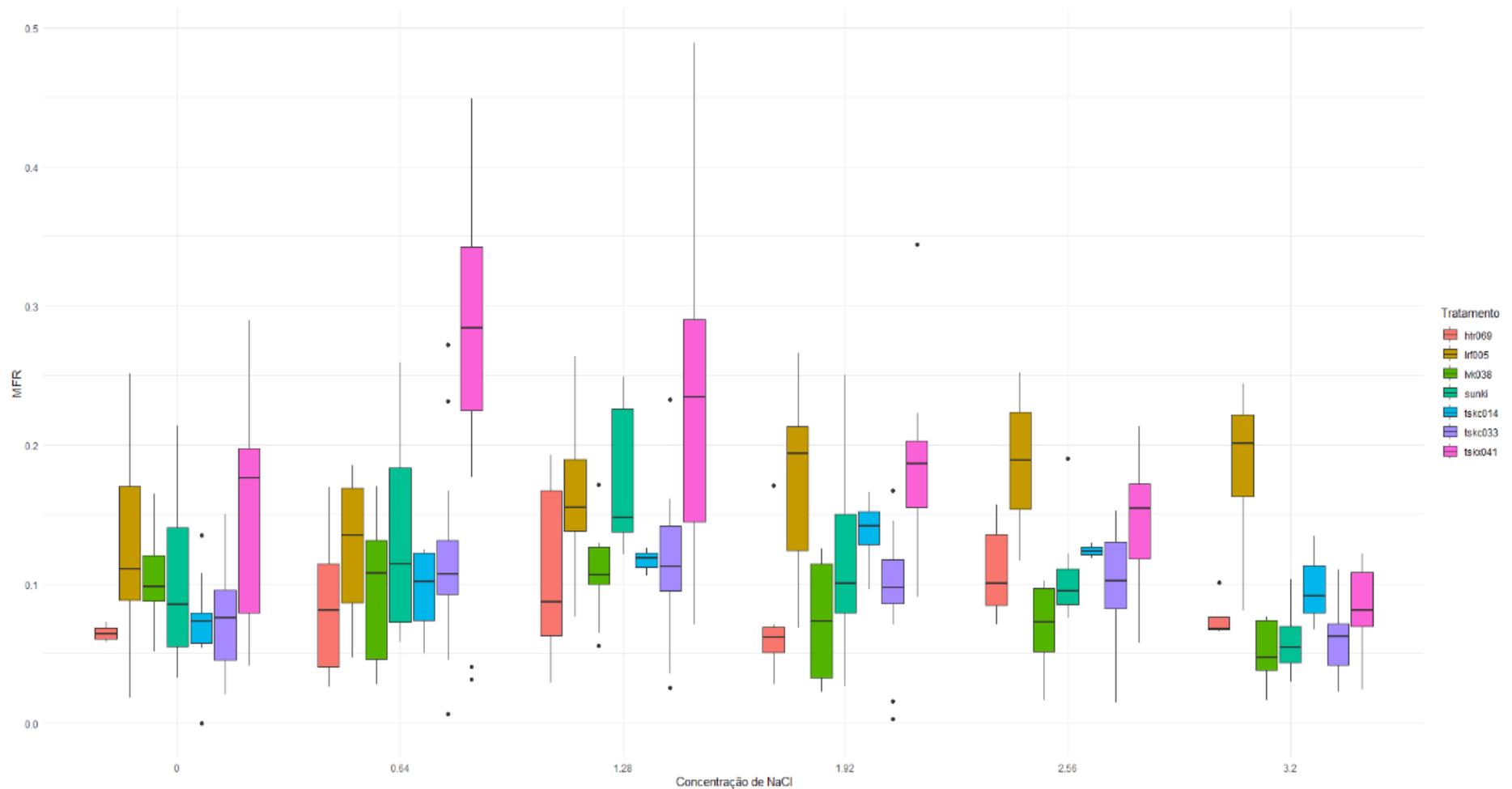


Figura 20. Blox-plot para a massa da matéria fresca de raiz (MFR) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranjeira ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

A massa seca das raízes dos genótipos avaliados diminuiu consideravelmente nas concentrações mais elevadas de NaCl ($2,56 \text{ g L}^{-1}$ e $3,20 \text{ g L}^{-1}$), mas alguns indivíduos, como o LRF x (LCR x TR) – 005, mantêm uma massa seca relativamente alta até as concentrações mais elevadas de sal (Figura 21). A redução do peso seco das raízes nas concentrações mais elevadas de NaCl sugere que a capacidade de armazenamento de biomassa nas raízes é comprometida sob estresse salino. No entanto, no LRF x (LCR x TR) – 005, fica evidente a existência de mecanismos de adaptação que mitigam os efeitos negativos da salinidade no armazenamento de biomassa seca nas raízes.

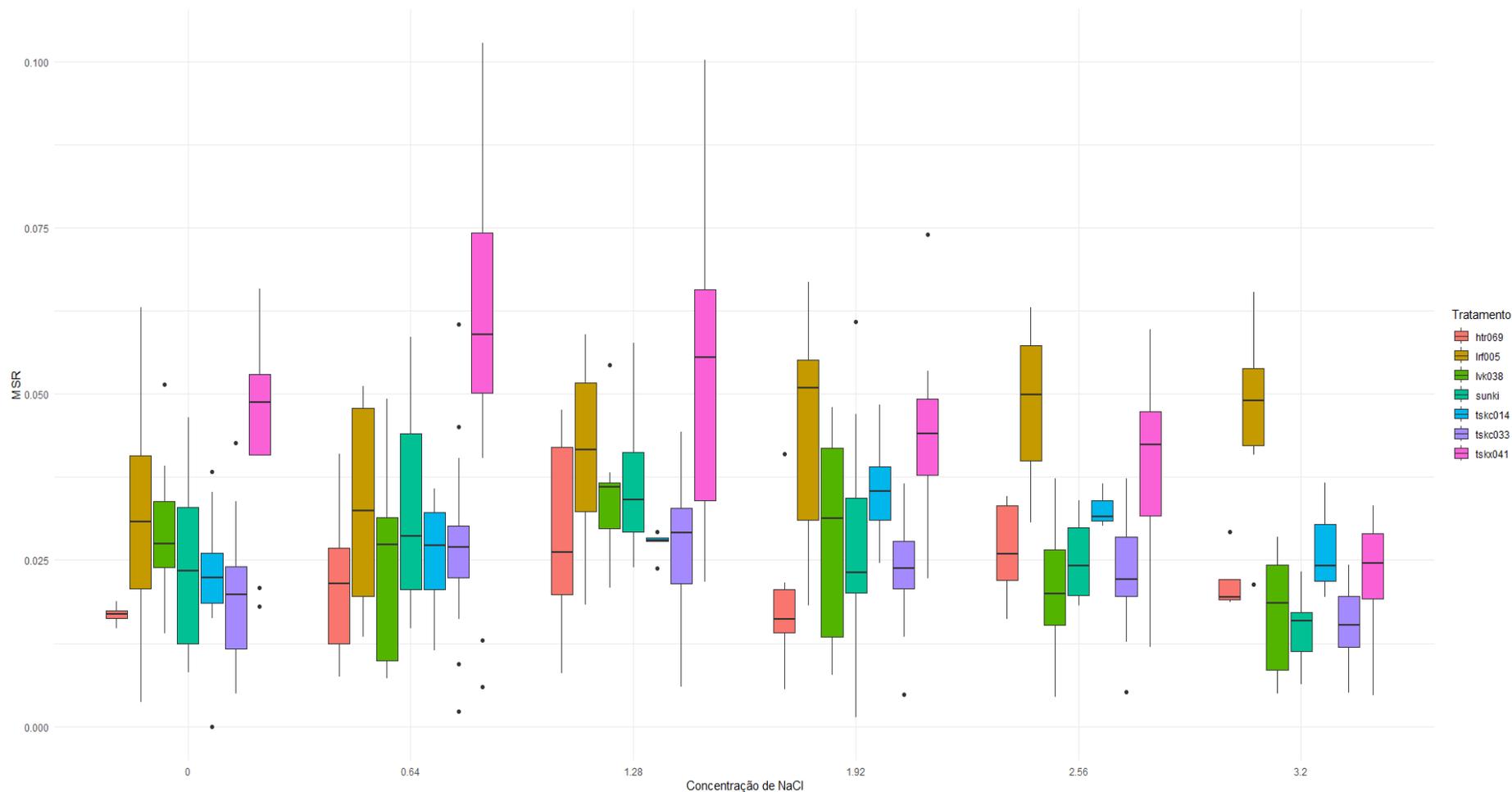


Figura 21. Blox-plot para a massa da matéria seca de raiz (MSR) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tsx041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005) e HTR – 069 (htr069), submetidos a diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) em meio WPM durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LCR: limoeiro ‘Cravo’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; TR: *P. trifoliata*; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Embora todos os genótipos mostrem algum nível de sensibilidade à salinidade, como é o caso da Suniki Tropical, algo que difere do resultado observado no TSKC x CTSW - 041 que possui maior tolerância (Figura 22), a extensão dessa sensibilidade varia significativamente entre esse, o que indica diferentes capacidades de tolerância ao estresse salino, segundo Alam et al. (2021) essa variação na resposta entre os porta-enxertos acontece em razão da sua variação na capacidade interna de lidar com salinidade elevada. Estes resultados são fundamentais para a seleção de indivíduos mais tolerantes à salinidade, visando otimizar a produção agrícola em áreas sujeitas à salinidade.



Figura 22. Plantas do genótipo TSKC¹ x CTSW² - 041 (BRS Cunha Sobrinho) (A) que demonstraram maior tolerância à salinidade. e BRS Suniki Tropical³ (B) que demonstrou sensibilidade ao sal, submetidas a concentrações de NaCl de 0 g L⁻¹, 0,64 g L⁻¹, 1,28 g L⁻¹, 1,92 g L⁻¹, 2,56 g L⁻¹, 3,20 g L⁻¹, respectivamente, da esquerda para direita, obtidas a partir da germinação de sementes. Foto: Adriele Nascimento Santana, 2023.

Legenda:¹TSKC: tangerineira Suniki' comum [*Citrus sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka].

²CTSW: citrumelo 'Swingle' [*C. xparadisi* Macfad. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.].

³*C. sunki*.

4. CONCLUSÕES

Para otimizar a germinação em ambientes salinos, é essencial considerar não apenas a concentração de NaCl, mas também a viabilidade das sementes de diferentes genótipos.

Dentre as concentrações de NaCl estudadas, nenhuma se mostrou prejudicial ao desenvolvimento *in vitro* das plantas. No entanto, médias satisfatórias das variáveis estudadas foram alcançadas até a concentração de 1,92 g L⁻¹. Sendo que o genótipo TSKC x CTSW – 041 (BRS Cunha Sobrinho) mostrou-se mais tolerante, o LRF x (LCR x TR) – 005 (BRS N Gimenes Fernandes), LVK x LCR – 038 (BRS Ary S), HTR – 069 moderadamente tolerantes, enquanto, a Sunki, TSKC x CTQT1439 – 014 (BRS L Navarro) e o TSKC x CTSW – 033 foram os mais sensíveis.

Os genótipos mostraram comportamentos distintos em relação à tolerância à salinidade, não seguindo integralmente a classificação estabelecida na literatura. Isso ressalta a necessidade de novos estudos que alinhem as condições de campo às condições *in vitro*, a fim de otimizar a seleção dos genótipos quanto à tolerância à salinidade, entretanto com esse estudo pode-se observar que é possível realizar uma pré-seleção da classificação quanto a tolerância a salinidade de genótipos de citros das plântulas desenvolvidas *in vitro*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAM, A.; ULLAH, H.; ATTIA, A.; DATTA, A. Effects of salinity stress on growth, mineral nutrient accumulation and biochemical parameters of seedlings of three citrus rootstocks. **International Journal of Fruit Science**, v. 20, n. 4, p. 786-804, 2020.
- ALLISON, L. E. Salinity in relation to irrigation. **Advances in Agronomy**, v. 16, p. 139-180, 1964.
- AKILAN, K.; FARRELL, R. C. C.; BELL, D. T.; MARSHALL, J. K. Responses of clonal river red gum (*Eucalyptus camaldulensis*) to waterlogging by fresh and salt water. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 37, n. 2, p. 243-248, 1997.
- BARROS, M.F.C.; FONTES, M.P.F.; ALVAREZ, V.H.; RUIZ, H.A. Recuperação de solos afetados por sais pela aplicação de gesso de jazida e calcário no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.8, n.1, p.59-64, 2004.
- BASTOS, D. C.; FERREIRA, E. A.; PASSOS, O. S.; SÁ, J. F.; ATAÍDE, E. M.; CALGARO, M. **Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira**. Embrapa Semiárido Artigo em periódico indexado (ALICE), v.35, n.281, p.36-45, 2014. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1007492/1/Debora214.pdf>. Acesso em: 28 de out. 2023.
- BOHNERT, H. J.; NELSON, D. E.; JENSEN, R. G. Adaptations to environmental stresses. **The plant cell**, v. 7, n. 7, p. 1099, 1995.
- BOX, G. E. P; COX, David R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology**, v. 26, n. 2, p. 211-252, 1964.
- BRITO, M. E. B.; SILVA, E. D.; FERNANDES, P. D.; SOARES FILHO, W. D. S.; COELHO FILHO, M. A.; SILVA SÁ, F. D.; BARBOSA, R. C. A. Salt balance in substrate and growth of 'Tahiti' acid lime grafted onto Sunki mandarin hybrids under salinity stress. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 10, 954-961, 2015.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal:FUNEP, p. 588, 2000.
- DE CARVALHO, D. U.; BOAKYE, D. A.; GAST, T.; LEITE JUNIOR, R. P.; ALFEREZ, F. Determining seed viability during fruit maturation to improve seed production and availability of new citrus rootstocks. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 777078, 2021.
- FAGERIA, N. K.; GHEYI, H. R. Melhoramento genético das culturas e seleção de cultivares. **Manejo e controle da salinidade na agricultura. Campina Grande: UFPB/SBEA**, p. 363-383, 1997.

FAO; ITPS. Status of the World's Soil Resources (SWSR) - Main report. Rome: **Food and Agriculture Organization of the United Nations and Intergovernmental Technical Panel on Soils**, p. 607, 2015.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes. pt: pacote experimental designs (português). **R package version**, v. 1, n. 2, 2021.

HEINZE, B. C. L. B. Importância da agricultura irrigada para o desenvolvimento da Região Nordeste do Brasil. **Monografia apresentada ao curso MBA em Gestão Sustentável da Agricultura Irrigada da ECOBUSINESS SCHOOL/FGV**. p.70, 2002.

KAHIME, K.; BEN SALEM, A.; EL HIDAN, A.; MESSOULI, M.; CHAKHCHAR, A. Vulnerability and adaptation strategies to climate change on water resources and agriculture in Morocco: focus on Marrakech-Tansifet-Al Haouz region. **International Journal of Agriculture and Environmental Research**, v. 4, p. 58-77, 2018.

LIMA, M. G. S.; LOPES, N.F.; MORAES, D.M.; ABREU, C.M. Qualidade fisiológica de sementes de arroz submetidas a estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.1, p.54-61, 2005.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **Horticultural Science**, v. 15, n. 3, p. 416-417, 1980.

MENDES, M. I. de S.; VERDE, D. D. S. V.; PINTO, C.R.; NOBRE, L. V. C.; SOUZA, A. da S.; GESTEIRA, A. da S.; SOARES FILHO, W. dos S. Determination of the best culture medium for establishment, propagation and conservation in vitro of citrus rootstocks. **Concilium**, v. 23, n. 9, p. 439-458, 2023.

PÉREZ-TORNERO, O.; TALLÓN, C. I.; PORRAS, I.; NAVARRO, J. M. Physiological and growth changes in micropropagated *Citrus macrophylla* explants due to salinity. **Journal of plant physiology**, v. 166, n. 17, p. 1923-1933, 2009.

R CORE TEAM R: **A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2024.

RIBEIRO, M. C. C.; MARQUES, M. B.; AMARO FILHO, J. Efeito da salinidade na germinação de sementes de quatro cultivares de girassol. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p.281-284, 2001.

SANÉ, A. K.; DIALLO, B.; KANE, A.; SAGNA, M.; SANÉ, D.; SY, M. O. In vitro germination and early vegetative growth of five tomato (*Solanum lycopersicum* L.) varieties under salt stress conditions. **American Journal of Plant Sciences**, v. 12, n. 5, p. 796-817, 2021.

SHARMA, L. K.; KAUSHAL, M.; BALI, S. K.; CHOUDHARY, O. P. Evaluation of rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush.) as rootstock for salinity tolerance at seedling stage under in vitro conditions. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 44, p. 6267-6275, 2013.

SCHINOR, E. H.; AZEVEDO, F. A. D.; MOURÃO FILHO, F. D. A. A.; MENDES, B. M. J. In vitro organogenesis in some Citrus species. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 526-531, 2011.

SHRIVASTAVA, P; KUMAR, R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi journal of biological sciences**, v. 22, n. 2, p. 123-131, 2015.

SEPEHRTAJ, A.; SHAHSAVAR, A. R. Uniform and virus-free citrus rootstocks production via nucellus culture. **Advances in Horticultural Science**, v. 31, n. 3, p. 175-182, 2017.

SIDHU, G. S.; MOHANPURIA, P.; GAIKWAD, P. N.; KAUR, G.; KAUR, H. Polyembryony: A Potential Horticultural Trait, Reveals Complex Mechanism, Role of Molecular Markers and their Application in Fruit Crops. **The Botanical Review**, p. 1-33, 2024.

SOTIROPOULOS, T. E.; DIMASSI, K. N. Response to increasing rates of boron and NaCl on shoot proliferation and chemical composition of in vitro kiwifruit shoot cultures. **Plant cell, tissue and organ culture**, v. 79, p. 285-289, 2004.

SOTIROPOULOS, T. E.; DIMASSI, K. N.; TSIRAKOGLU, V.; THERIOS, I. N. Responses of two Prunus rootstocks to KCl induced salinity in vitro. **Biologia Plantarum**, v. 50, p. 477-480, 2006.

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. (Eds.). **Cultura dos citros**. Brasília: Embrapa, v. 1, p. 61-102, 2013.

VENABLES, W.N.; RIPLEY, B.D. **Modern Applied Statistics with S**. Fourth Edition. Springer, New York. 2002.

VERDE, D. S. V.; MENDES, M. I. D. S.; NOBRE, L. V. D. C.; SOUZA, A. D. S.; dos SANTOS, K. C. F.; SOARES FILHO, W. D. S. In vitro tolerance of citrus rootstocks under saline stress. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 156, n. 1, p. 13, 2024.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag New York, 2016.

CAPÍTULO II

DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA PRÉ-SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE CITROS TOLERANTES À SALINIDADE MEDIANTE CULTIVO IN VITRO DE MINIESTACAS

DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA PRÉ-SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE CITROS TOLERANTES À SALINIDADE MEDIANTE CULTIVO IN VITRO DE MINIESTACAS

RESUMO: A salinidade do solo é um dos principais desafios enfrentados pela agricultura moderna, afetando, negativamente, o crescimento e a produtividade das culturas agrícolas. Entre as plantas frutíferas, os citros destacam-se pela sua importância econômica e nutricional, sendo amplamente cultivados em diversas regiões do mundo. No entanto, a sensibilidade dessas plantas à salinidade pode comprometer, significativamente, sua produção, neste contexto, a seleção in vitro de genótipos tolerantes à salinidade emerge como uma estratégia promissora para o desenvolvimento de plantas passíveis de serem cultivadas em tais condições. Assim, objetivou-se avaliar os efeitos da salinidade no crescimento e no desenvolvimento de híbridos de citros, por meio do cultivo in vitro de miniestacas em meio de cultura com diferentes níveis de cloreto de sódio. O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos do Núcleo de Biologia Avançada da Embrapa Mandioca e Fruticultura, empregando dez genótipos contrastantes de porta-enxertos previamente conhecidos: BRS Stuchi, BRS N Gimenes Fernandes, BRS Cunha Sobrinho, BRS L Navarro, BRS Ary S, HTR - 069, TSKC x CTSW - 033, TSKC x (LCR x TR) - 029, citrandarin 'Índio' e 'Sunki Tropical'. O meio de cultura utilizado foi o WPM, ao qual foram adicionados, em sete níveis, cloreto de sódio (salinidade) no meio de cultura WPM (0,0 g L⁻¹, 0,64 g L⁻¹, 1,28 g L⁻¹, 1,92 g L⁻¹, 2,56 g L⁻¹, 3,20 g L⁻¹ e 3,84 g L⁻¹). As variáveis analisadas, após 120 dias, incluíram a altura da parte aérea, o número de folhas verdes e senescentes, o número de miniestacas, o número de raízes, o comprimento da maior raiz, e as massas fresca e seca da parte aérea e das raízes. Para a análise estatística dos dados, foi utilizado o teste F da análise de variância, com aplicação da transformação de Box-Cox quando necessário para algumas variáveis. As análises foram conduzidas utilizando os pacotes ExpDes.pt, MASS e ggplot2 no software R. Os resultados das análises mostraram que os genótipos TSKC x (LCR x TR) - 029 e TSKC x CTSW - 041 possuem maior tolerância ao estresse salino, mantendo médias elevadas e satisfatórias das características avaliadas mesmo em concentrações elevadas de NaCl. Em contraste, genótipos como HTR - 069 e Sunki Tropical demonstraram maior sensibilidade, com reduções significativas em todas as variáveis de crescimento analisadas. A análise evidenciou que a salinidade afeta, negativamente, o crescimento tanto da parte aérea quanto do sistema radicular das plantas. Os genótipos mostraram diferentes tolerâncias à salinidade, não correspondendo aos resultados obtidos em campo, o que indica a necessidade de ajustes na metodologia, mediante alterações do meio de cultura em si e/ou de suas condições externas.

Palavras-chave: *Citrus* spp.; Melhoramento genético; Estresse salino; Viabilidade de explantes.

DEVELOPMENT OF A PROTOCOL FOR PRE-SELECTION OF SALINITY-TOLERANT CITRUS GENOTYPES USING IN VITRO CULTURE OF MINICUTTINGS

ABSTRACT: Soil salinity is one of the main challenges faced by modern agriculture, negatively affecting the growth and productivity of agricultural crops. Among fruit plants, citrus stands out for its economic and nutritional importance, being widely cultivated in several regions of the world. However, the sensitivity of these plants to salinity can significantly compromise their production. In this context, in vitro selection of salinity-tolerant genotypes emerges as a promising strategy for the development of plants capable of being cultivated under such conditions. Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of salinity on the growth and development of citrus hybrids, through in vitro cultivation of minicuttings in culture medium with different levels of sodium chloride. The experiment was carried out at the Tissue Culture Laboratory of the Advanced Biology Center of Embrapa Cassava and Fruits, using ten contrasting genotypes of previously known rootstocks: BRS Stuchi, BRS N Gimenes Fernandes, BRS Cunha Sobrinho, BRS L Navarro, BRS Ary S, HTR - 069, TSKC x CTSW - 033, TSKC x (LCR x TR) - 029, citrandarin 'Indio' and 'Sunki Tropical'. The culture medium used was WPM, to which sodium chloride (salinity) was added at seven levels in the WPM culture medium (0.0 g L⁻¹, 0.64 g L⁻¹, 1.28 g L⁻¹, 1.92 g L⁻¹, 2.56 g L⁻¹, 3.20 g L⁻¹ and 3.84 g L⁻¹). The variables analyzed after 120 days included shoot height, number of green and senescent leaves, number of mini-cuttings, number of roots, length of the largest root, and fresh and dry weight of shoots and roots. For statistical analysis of the data, the F test of analysis of variance was used, with application of the Box-Cox transformation when necessary for some variables. The analyses were conducted using the ExpDes.pt, MASS and ggplot2 packages in the R software. The results of the analyses showed that the genotypes TSKC x (LCR x TR) - 029 and TSKC x CTSW - 041 have greater tolerance to saline stress, maintaining high and satisfactory means of the evaluated characteristics even at high NaCl concentrations. In contrast, genotypes such as HTR - 069 and Sunki Tropical demonstrated greater sensitivity, with significant reductions in all growth variables analyzed. The analysis showed that salinity negatively affects the growth of both the aerial part and the root system of the plants. The genotypes showed different tolerances to salinity, which did not correspond to the results obtained in the field, which indicates the need for adjustments in the methodology, through changes in the culture medium itself and/or its external conditions.

Keywords: *Citrus* spp.; Genetic improvement; Saline stress; Explant viability.

1. INTRODUÇÃO

Os citros, que incluem variedades de limões, laranjas e tangerinas, desempenham um papel fundamental na agricultura e economia global, devido à sua produção massiva e importância na indústria de alimentos (FAO, 2021). No entanto, desafios ambientais, como o estresse salino, afetam negativamente a produtividade e a qualidade das frutas cítricas em várias regiões do mundo (AL-YASSIN, 2004).

Na região Nordeste, a produtividade dos citros é impactada por diversos fatores, sendo a limitação hídrica sazonal uma das principais preocupações. O déficit hídrico sazonal requer a irrigação para melhorar o crescimento e a produção das plantas (BRAZ et al., 2009). No entanto, a irrigação deve ser criteriosa, especialmente quando as fontes hídricas apresentam elevadas concentrações de sais, como é comum em poços da região Nordeste (BRITO et al., 2005; ANDRADE JUNIOR et al., 2006).

A identificação de materiais de citros que sejam tolerantes ao estresse salino, desde a fase de propagação vegetativa até a fase de produção, é um desafio crucial. Tradicionalmente, o processo de seleção de plantas que podem crescer em condições adversas é, notavelmente, demorado, envolvendo múltiplos ciclos de crescimento e extensos testes em campo para avaliar a adaptabilidade das variedades porta-enxerto (SOARES FILHO et al., 2016).

Nas condições salinas, as plantas enfrentam diversos efeitos prejudiciais, incluindo a redução do crescimento, do desenvolvimento e da produção, devido a fatores como o menor potencial osmótico do solo, o desbalanceamento nutricional, a elevada concentração de sódio, a inibição da absorção de nutrientes, e os efeitos nocivos do excesso de cloro e sódio (SCHOSSLER et al., 2012; GHEY et al., 2016). Além disso, a salinidade é responsável por reduzir a capacidade fotossintética das plantas devido às limitações estomáticas (GOMES et al., 2011; SILVA et al., 2013),

Nesse contexto, surge a necessidade de se empregar materiais que demonstrem tolerância à salinidade e alta produtividade, visando aprimorar o sistema de cultivo. Pesquisas prévias indicam que alguns materiais, como porta-enxertos, podem apresentar resultados satisfatórios em termos de crescimento e produção de citros (BRITO et al., 2015; BRITO et al., 2017; BRITO et al., 2018). Isso destaca a importância dos programas de melhoramento genético na seleção de porta-enxertos com alta tolerância à salinidade e outras características desejáveis, como a indução

de precocidade na produção, resistência/tolerância a doença e redução do tamanho da copa (RODRIGUES et al., 2016).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos da salinidade sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas, de híbridos de citros mediante o cultivo in vitro de miniestacas em meio com diferentes níveis de cloreto de sódio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DE INSTALAÇÃO EXPERIMENTO

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos, localizado no Núcleo de Biologia Avançada da Embrapa Mandioca e Fruticultura, situado no Município de Cruz das Almas, Bahia.

2.2 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO

Miniestacas mediais (Figura 1), com um comprimento de 1,5 cm, proveniente de plantas mantida em cultivo in vitro no laboratório, foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 12 mL de meio de cultura WPM (Wood Plant Medium) (LLOYD; MCCOWN, 1980), preparado com a adição de 30 g L⁻¹ de sacarose. As seguintes concentrações de NaCl foram incorporadas ao meio de cultura: 0,00 g L⁻¹, 0,64 g L⁻¹, 1,28 g L⁻¹, 1,92 g L⁻¹, 2,56 g L⁻¹, 3,20 g L⁻¹ e 3,84 g L⁻¹, correspondendo a condutividades elétricas de 0,00 dS m⁻¹, 1,09 dS m⁻¹, 2,19 dS m⁻¹, 3,28 dS m⁻¹, 4,37 dS m⁻¹, 5,47 dS m⁻¹ e 6,56 dS m⁻¹, respectivamente. O meio foi solidificado com 2,4 g L⁻¹ de Phytigel® e pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem a 120 °C por 20 minutos. As concentrações de NaCl utilizadas foram definidas com base na literatura, conforme indicado por Maas (1993), que sugere que a produção de frutos cítricos é limitada quando a condutividade elétrica do extrato de saturação excede 1,4 dS m⁻¹. Para investigar a capacidade de tolerância das variedades de porta-enxerto ao estresse salino, foram aplicadas concentrações superiores a esse valor.



Figura 1. Miniestacas mediais inoculadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura WPM com diferentes níveis de salinidade, mantidas em ambiente de cultivo controlado. Foto: Jorge Eduardo Melo, 2023.

O material vegetal utilizado neste estudo foi obtido a partir de plantas mantidas no laboratório e incluiu uma seleção de indivíduos de interesse.

2.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO

O experimento foi conduzido em um ambiente de cultivo controlado, em intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$, temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas. O material vegetal utilizado neste estudo foi obtido a partir de plantas mantidas no laboratório e incluiu uma seleção de indivíduos de interesse.

2.4 GENÓTIPOS SELECIONADOS

Os genótipos escolhidos para a pesquisa foram: HTR - 069, TSKC x (LCR x TR) – 017 (BRS Stuchi), TSKC x (LCR x TR) - 029, TSKC x CTSW – 041 (BRS Cunha Sobrinho), TSKC x CTSW – 033, citrandarin 'Índio', Sunki Tropical, TSKC x CTQT1439 - 014 (BRS L Navarro), LVK x LCR - 038 (BRS Ary S) e LRF x (LCR x TR) – 005 (BRS N Gimenes Fernandes) (Tabela 1).

Tabela 1. Lista dos genótipos de porta-enxertos de citros estudados, classificados quanto à tolerância à salinidade como pés-francos de origem nucelar (plantas obtidas da germinação de sementes em campo), conforme critério descrito por Soares Filho et al. (2016).

Genótipo ¹	Nome científico	Classe ²
Tangerineira 'Sunki Tropical'	<i>Citrus sunki</i> (Hayata) hort. ex Tanaka)	3
Híbrido trifoliolado HTR - 069	<i>C. xsinensis</i> (L.) Osbeck x [<i>C. xsinensis</i> x <i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.]	4
LRF x (LCR x TR) - 005 (BRS N Gimenes Fernandes)	<i>C. xjambhiri</i> Lush. x (<i>C. xlimonia</i> Osbeck x <i>P. trifoliata</i>)	4
LVK x LCR - 038 (BRS Ary S)	<i>C. xvolkameriana</i> V. Ten. & Pasq x <i>C. limonia</i>	4
TSKC x CTQT1439 - 014 (BRS L Navarro)	<i>C. sunki</i> x [(<i>Fortunella margarita</i> Lour. Swingle x (<i>C. xsinensis</i> x <i>P. trifoliata</i>)]	2
TSKC x CTSW - 033	<i>C. sunki</i> x (<i>C. xparadisi</i> Macfad. x <i>P. trifoliata</i>)	1
TSKC x CTSW - 041 (BRS Cunha Sobrinho)	<i>C. sunki</i> x (<i>C. xparadisi</i> . x <i>P. trifoliata</i>)	2
Citrandarin 'Indio'	<i>C. sunki</i> x <i>P. trifoliata</i>	2
TSKC x (LCR x TR) – 029	<i>C. sunki</i> x (<i>C. xsinensis</i> x <i>P. trifoliata</i>)	4
TSKC x (LCR x TR) – 017 (BRS Stuchi)	<i>C. sunki</i> x (<i>C. xlimonia</i> Osbeck x <i>P. trifoliata</i>)	4

Legenda:¹ HTR - 069 laranja 'Pera' x citrange 'Yuma'; LRF: limoeiro 'Rugoso da Flórida'; LCR: limoeiro 'Cravo'; TR: *P. trifoliata*; LVK: limoeiro 'Volkameriano'; TSKC: tangerineira 'Sunki' comum; CTQT: citrangequat 'Thomasville'; CTSW: citrumelo 'Swingle'; citrandarin 'Indio': tangerineira 'Sunki' x *P. trifoliata* 'English'.

² Classificação quanto à tolerância à salinidade, conforme critério descrito por Soares Filho et al. (2016): 1 - Sensível; 2 - Moderadamente sensível; 3 - Moderadamente tolerante; 4 - Tolerante.

Os genótipos TSKC x CTSW – 041 (BRS Cunha Sobrinho), TSKC x CTQT1439 – 014 (BRS L Navarro), LRF x (LCR x TR) – 005 (BRS N Gimenes Fernandes), LVK x LCR – 038 (BRS Ary S), TSKC x (LCR x TR) – 017 (BRS Stuchi) e BRS Sunki Tropical são porta-enxertos desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura (PMG Citros) e já estão registrados no Registro Nacional de Cultivares do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RNC/MAPA). Por outro lado, os porta-enxertos HTR – 069 (BRS Santana), citrandarin 'Indio' e TSKC x CTSW – 033, também selecionados pelo PMG

Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, estão atualmente em fase de inscrição no RNC/MAPA.

2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E VARIÁVEIS ANALISADAS

O experimento foi instalado em um delineamento experimental inteiramente casualizado em um esquema fatorial composto por 10 genótipos e 7 níveis de salinidade, com 15 repetições, por tratamento. A parcela experimental foi constituída por um tubo de ensaio contendo uma miniestaca.

As variáveis avaliadas, após 120 dias de cultivo, foram: altura de parte aérea (APA, cm), os números de folhas verdes (NFV) e senescentes (NFS), o número de miniestacas (NM), o número de raízes (NR), o comprimento da maior raiz (cm) e massas das matérias fresca (MFPA, em mg) e seca (MSPA, em mg) de parte aérea, massa da matéria fresca (MFR, em mg) e seca (MSR, em mg) de raízes.

2.6 ANÁLISE DOS DADOS

Foi realizado o teste F da análise de variância considerando o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 7 x 10, sete níveis de NaCl e 10 genótipos de citros. Para as variáveis, APA, CMR, MFPA, MSPA, MFR e MSR, foi utilizado a transformação de Box-Cox (BOX; COX, 1964) visando atender às pressuposições da análise de variância. A análise de variância foi realizada utilizando-se o pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2021) e as transformações de Box-Cox foram aplicadas com o pacote MASS (VENABLES; RIPLEY, 2002), ambos do programa estatístico R (R CORE TEAM, 2024).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo do efeito de diferentes concentrações de NaCl sob os distintos genótipos revelou, por meio da análise de variância, efeito significativo da interação entre os fatores (Tabela 1). Com isso, pode-se inferir que as respostas dos genótipos variam conforme a adição do NaCl, sendo assim, a influência de uma concentração específica de sal não é uniformemente aplicável a todos os genótipos. Essa interação implica que o grau de tolerância ou sensibilidade exibido pelos genótipos em relação

à salinidade depende da concentração de NaCl avaliada, e dos genótipos estudados, não existindo uma resolução singular aplicável a todos. No entanto, devido à estabilidade das médias, número de raízes e miniestacas não foram submetidas à análise, visto que não houve variação notável entre as concentrações de NaCl e os genótipos em relação a essas variáveis. Isso indica que, dentro dos limites dos parâmetros experimentais, essas variáveis não sofreram influência gerada pelo estresse salino induzido pelas distintas concentrações de NaCl.

Tabela 1. Resumo da análise de variância para as variáveis de crescimento, número de folhas verdes (NFV), altura de parte aérea (APA), comprimento da maior raiz (CMR), massas das matérias fresca (MFPA) e seca (MSPA) de parte aérea, massas da matéria fresca (MFR) e seca (MSR) de raízes, dos genótipos HTR - 069, TSKC x (LCR x TR) - 017, TSKC x (LCR x TR) - 029, TSKC x CTSW - 041, TSKC x CTSW - 033, citrandarin 'Indio', Sunki Tropical, TSKC x CTQT1439 - 014, LVK x LCR - 038 e LRF x (LCR x TR) - 005, oriundos de miniestacas cultivadas em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

FV	GL	QM						
		NFV	APA ¹	CMR ¹	MFPA ¹	MSPA ¹	MFR ¹	MSR ¹
NaCl	6	385,58**	1,21**	10,51**	0,14*	0,03*	2,53**	1,20**
Genótipo	9	288,84**	2,04**	23,63**	05,18**	0,72**	6,07**	4,36**
NaCl x Genótipo	54	23,09**	0,07**	1,13**	0,23**	0,05**	0,39**	0,30**
Resíduo	919	4,96	0,02	0,35	0,05	0,01	0,21	0,16
Média Geral		4,66	2,20	4,22	0,09	0,02	0,02	0,01
CV (%)		47,82	26,60	49,59	10,92	4,33	14,33	10,04

Legenda:¹Dados transformado por Box-Cox (1964). ** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste F.

FV: Fator de variação; GL: Grau de liberdade, QM: Quadrado médio, CV: Coeficiente de variação.

Os valores dos coeficientes de variação ficaram entre 4,33% e 49,59% para a massa seca de parte aérea e o comprimento da maior raiz, respectivamente. Verde et al. (2024), trabalhando com NaCl em porta enxertos de citros sob as mesmas condições relatadas nesse trabalho, obtiveram coeficiente de variação entre 14,81% para o número de miniestacas e 76,18% para a massa fresca de raízes. A importância disso reside em sua capacidade de fornecer uma avaliação da variabilidade dos dados em relação à média. Coeficientes de variação reduzidos como 4,33%, implicam em um maior grau de consistência e confiabilidade nos dados, enquanto coeficientes de variação elevados, como 49,59%, ou maiores que estes, denotam maior variabilidade e maior sensibilidade da variável às condições experimentais. Em comparação com os achados de Verde et al. (2024), observou-se que a variabilidade pode diferir mesmo

em circunstâncias semelhantes, demonstrando assim como várias variáveis e genótipos podem exibir respostas diferentes ao estresse salino.

Para analisar o efeito da interação desses fatores foram elaborados heatmaps, visto que os atendimentos das pressuposições da análise de variância não formam possíveis.

Para a altura de planta observa-se que as maiores médias ocorreram no TSKC x (LCR x TR) - 029, diminuindo, consideravelmente, a partir da concentração de 2,56 g L⁻¹ (Figura 2). Seguido deste, o 'Indio' apresentou maior média na ausência do NaCl, decrescendo com a presença do NaCl. Na maior concentração do NaCl 3,84 g L⁻¹ os únicos genótipos que mantiveram média de altura de planta acima de 2 cm foram o LRF x (LCR x TR) – 005 e o TSKC x (LCR x TR) - 029, híbridos considerados tolerantes, segundo a classificação de Soares Filho et al. (2016). Apesar disso, outros materiais considerados tolerantes não responderam tão bem a adição do NaCl, segundo Maas (1993), isso ocorre, pois, a capacidade das plantas cítricas de tolerarem à salinidade varia entre as diferentes espécies, embora seja bem conhecido que a tolerância ao sal é particularmente dependente do porta-enxerto. No entanto, em teoria, a tolerância à salinidade não depende exclusivamente do porta-enxerto, visto que esta, induz a uma série de estresses, e a resposta da planta pode flutuar com base em uma série de fatores, incluindo a combinação do copo e do porta-enxerto, as condições ambientais prevaletentes e as práticas de manejo implementadas como verificado no estudo de Brito et al. (2021).

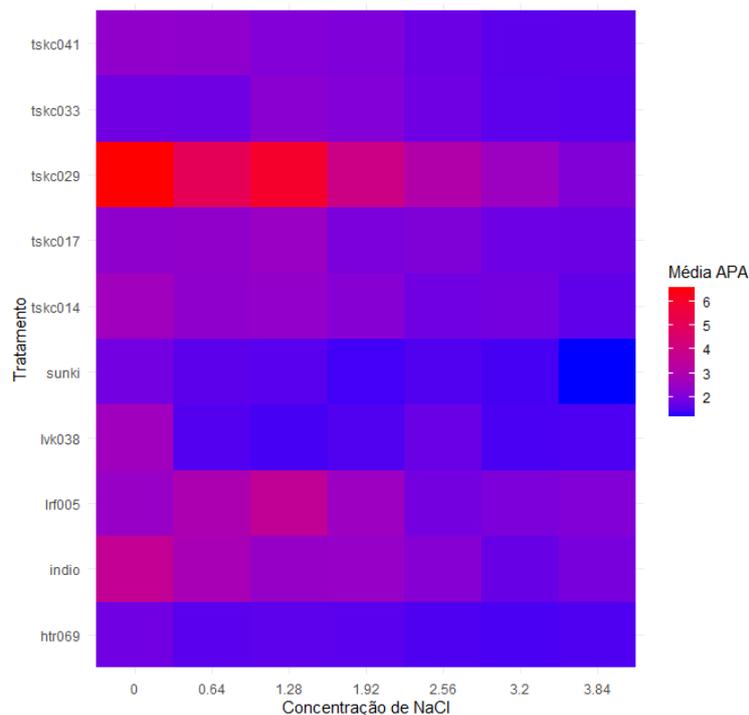


Figura 2. Heatmap para a altura de parte área (APA) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x (LCR x TR) – 029 (tskc029), TSKC x (LCR x TR) – 017 (tskc017), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005), citrandarin ‘Indio’ (Indio) e HTR – 069 (htr069) provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P. trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Conforme ilustrado na Figura 3, a altura da parte aérea dos porta-enxertos varia significativamente em resposta às diferentes concentrações de NaCl. Em condições de ausência de salinidade, o TSKC x (LCR x TR) - 029 apresentou valores de APA relativamente altos quando comparados aos demais genótipos, manteve-se superior aos demais mesmo nas concentrações mais elevadas de NaCl, como 2,56 g L⁻¹ e 3,20 g L⁻¹, embora sua média tenha sido reduzida. Nos demais indivíduos, observa-se, de modo geral, que à medida que a concentração de NaCl aumenta, há uma clara tendência de redução na APA. A partir da concentração de 1,92 g L⁻¹ observa-se uma diminuição mais acentuada na APA, indicando o efeito negativo da salinidade nessa variável. Na concentração mais elevada 3,84 g L⁻¹ a APA é consistentemente baixa em todos os porta-enxertos, o que demonstra a influência do agente salino no crescimento da parte aérea das plantas, com efeitos mais severos à medida que a

concentração de NaCl aumenta. Nesse sentido, Verslues et al. (2006) ressaltam que a supressão do crescimento é uma das principais respostas ao estresse salino em cítricos e muitas outras plantas.

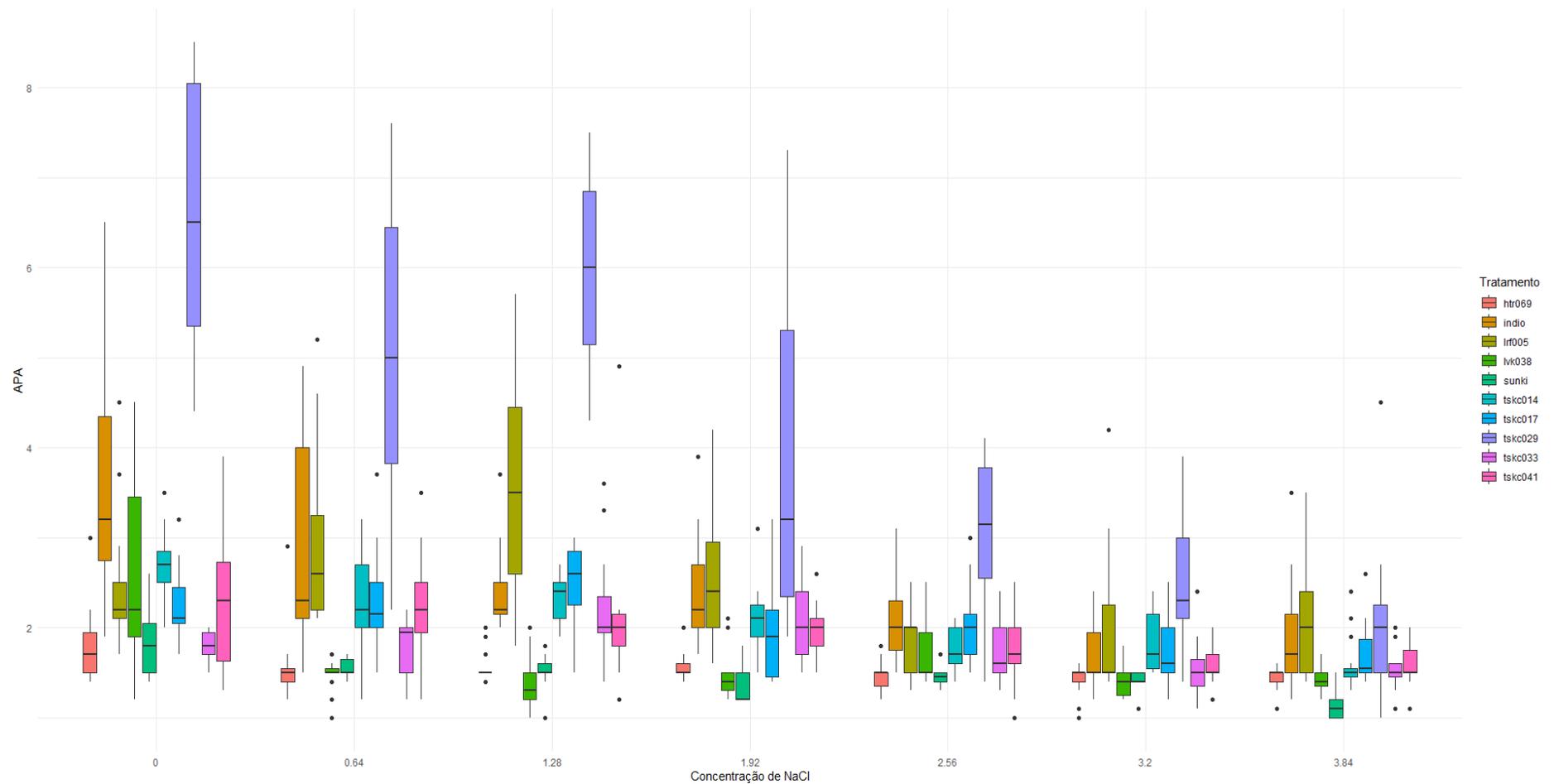


Figura 3. Blox-plot para a altura da parte aérea (APA) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x (LCR x TR) – 029 (tskc029), TSKC x (LCR x TR) – 017 (tskc017), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005), citrandarin ‘Indio’ (Indio) e HTR – 069 (htr069) provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P. trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Para o número de folhas verdes (Figura 4), o TSKC x (LCR x TR) – 029 seguido do TSKC x CTSW – 041 apresentaram as maiores médias na ausência do NaCl. No caso do TSKC x (LCR x TR) - 029, (Soares Filho et al., 2016), observam-se os maiores valores médios de folhas verdes. Em alguns estudos realizados foram considerados tolerantes à salinidade a nível de campo, o limoeiro ‘Cravo Santa Cruz’ e os híbridos tangerineira ‘Sunki da Flórida’ (TSKFL) x citrange C25 (CTC25) - 010, tangerineira ‘Sunki’ comum (TSKC) x citrumelo ‘Swingle’ (CTSW) - 031, TSKC x CTSW - 064, limoeiro ‘Volkameriano’ (LVK) x limoeiro ‘Cravo’ (LCR) - 038, híbrido trifoliado (HTR) - 069, limoeiro ‘Rugoso da Flórida’ (LRF) x (LCR x TR P. trifoliata) - 005 e TSKC x (LCR x TR) - 029, que sofreram reduções no crescimento iguais ou inferiores 20%, quando irrigados com águas com salinidade de até 4,0 dS m⁻¹ (Brito, 2007; Brito et al., 2008; Brito, 2010; Brito et al., 2014b; Barbosa et al., 2017). No genótipo TSKC x CTSW – 041, considerado moderadamente sensível por aqueles autores, foi notado uma redução acentuada do número de folhas com o aumento da concentração de NaCl até 3,84 g L⁻¹, o que é equivalente a 7,0 dS m⁻¹. Híbridos como o TSKC x CTSW – 033, TSKC x CTQT1439 – 014, (LCR x TR) – 005 e Citrandarin ‘Indio’, tem essa variável reduzida a partir da concentração de 1,92 g L⁻¹.

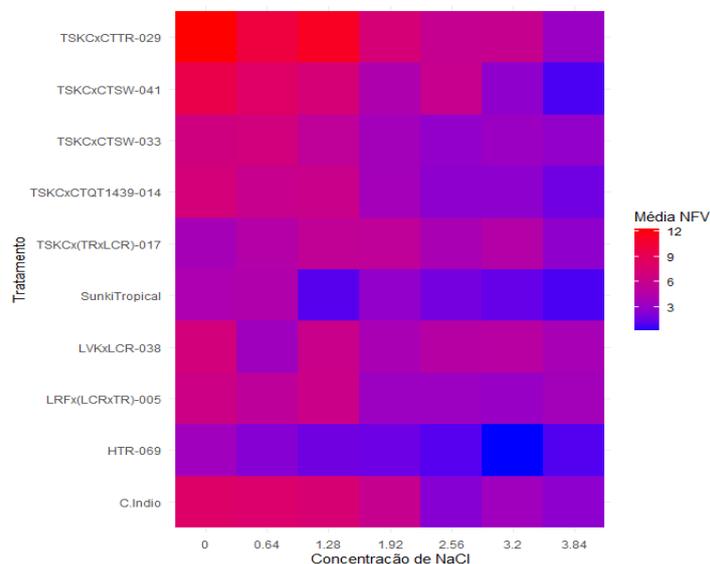


Figura 4. Heatmap para o número de folhas verdes (NFV) dos genótipos TSKC x CTSW - 041, TSKC x CTSW - 033, TSKC x (LCR x TR) - 029, TSKC x (LCR x TR) - 017, TSKC x CTQT1439 - 014, Sunki Tropical, LVK x LCR - 038, LRF x (LCR x TR) - 005, citrandarin ‘Indio’ e HTR - 069 provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Nota de Retificação: Houve um erro na nomenclatura do genótipo TSKC x (LCR x TR) - 029 nesta figura, ele foi incorretamente rotulado como TSKCXCTTR-029, a nomenclatura correta é TSKC x (LCR x TR) - 029.

A Figura 5 mostra a variação no número de folhas verdes em resposta às concentrações de NaCl, o que complementa os dados de biomassa aérea. Na ausência de NaCl no meio nutritivo, a maioria dos porta-enxertos mantém um NFV relativamente alto, indicando um crescimento saudável. No entanto, com o aumento da concentração de NaCl, há uma tendência geral de diminuição no NFV, mostrando que a salinidade afeta, negativamente, a manutenção das folhas verdes. Porta-enxertos como TSKC x (LCR x TR) - 029 e TSKC x CTTSW - 041 demonstram NFV satisfatórios, mesmo em altas concentrações de NaCl, sugerindo uma capacidade adaptativa maior ao estresse salino.

Em contraste, HTR – 069 e a Sunki Tropical exibem uma redução mais acentuada no NFV com o aumento da concentração de NaCl, indicando maior sensibilidade ao estresse salino. Esse padrão é consistente com a redução observada na APA, indicando que a salinidade impacta não apenas o crescimento, mas também a capacidade das plantas de manter sua folhagem. Semelhante a estes resultados Ghaleb et al. (2010), avaliado o efeito da salinidade in vitro com os porta-enxertos laranjeira-Azeda (*C. aurantium* L.) e limoeiro 'Volkameriana' (*C. volkameriana* Ten. Pasq.) observaram diminuição do comprimento da planta e do número de folhas verdes com o aumento da dose de NaCl. Estudando vários porta-enxertos de citros Verde et al. (2024) observaram que a presença do NaCl resultou em redução do número de folhas verdes e aumento da senescência foliar, atribuído tais fatores a redução na tolerância osmótica e tecidual, consequências da toxicidade salina.

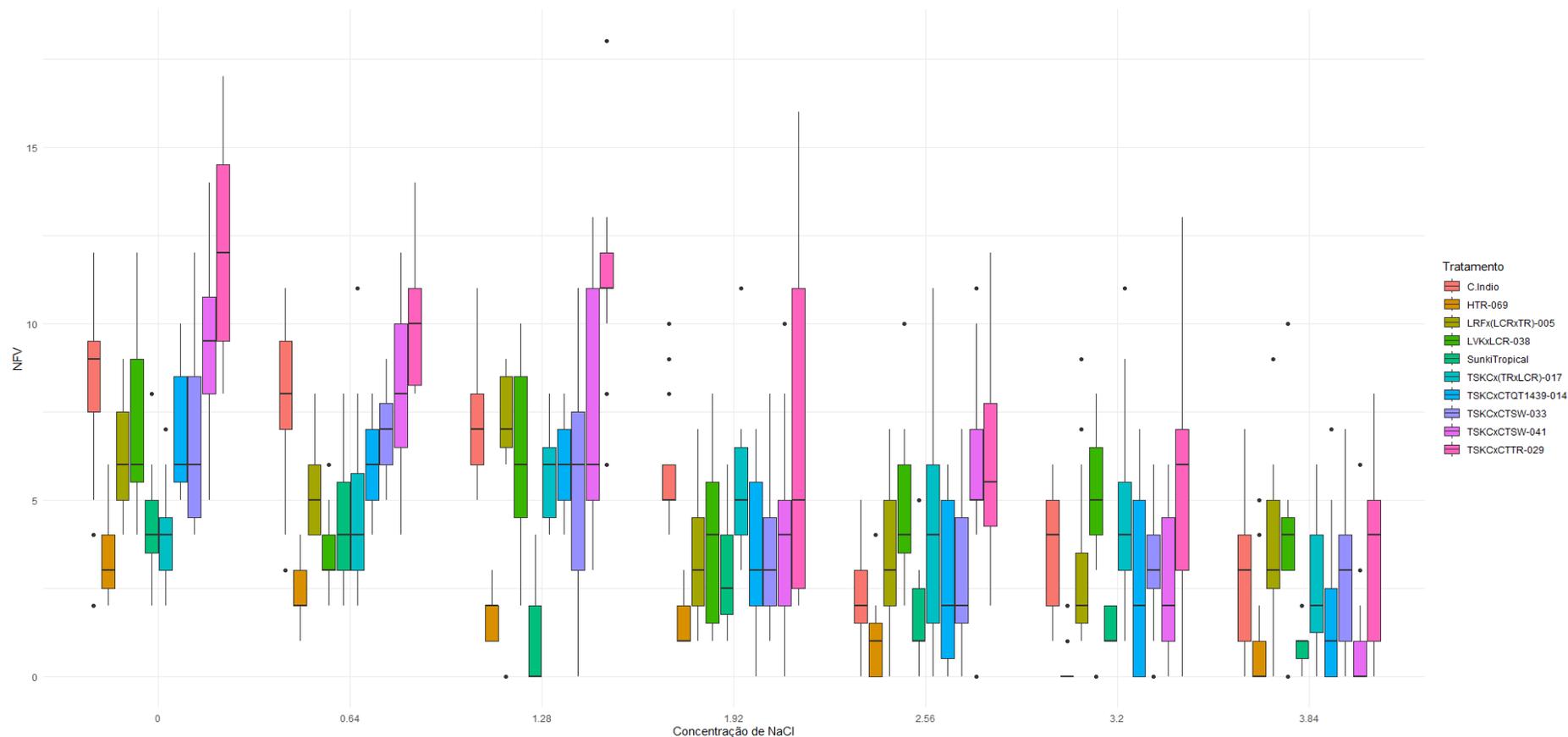


Figura 5. Blox-plot para o número de folhas verdes (NFV) dos genótipos TSKC x CTSW - 041, TSKC x CTSW - 033, TSKC x (LCR x TR) - 029, TSKC x (LCR x TR) - 017, TSKC x CTQT1439 - 014, Sunki Tropical, LVK x LCR - 038, LRF x (LCR x TR) - 005, citrandarin 'Índio' e HTR - 069 provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira 'Sunki' comum; CTSW: citrumelo 'Swingle'; LCR: limoeiro 'Cravo'; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat 'Thomasville'; LVK: limoeiro 'Volkameriano'; LRF: limoeiro 'Rugoso da Flórida'; citrandarin 'Índio': tangerineira 'Sunki' x *P. trifoliata* 'English'; HTR - 069 laranja 'Pera' x citrange 'Yuma'

Nota de Retificação: Houve um erro na nomenclatura do genótipo TSKC x (LCR x TR) - 029 nesta figura, ele foi incorretamente rotulado como TSKCXCTTR-029, a nomenclatura correta é TSKC x (LCR x TR) - 029.

Para a massa fresca da parte aérea, observa-se que o TSKC x (LCR x TR) – 029 se destaca com as maiores médias, principalmente na ausência e na concentração de 1,28 g L⁻¹ de NaCl (Figuras 6 e 7). A Sunki Tropical e o HTR – 069 apresentaram menor variação ao acréscimo do agente salino, porém tiveram as menores médias desta característica. No genótipo TSKC x (TR x LCR) – 017, observa-se que a adição do NaCl favoreceu o aumento da massa fresca. Para a massa seca da parte aérea, foi observada uma resposta semelhante à característica MFPA para a maioria dos indivíduos, (Figura 5). Estudando a salinidade em *Citrus macrophylla*, Pérez-Tornero et al. (2009) observaram que o NaCl afetou todos os parâmetros de crescimento, exceto as massas fresca e secas de parte aérea.

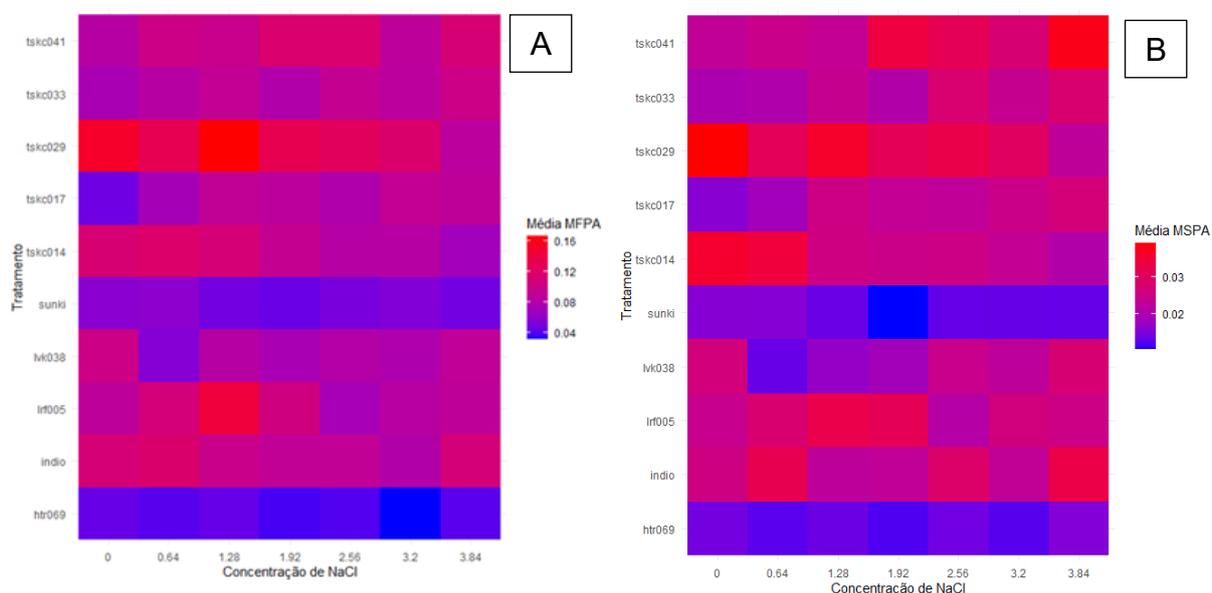


Figura 6. Heatmap para a massa fresca de parte aérea (MFPA) (A) e massa seca de parte aérea (MSPA) (B) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x (LCR x TR) – 029 (tskc029), TSKC x (LCR x TR) – 017 (tskc017), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005), citrandarin ‘Indio’ (Indio) e HTR – 069 (htr069) provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P. trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

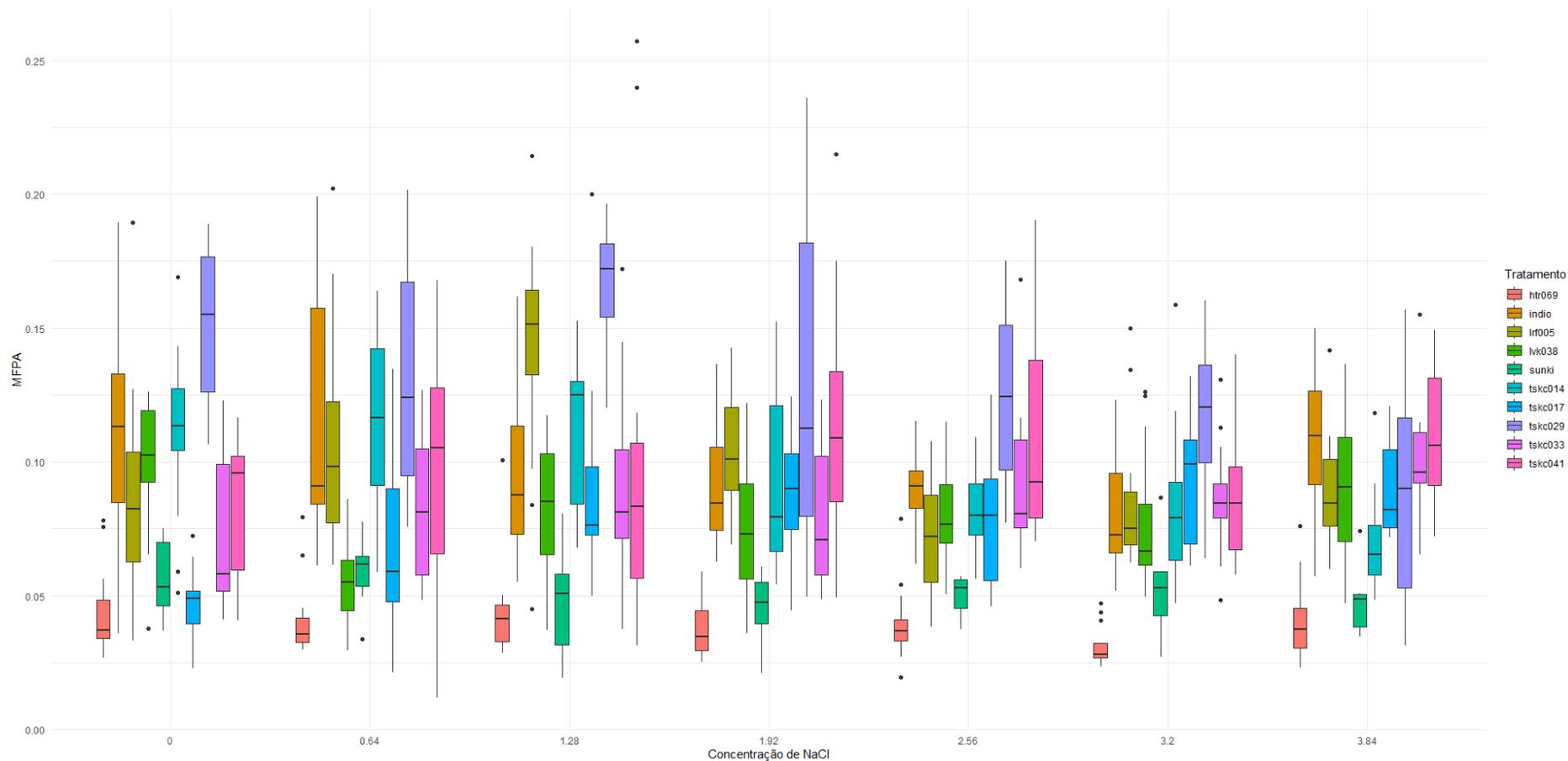


Figura 7. Blox-plot para a massa da matéria fresca de parte aérea (MFPA) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x (LCR x TR) – 029 (tskc029), TSKC x (LCR x TR) – 017 (tskc017), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005), citrandarin ‘Indio’ (Indio) e HTR – 069 (htr069) provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P. trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Apenas na concentração mais alta de NaCl ($3,2 \text{ g L}^{-1}$) apenas alguns genótipos, apresentam redução da MFPA, como o TSKC x (LCR x TR) – 029 e o TSKC x CTQT1439 – 014, indicado a interferência da salinidade no crescimento dessas plantas (Figura 7). Entretanto, de modo geral a produção de biomassa não foi afetada pela presença do sal, mantendo-se estável ao longo das concentrações de NaCl.

O comportamento observado na MFPA é similar ao da massa da matéria seca de parte aérea (MSPA), como mostrado na Figura 8. Na ausência do NaCl, alguns porta-enxertos, como TSKC x CTQT1439 - 014 e TSKC x (LCR x TR) – 029, destacam-se com altos valores de MSPA, indicando uma boa acumulação de biomassa seca.

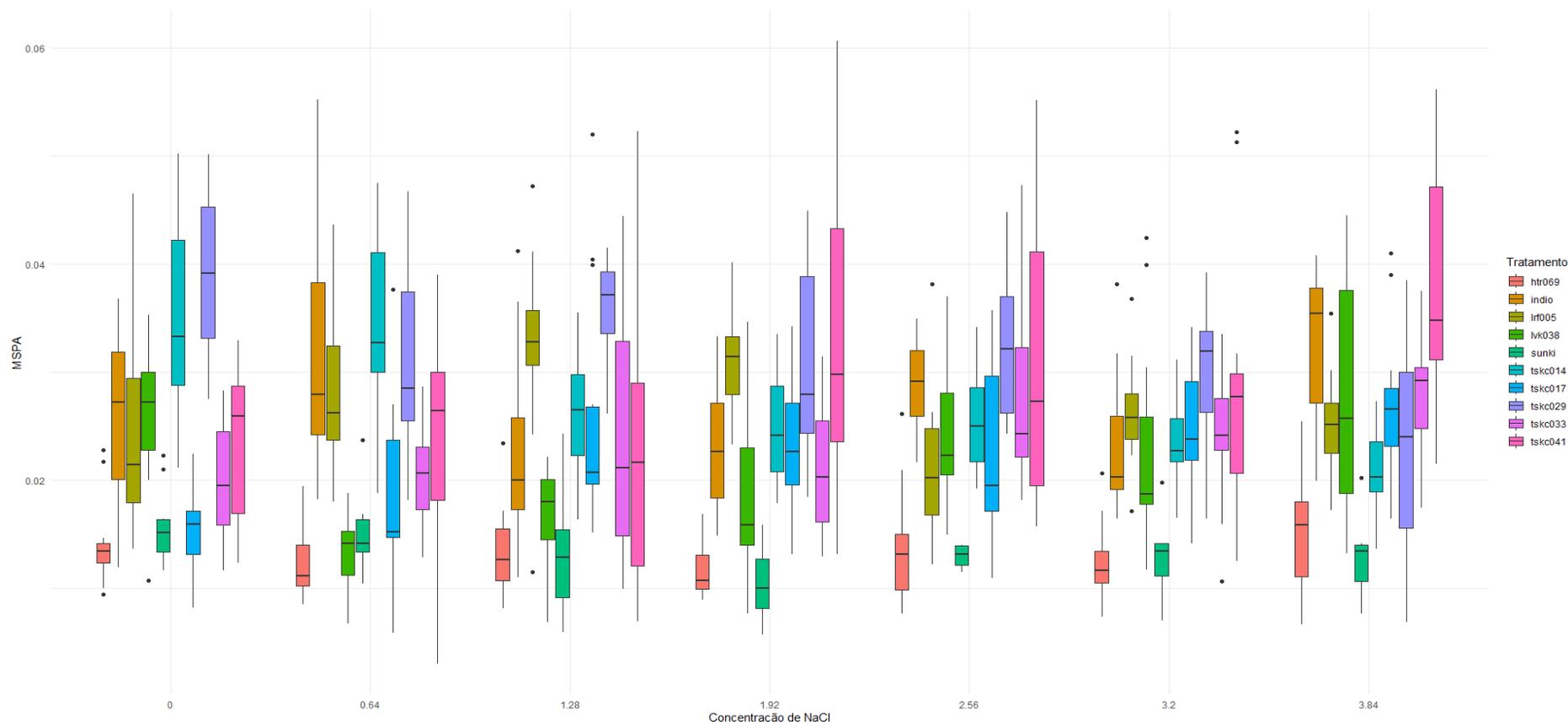


Figura 8. Blox-plot para a massa da matéria seca de parte aérea (MSPA) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x (LCR x TR) – 029 (tskc029), TSKC x (LCR x TR) – 017 (tskc017), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005), citrandarin ‘Indio’ (Indio) e HTR – 069 (htr069) provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P. trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

No entanto, com o aumento das concentrações de NaCl para 0,64 g L⁻¹ e 1,28 g L⁻¹, a MSPA de alguns genótipos começa a diminuir, refletindo dificuldades na manutenção do acúmulo de biomassa sob estresse salino. Em concentrações mais elevadas (a partir de 1,92 g L⁻¹), o genótipo TSKC x CTSW - 041 supera as médias de MSPA do TSKC x CTQT1439 - 014 e mantém as maiores médias dessa característica juntamente com o TSKC x (LCR x TR) - 029 (Figura 8). Isso sugere que os genótipos apresentam respostas específicas na capacidade de acumular biomassa seca sob estresse salino, o que impacta o crescimento sustentado das plantas.

Esse resultados são semelhantes aos relatados por Verde et al. (2024) que em seu estudo a adição do NaCl não afetou a massa de matéria e seca fresca aérea, mesmo com redução em variáveis como altura e número de folhas verdes, havendo acúmulo de biomassa na planta, estes autores, por exemplo, obtiveram para os genótipos BRS Victória, LRF (LCR x TR) - 005 e BRS H Montenegro as melhores médias nas concentrações de 2,10 g L⁻¹, 1,62 g L⁻¹ e 3,20 g L⁻¹ NaCl, respectivamente. Tal fator, pode ser atribuído absorção de Na e Cl e seu acúmulo nos tecidos vegetais, em que numerosos estudos mostraram que o cloreto tende a se acumular nas folhas cítricas com cita Sharma et al. (2013). Entretanto, em estudos conduzidos por autores como Ghaleb et al. (2010) com porta-enxertos de laranja azeda e limão 'Volkameriano' e Shiyab et al. (2003) com laranja azeda, observaram redução da massa seca da planta com o aumento do NaCl.

Na Figura 9 observa-se o comprimento da maior raiz, com destaque para o TSKC x CTSW – 041, com a maior média na ausência e na maior concentração do NaCl. Observa-se que no LRF x (LCR x TR) – 005, nas concentrações de 1,28 g L⁻¹, 1,92 g L⁻¹ e 3,20 g L⁻¹, o agente salino favoreceu o crescimento das raízes. Conforme cita Alrahman et al. (2005) esse comportamento ocorre, visto que em condições de estresse, in vitro as plantas cultivadas tendem a aumentar o comprimento da raiz para sua sobrevivência. No LRF x (LCR x TR) – 005, tais respostas podem ser reflexo de sua tolerância verificada em campo (SOARES FILHO et al. 2016). Entretanto, para o TSKC x (TR x LCR) – 017, não houve desenvolvimento de raízes na ausência e nas concentrações de 2,56 g L⁻¹ e 3,84 g L⁻¹.

No caso do TSKC x CTQT1439 – 014, a partir da concentração de 1,28 g L⁻¹, não ocorreu mais desenvolvimento das raízes. Na Sunki Tropical, isso foi observado desde a concentração de 1,28 g L⁻¹, com exceção da concentração de 1,92 g L⁻¹ de NaCl, onde as plantas apresentaram leve desenvolvimento radicular. Esses

resultados mostram uma divergência em relação à classificação da tolerância à salinidade descrita por Soares Filho et al. (2016). O TSKC x CTSW – 041 classificado como moderadamente sensível, apresenta uma resposta positiva na concentração mais elevada, enquanto o TSKC x (LCR x TR) – 017 e Sunki Tropical, que são tolerante e moderadamente tolerante, respectivamente, não desenvolveram raízes em concentrações elevadas de NaCl.

Em relação a variações nas respostas observadas no desenvolvimento das raízes, Storey e Walker (1987) afirma que maioria dos estudos sobre absorção pela raiz assumiu que toda a raiz é igualmente ativa. No entanto, há diferenças marcantes entre espécies em propriedades estruturais e funcionais ao longo da raiz (STOREY; WALKER, 1987) que podem induzir diferenças na absorção, transporte e assimilação de nutrientes, e por consequência resultar em respostas distintas.

Essas diferenças podem ser de grande importância na determinação da resistência de uma espécie ao estresse salino. Nesse sentido, acredita-se que a regulação do transporte de íons em plantas cítricas que crescem em condições salinas ocorre no sistema radicular, embora a localização e o mecanismo exatos permaneçam desconhecidos (FERNÁNDEZ-BALLESTER et al., 2003).

Além disso, mesmo quando não existem formação de raízes nos tratamentos ausentes do NaCl em alguns genótipos, deve-se considerar que podem ocorrer diferentes respostas apresentadas pelos porta-enxertos porque cada genótipo possui características genéticas próprias, (SOARES et al., 2015), resultando em comportamento variado entre eles, mesmo submetidos às mesmas condições ambientais de conservação in vitro (MENDES et al., 2021). Isso foi corroborado por Grattapaglia e Machado (1998), que confirmam que as condições para o desenvolvimento in vitro variam entre os genótipos. Portanto, o estabelecimento de um protocolo para uma espécie deve considerar respostas favoráveis que abranjam o maior número possível de genótipos para que o mínimo ou nenhum ajuste necessário, facilitando o controle do crescimento das plantas in vitro como cita Mendes et al. (2021).

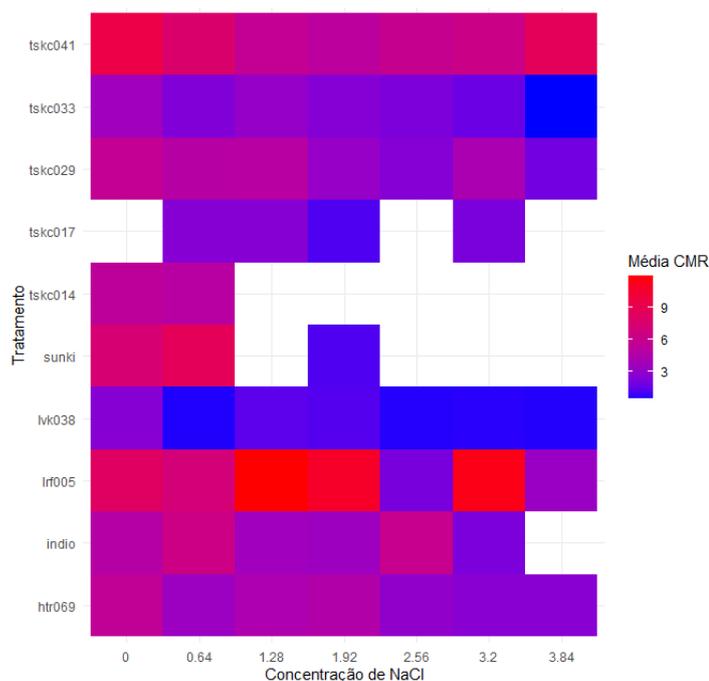


Figura 9. Heatmap para o comprimento da maior raiz (CMR) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x (LCR x TR) – 029 (tskc029), TSKC x (LCR x TR) – 017 (tskc017), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005), citrandarin ‘Indio’ (Indio) e HTR – 069 (htr069) provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P. trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

O impacto da salinidade também se estende ao sistema radicular, interferindo no desenvolvimento da raiz de alguns porta-enxertos, conforme mostrado na Figura 10. Na ausência de NaCl, a maioria dos porta-enxertos apresenta um comprimento da maior raiz (CMR) mais longo, o que aponta um crescimento radicular saudável. À medida que a concentração de NaCl aumenta, observa-se uma tendência de redução no CMR, sugerindo que o aumento da salinidade afeta negativamente o crescimento das raízes.

Porta-enxertos como LRF x (LCR x TR) - 005 e TSKC x CTTSW - 041 mantêm um CMR relativamente maior, mesmo em concentrações mais altas de NaCl, indicando uma melhor adaptação ao estresse salino. Em contraste, o genótipo TSKC x CTQT1439 - 014 e HTR - 069 mostram uma redução significativa no CMR com o aumento da concentração de NaCl, evidenciando uma maior sensibilidade ao sal. Esses resultados são consistentes com as reduções observadas na APA, e NFV,

demonstrando que a salinidade afeta o crescimento tanto da parte aérea quanto do sistema radicular das plantas. Impactos no sistema radicular foram observados por Pérez-Tornero et al. (2009), que obtiveram 30% de enraizamento e redução de 45% no número e comprimento da raiz de *Citrus macrophylla* com 100 mM de NaCl, sendo este o parâmetro de crescimento mais afetado no crescimento in vitro de genótipos cultivados sob diferentes concentrações salinas em seu estudo.

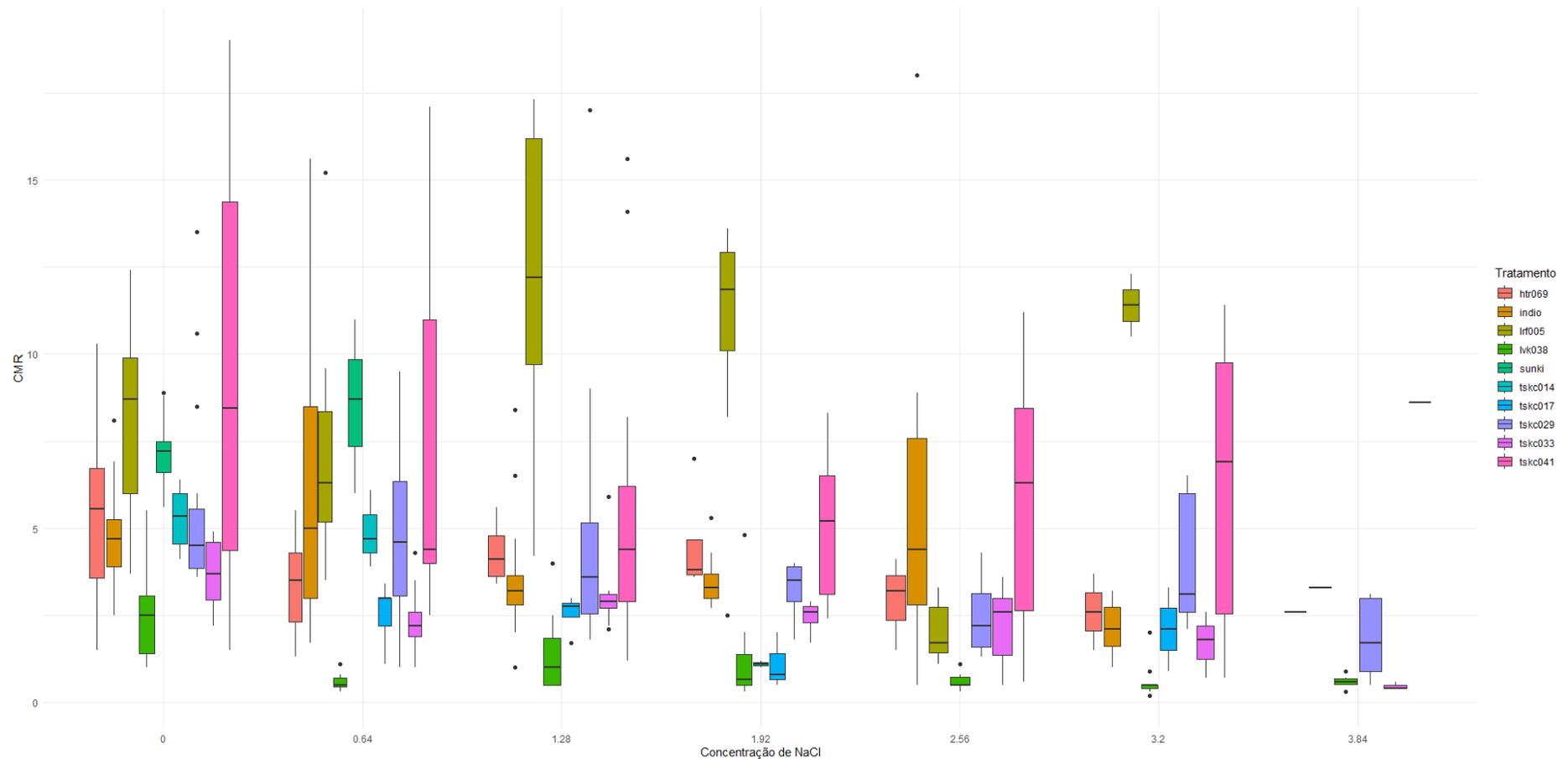


Figura 10. Blox-plot para o comprimento da maior raiz (CMR) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x (LCR x TR) – 029 (tskc029), TSKC x (LCR x TR) – 017 (tskc017), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005), citrandarin ‘Indio’ (Indio) e HTR – 069 (htr069) provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Para a massa fresca de raízes, o TSKC x (LCR x TR) – 029 e o LVK x LCR – 038 destacam-se com as maiores médias na ausência e na presença da concentração de 1,28 g L⁻¹. A adição do NaCl também mostrou-se favorável ao LRF x (LCR x TR) – 005 e o TSKC x CTSW – 041 na concentração de 1,28 g L⁻¹ do agente salino. As menores médias para essa variável foram observadas no TSKC x CTSW – 033, TSKC x (TR x LCR) – 017, e ainda no LRF x (LCR x TR) – 005 nas concentrações de 2,56 g L⁻¹ e 3,84 g L⁻¹. Além disso, conforme evidenciado para a característica CMR, o híbrido TSKC x CTQT1439 - 014 não apresentou desenvolvimento das raízes e, conseqüentemente, MFR e MSR a partir da concentração de 1,28 g L⁻¹, assim como a Sunki Tropical, quando as plantas foram cultivadas em concentrações mais elevadas (a partir de 1,28 g L⁻¹, exceto na concentração de 1,92 g L⁻¹ de NaCl) (Figura 11).

No que se refere à massa seca de raízes, os resultados observados foram semelhantes aos obtidos na característica MFR, sendo que para o TSKC x CTSW – 041 não houve aumento na média de MSR com a adição de 1,28 g L⁻¹ de NaCl (Figura 11).

Observa-se que alguns genótipos em certas concentrações de NaCl, não desenvolveram raízes, enquanto outros apresentaram maiores valores de massas frescas e secas com a adição do sal. Nesse sentido, autores como Ghaleb et al. (2010); Pérez-Jiménez e Pérez-Tornero (2020) mencionam que isso pode ser uma resposta do próprio genótipo, que pode possuir diferentes mecanismos de exclusão e/ou extrusão de íons para sobreviver em ambientes salinos, mecanismos que podem estar presentes em porta-enxertos que, mesmo com redução no desenvolvimento para algumas variáveis de crescimento, conseguiram formar partes aéreas e raízes em maiores doses de NaCl, com menos danos do que os observados em genótipos mais sensíveis, como o porta-enxerto citrandarin 'Riverside', BRS Victória, LRF (LCR x TR) - 005, BRS Bravo, TSK x TRBK - Colômbia e BRS H Montenegro, apresentando, portanto, por esse aspecto, algum grau de resistência à salinidade (VERDE et al., 2024).

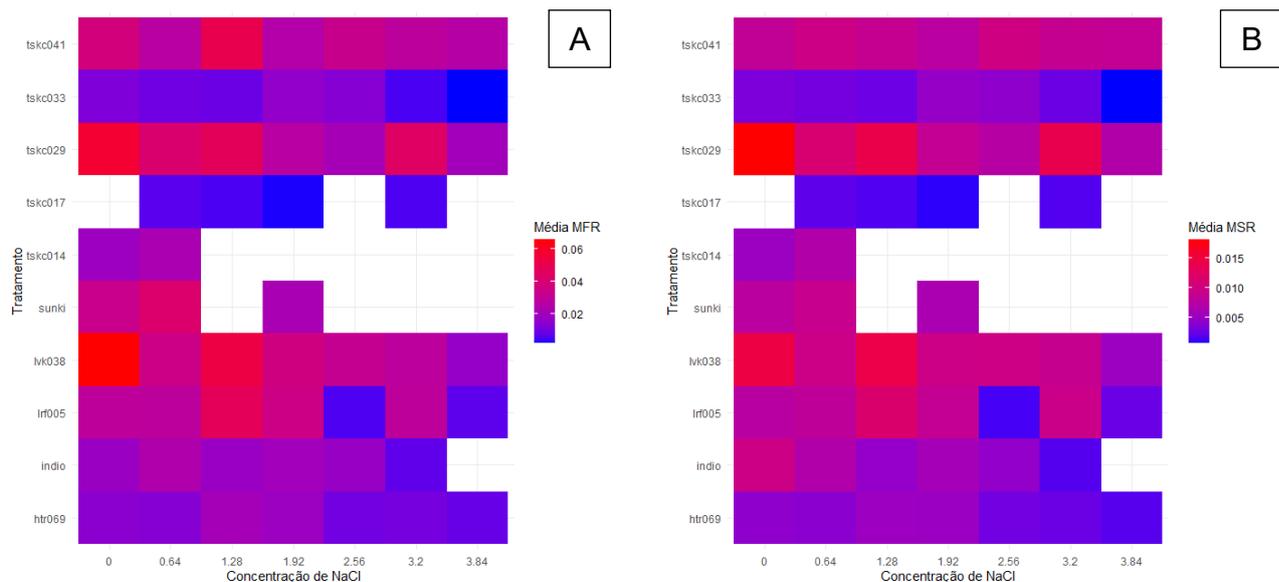


Figura 11. Heatmap da massa fresca de raízes (MFR) (A) e massa seca de raízes (MSR) (B) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x (LCR x TR) – 029 (tskc029), TSKC x (LCR x TR) – 017 (tskc017), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005), citrandarin ‘Indio’ (Indio) e HTR – 069 (htr069) provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

A análise da massa fresca das raízes (MFR) na Figura 12 reflete ainda mais os efeitos negativos da salinidade no sistema radicular. Em geral, observa-se uma diminuição na MFR com o aumento da concentração de NaCl, indicando que o sal afeta negativamente a acumulação de biomassa radicular. Porta-enxertos como o TSKC x CTTR – 029 e o TSKC x CTTSW - 041 destacam-se por manter uma MFR mais alta em várias concentrações de NaCl, sugerindo uma maior tolerância ao estresse salino.

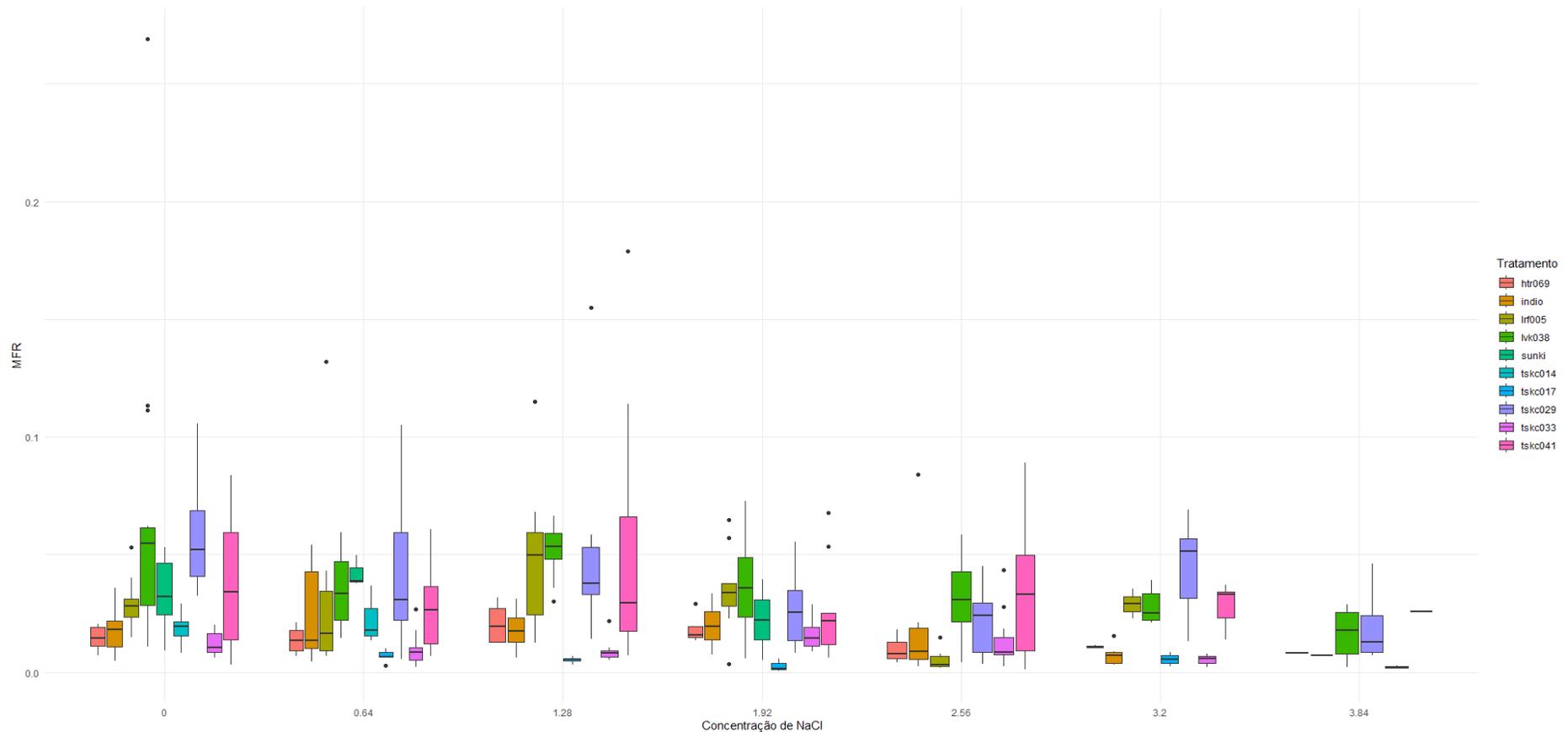


Figura 12. Blox-plot para a massa fresca das raízes (MFR) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x (LCR x TR) – 029 (tskc029), TSKC x (LCR x TR) – 017 (tskc017), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005), citrandarin ‘Indio’ (Indio) e HTR – 069 (htr069) provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P. trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

Em contraste, o genótipo HTR - 069 mostra uma diminuição mais acentuada na MFR com o aumento da concentração de NaCl, indicando uma maior sensibilidade ao estresse salino (Figura 12). Essa tendência é consistente com os resultados observados no CMR, sugerindo que a salinidade compromete a biomassa radicular tanto em termos de comprimento quanto de massa fresca.

Na Figura 13 nota-se que a massa seca das raízes diminui com o aumento da salinidade, seguindo à tendência observada na MFR. Porta-enxertos como TSKC x (LCR x TR) - 029, TSKC x CTTSW - 041 e LVK x LCR - 038 conseguem manter uma massa seca relativamente alta até concentrações moderadas de sal, indicando uma melhor resiliência. Na maior concentração de NaCl ($3,64 \text{ g L}^{-1}$), a MSR é reduzida em todos os genótipos, refletindo a dificuldade generalizada das plantas em tolerar altos níveis de salinidade. A diminuição na MSR sugere que a capacidade de armazenamento de biomassa nas raízes é comprometida sob estresse salino, corroborando as observações de MFR e CMR. Esses resultados reforçam a necessidade de selecionar e desenvolver porta-enxertos mais tolerantes ao sal para mitigar os efeitos adversos da salinidade no crescimento e na produção de biomassa das plantas.

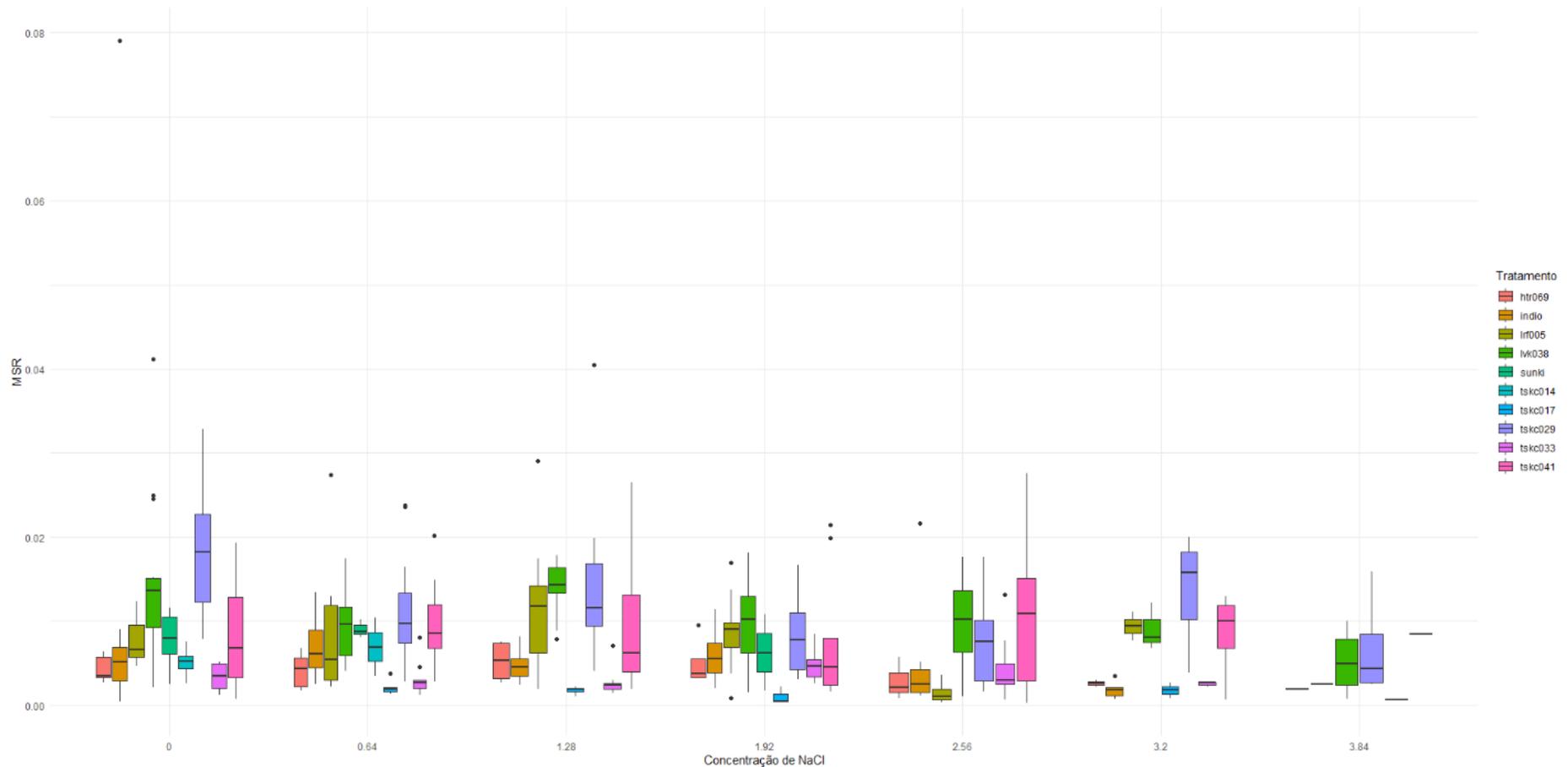


Figura 13. Blox-plot para a massa seca das raízes (MSR) dos genótipos TSKC x CTSW – 041 (tskc041), TSKC x CTSW – 033 (tskc033), TSKC x (LCR x TR) – 029 (tskc029), TSKC x (LCR x TR) – 017 (tskc017), TSKC x CTQT1439 – 014 (tskc014), Sunki Tropical (sunki), LVK x LCR – 038 (lvk038), LRF x (LCR x TR) – 005 (lrf005), citrandarin ‘Indio’ (Indio) e HTR – 069 (htr069) provenientes de miniestacas cultivadas in vitro em meio de cultura WPM com distintas concentrações de cloreto de sódio (NaCl) durante 120 dias.

Legenda: TSKC: tangerineira ‘Sunki’ comum; CTSW: citrumelo ‘Swingle; LCR: limoeiro ‘Cravo’; TR: *P. trifoliata*; CTQT: citrangequat ‘Thomasville’; LVK: limoeiro ‘Volkameriano’; LRF: limoeiro ‘Rugoso da Flórida’; citrandarin ‘Indio’: tangerineira ‘Sunki’ x *P trifoliata* ‘English’; HTR - 069 laranja ‘Pera’ x citrange ‘Yuma’.

No geral, os resultados indicam que a salinidade afeta negativamente tanto o crescimento da parte aérea quanto o sistema radicular dos porta-enxertos estudados. A APA, NFV, CMR, MFR e MSR foram todas negativamente influenciadas pelo aumento das concentrações de NaCl (a partir de 2,56 g L⁻¹). Porta-enxertos como TSKC x (LCR x TR) - 029 e TSKC x CTTSW - 041 mostram uma melhor capacidade de adaptação ao estresse salino, mantendo um crescimento relativamente robusto mesmo sob condições salinas (Figura 14A). Em contrapartida, porta-enxertos como HTR - 069 e Sunki Tropical são mais sensíveis ao estresse salino, exibindo uma redução significativa em todas as características de crescimento analisadas (Figura 14B). Esses achados são cruciais para a seleção de porta-enxertos mais tolerantes ao sal, visando a melhoria da produção agrícola em áreas afetadas pela salinidade.

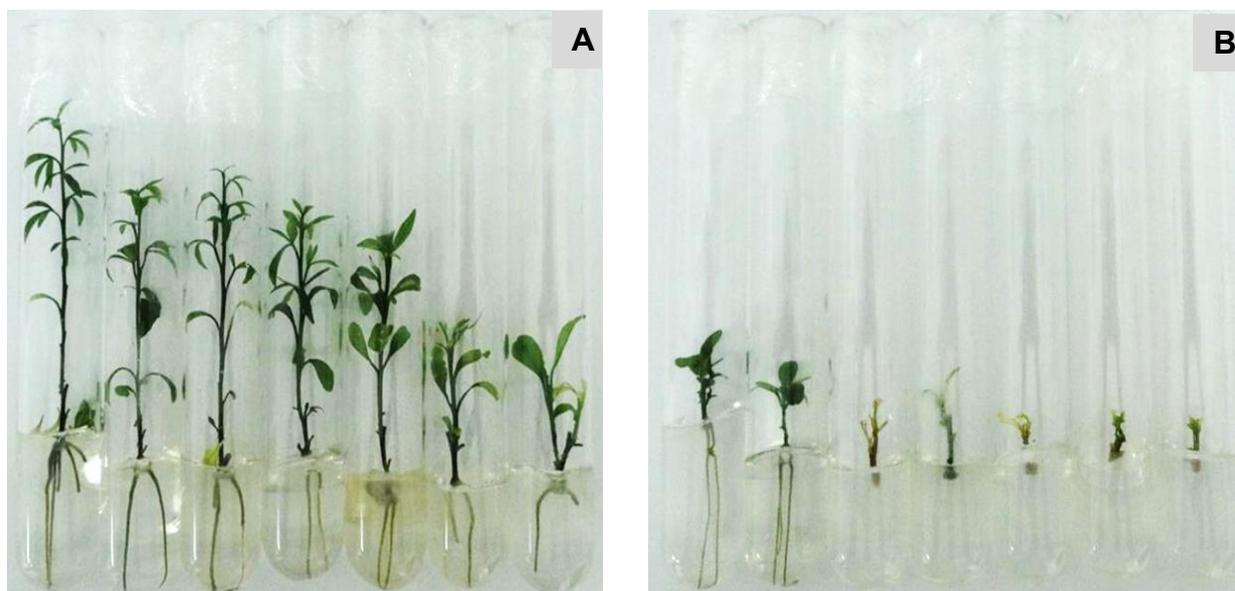


Figura 14. Plantas do genótipo TSKC¹ x (LCR² x TR³) - 029 (A) que apresentou maior tolerância a salinidade e BRS Sunki Tropical⁴ (B), sensível, submetidas a concentrações de NaCl de 0 g L⁻¹, 0,64 g L⁻¹, 1,28 g L⁻¹, 1,92 g L⁻¹, 2,56 g L⁻¹, 3,20 g L⁻¹, 3,84 g L⁻¹ respectivamente, da esquerda para direita, durante o cultivo de miniestacas in vitro. Foto: Adriele Nascimento Santana, 2023.

Legenda: ¹TSKC: tangerineira Sunki¹ comum [*Citrus sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka].

²LCR: limoeiro 'Cravo' (*C. xlimonia* Osbeck).

³TR: trifoliata (*P. trifoliata*).

⁴*C. sunki*.

4. CONCLUSÃO

Os genótipos TSKC x (LCR x TR) – 029, TSKC x CTSW – 041 (BRS Cunha Sobrinho), e o LRF x (LCR x TR) – 005 (BRS N Gimenes Fernandes) foram os mais tolerantes, com respostas positivas até a maior concentração. No caso do citrandarin ‘Indio’ este pode ser classificado como moderadamente tolerante, pois houve uma limitação no desenvolvimento das raízes a partir da concentração de $1,92 \text{ g L}^{-1}$. Os genótipos TSKC x (LCR x TR) – 017 (BRS Stuchi) mostrou-se moderadamente sensível. A Sunki Tropical, TSKC x CTQT1439 – 014 (BRS L Navarro), LVK x LCR – 038 (BRS Ary S), HTR – 069 e TSKC x CTSW – 033 mostrou-se sensível a partir da adição de $1,28 \text{ g L}^{-1}$ de NaCl.

Desse modo, observa-se que genótipos apresentam comportamentos distintos em relação à classificação da tolerância à salinidade, não mostrando resultados totalmente compatíveis com os estudos realizados em campo, o que sugere a necessidade de ajustes nessa metodologia, como alterações no meio de cultura em si e/ou de suas condições externas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para as sementes a viabilidade é fundamental na determinação da taxa de germinação em ambientes salinos, o genótipo que apresentou o melhor resultado foi o TSKC x CTSW - 041. No caso das miniestacas, os genótipos TSKC x (LCR x TR) – 029 e TSKC x CTSW – 041 demonstraram maior tolerância ao estresse salino. Para ambos, o genótipo TSKC x CTSW – 041 destacou-se como o mais tolerante à salinidade.

Os resultados indicam uma variabilidade significativa na tolerância à salinidade entre os genótipos de porta-enxertos de citros. Identificar genótipos mais tolerantes pode ser crucial para a otimização da produção agrícola em regiões afetadas pela salinidade, promovendo uma agricultura mais resiliente e sustentável.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-YASSIN, A. Influence of salinity on citrus: a review paper. **Journal of Central European Agriculture**, v.5, n.4, p.263-272, 2004.

ANDRADE JUNIOR, A. S. de; BASTOS, E. A.; MELO, F. D. B.; LEAL, C. M. Uso e qualidade da água subterrânea para irrigação no Semi-Árido piauiense. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.10, n.4, p. 873-880, 2006.

BRAZ, V. B.; RAMOS, M. M.; ANDRADE JÚNIOR, A. S. de; SOUSA, C. A. F. de; MANTOVANI, E. C. Níveis e frequências de irrigação na limeira 'Tahiti' no Estado do Piauí. **Revista Ceres**, v. 56, n.5, p. 611-619, 2009.

BRITO, L.T.L.; SRINIVASAN, V. S.; SILVA, A. D. S.; GHEYI, H. R., GALVÃO, C. D. O.; HERMES, L. C. Influência das atividades antrópicas na qualidade das águas da bacia hidrográfica do Rio Salitre. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.4, p.596-602, 2005.

BRITO, M. E. B.; SA, F. V. S.; SILVA, L. A.; SOARES FILHO, W.S.; GHEYI, H. R.; MOREIRA, R. C. L.; FERNANDES, P. D.; FIGUEIREDO, L. C. Saline stress onto growth and physiology of trifoliolate citrus hybrids during rootstock formation. **Bioscience Journal**, v. 33, n.6, p.1523-1534, 2017.

BRITO, M. E. B.; SILVA, E. C. B. da.; FERNANDES, P. D.; SOARES FILHO, W. DOS S.; COELHO FILHO, M. A.; SÁ, F. V. S.; MELO, A. S. de.; BARBOSA, R. C. A. Salt balance in the substrate and growth of 'Tahiti' acid lime grafted onto Sunki mandarin hybrids under salinity stress. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 10, p. 954-961, 2005.

BRITO, M. E. B.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R.; SOARES, L. A. D. A.; SOARES FILHO, W. D. S.; SUASSUNA, J. F. Screening of citrus scion-rootstock combinations for tolerance to water salinity during seedling formation. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 43, p. e48163, 2020.

BRITO, M. E. B.; SOARES, L. A. A.; SOARES FILHO, W.S.; FERNANDES, PEDRO D.; SILVA, ELAINE C.B.; SÁ, F.V.S.; SILVA, L.A. Emergence and morphophysiology of Sunki mandarin and other citrus genotypes seedling under saline stress. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 16, p. e0801, 2018.

BOX, G. E. P; COX, David R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology**, v. 26, n. 2, p. 211-252, 1964.

DE SOUZA MENDES, M. I.; VERDE, D. D. S. V.; DE SOUZA RAMOS, A. P.; DA SILVA GESTEIRA, A.; DOS SANTOS SOARES FILHO, W.; DA SILVA SOUZA, A. In vitro conservation of citrus rootstocks using paclobutrazol and analysis of plant viability and genetic stability. **Scientia Horticulturae**, v. 286, p. 110231, 2021.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Countries by commodity. 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Acesso em: 12 Set. 2023.

FERNÁNDEZ-BALLESTER, G.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F.; CERDÁ, A.; MARTÍNEZ, V. Tolerance of citrus rootstock seedlings to saline stress based on their ability to regulate ion uptake and transport. **Tree physiology**, v. 23, n. 4, p. 265-271, 2003.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes. pt: pacote experimental designs (português). **R package version**, v. 1, n. 2, 2021.

GHALEB, W. S.; SAWWAN, J. S.; AKASH, M. W.; AL-ABDALLAT, A. M. In vitro response of two Citrus rootstocks to salt stress. **International Journal of Fruit Science**, v. 10, n. 1, p. 40-53, 2010.

GOMES, K. R.; AMORIM, A. V.; FERREIRA, F. J.; ANDRADE FILHO, F. L.; LACERDA, C. F.; GOMES FILHO, E. Respostas de crescimento e fisiologia do milho submetido a estresse salino com diferentes espaçamentos de cultivo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande**, v. 15, p. 365-370, 2011.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. *In*: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. 1. ed. 1998. p. 183-260.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **Horticultural Science**, Alexandria, v. 15, n. 3, p. 416-417, 1980.

MAAS, E. V. Salinity and citriculture. **Tree physiology**, v. 12, n. 2, p. 195-216, 1993.

PÉREZ-TORNERO, O.; TALLÓN, C. I.; PORRAS, I.; NAVARRO, J. M. Physiological and growth changes in micropropagated *Citrus macrophylla* explants due to salinity. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, n. 17, p. 1923-1933, 2009.

R CORE TEAM **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2024.

RODRIGUES, M. J. S.; OLIVEIRA, E. R. M.; GIRARDI, E. A.; LEDO, C. A. R.; SOARES FILHO, W. S. Produção de mudas de citros com diferentes combinações copa e porta-enxerto em viveiro protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n.1, p.187-201, 2016.

SCHOSSLER, T. R.; MACHADO, D. M.; ZUFFO, A. M.; ANDRADE, F. R.; PIAUILINO, A. C. Salinidade: efeitos na fisiologia e na nutrição mineral de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15, p. 1564, 2012.

SHARMA, L. K.; KAUSHAL, M.; BALI, S. K.; CHOUDHARY, O. P. Evaluation of rough lemon (*Citrus jambhiri* Lush.) as rootstock for salinity tolerance at seedling stage under in vitro conditions. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 44, p. 6267-6275, 2013.

SHIYAB, SAFWAN M.; SHIBLI, RIDA A.; MOHAMMAD, MUNIR M. Influence of sodium chloride salt stress on growth and nutrient acquisition of sour orange in vitro. **Journal of Plant Nutrition**, v. 26, n. 5, p. 985-996, 2003.

SILVA, F. L. B. da.; LACERDA, C. F. de.; NEVES, A. L. R.; SOUSA, G. G. de.; SOUSA, C. H. C. de.; FERREIRA, F. J. Irrigação com águas salinas e uso de biofertilizante bovino nas trocas gasosas e produtividade de feijão-de-corda. **Irriga**, v. 18, n. 2, p. 304-317, 2013.

SILVA, L. A.; BRITO, M. E. B.; SÁ, F. V. S.; MOREIRA, R. C. L.; WALTER, W. S. S.; FERNANDES, P. D. Mecanismos fisiológicos em híbridos de citros sob estresse salino em cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, (Suplemento), p.S1–S7, 2014.

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

SOARES FILHO, W. S. dos; VILARINHOS, A. D.; ALVES, A. A. C.; CUNHA SOBRINHO, A. P.; OLIVEIRA, A. A. R.; SOUZA, A. S.; LEDO, C. A. S.; CRUZ, J. L.; SOUZA, L. D.; CASTRO NETO, M. T.; GUERRA FILHO, M. dos S.; PASSOS, O. S.; MEISSNER FILHO, P. E. **Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura**: obtenção de híbridos. 106. Cruz das Almas: Embrapa CNPMF, 2003.

STOREY, R.; WALKER, R. R. Some effects of root anatomy on K⁺, Na⁺ and Cl⁻ loading of roots and leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 38, p. 1769-1780, 1987.

VENABLES, W.N.; RIPLEY, B.D. **Modern Applied Statistics with S**. Fourth Edition. Springer, 2002.

VERDE, D. S. V.; MENDES, M. I. D. S.; NOBRE, L. V. D. C.; SOUZA, A. D. S.; dos SANTOS, K. C. F.; SOARES FILHO, W. D. S. In vitro tolerance of citrus rootstocks under saline stress. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 156, n. 1, p. 13, 2024.

VERSLUES, P. E.; AGARWAL, M.; KATIYAR-AGARWAL, S.; ZHU, J.; ZHU, J. K. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **The Plant Journal**, v. 45, n. 4, p. 523-539, 2006.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag New York, 2016.