



LUCAS ALEXANDRE BATISTA

**TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO DO TANGOR
'ORTANIQUE' SOB DIFERENTES PORTA ENXERTOS**

**LAVRAS-MG
2019**

LUCAS ALEXANDRE BATISTA

**AVALIAÇÃO DE ESTRESSE HÍDRICO DO TANGOR
'ORTANIQUE' SOB DIFERENTES PORTA ENXERTOS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Agronomia, para obtenção do título de bacharel.

Dra. Ester Alice Ferreira
Orientadora

Dr. Adalvan Daniel Martins
Coorientador

**LAVRAS-MG
2019**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e ao Universo por todo auxílio, orientação, proteção, sabedoria e oportunidades ofertadas durante a graduação e vida.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), a Empresa de Pesquisas Agropecuárias de Minas Gerais (EPAMIG) pela oportunidade de realização da monografia e a Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

Aos meus pais José e Marcelia, meus irmãos Guilherme e Isabela, a minha avó Ivanete e todos meus familiares e amigos que sempre me apoiaram.

A pesquisadora da EPAMIG Ester Alice Ferreira, pela confiança e apoio na realização das atividades e orientação, e ao Adalvan Daniel Martins pela amizade e coorientação.

Aos meus orientadores ao longo da graduação, professor Moacir Pasqual, Leila Pio, e Joyce Doria.

Ao Núcleo de Estudos em Genética e Melhoramento de Plantas (GEN), e ao Núcleo de Estudos em Soja e Feijão (NESF) pelo conhecimento compartilhado e o companheirismo.

Aos meus amigos do grupo Soh Camisa 10 pelo companheirismo e aos irmãos da Republica Berro Grosso.

A todos os professores, funcionários e amigos da Universidade Federal de Lavras que contribuíram para minha formação em especial aos técnicos do Laboratório de Cultura de Tecidos Vantuil e Claret.

MUITO OBRIGADO!

RESUMO

As laranjas e as tangerinas lideram ocupam o primeiro e segundo lugar no ranking mundial das frutas cítricas mais produzidas e comercializadas, respectivamente; e são amplamente cultivadas em várias partes do Brasil e do mundo. Entretanto, as plantas cítricas em geral têm na escassez de água um importante fator limitante ao cultivo. Neste sentido, no processo de seleção de materiais genéticos tolerantes ao estresse hídrico, a identificação de metodologias rápidas e eficazes na identificação de plantas promissoras é uma demanda constante na citricultura. Dentre as alternativas disponíveis para avaliação de status hídrico tem-se como opção: a atividade celular e sua correlação com a atividade biológica; a avaliação do conteúdo de DNA, do teor de clorofila e ainda a quantificação de enzimas atuantes nas reações de oxidações nas células. Todas essas metodologias foram utilizadas na avaliação de plantas de tangerineira submetidas ao estresse hídrico buscando identificar a combinação porta-enxerto/copa mais tolerante a essa condição abiótica. Foram utilizadas plantas com aproximadamente 3 anos de idade da cultivar ‘Ortanique’ como copa enxertada sob os porta-enxertos: ‘Citrumelo Swingle’, ‘Cravo Santa Cruz’ e ‘Sunki. Estas foram submetidas ao déficit hídrico por 17 dias e foram avaliadas a cada 4 dias seguindo o delineamento experimental em blocos casualizados com duas plantas por parcela e cinco repetições por tratamento. As avaliações foram realizadas pelo biospeckle para atividade biológica, citometria para quantificação de DNA, clorofilômetro para o teor de clorofila e a eletroforese para quantificação de enzimas do sistema antioxidante: SOD, APX, CAT. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e analisados pelo software R pela análise multivariada e complementados por avaliação da análise do componente principal. Os resultados revelaram melhor desempenho dos porta-enxertos ‘Cravo Santa Cruz’ e ‘Sunki Tropical’ quando comparado ao ‘Citrumelo Swingle’ com destaque para o limoeiro ‘Cravo Santa Cruz’. E as técnicas utilizadas para avaliação da tolerância ao estresse hídrico foram eficientes e podem ser uma alternativa em pesquisas relacionadas a estresses hídrico.

Palavras-chave: Citricultura. Tangerina. Fitotecnia.

ABSTRACT

Oranges and tangerines have a leading position on first and second place, respectively, in the world ranking of the most produced and commercialized citrus fruits and are widely grown in various parts of Brazil and the world. However, shortage of water is an important limiting factor to its crop. In this sense, in the process of selection of genetic materials tolerant to water stress, rapid and effective methodologies in the identification process of promising plants is a constant demand in the citriculture. Among the available alternatives for water status evaluation, there are the following options: cellular activity and its correlation with biological activity; the evaluation of the DNA content, the chlorophyll content and the quantification of enzymes acting in the oxidation reactions in the cells. All these methodologies were used in the evaluation of tangerine plants under water stress, seeking to identify the scion/rootstock combination tolerant to this abiotic condition. Plants with approximately 3 years old of the cultivar 'Ortanique' grafted on 'Citrumelo Swingle', 'Cravo Santa Cruz' and 'Sunki' were under water deficit for 17 days and were evaluated every 4 days, stated in randomized blocks with two plants per plot and five repetitions per treatment as experimental design. The evaluations were made by biospeckle for biological activity, cytometry for DNA quantification, chlorophyllometer for chlorophyll content and electrophoresis for quantification of enzymes from antioxidant system: SOD, APX, CAT. The data were processed by software R by univariate and complemented by multivariate analysis. The results revealed a better performance of 'Cravo Santa Cruz' and 'Sunki Tropical' rootstocks compared to the 'Citrumelo Swingle' with highlight for ringpur 'Cravo Santa Cruz'. And the techniques tested on this tolerance to water stress conditions were efficient and can be an alternative in researches related to water stress.

Keywords: Citriculture, Tangerine, Crop Science.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	7
2.1 PANORAMA DA CITRICULTURA MUNDIAL	7
2.2 ORIGEM, CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....	7
2.3 TANGERINEIRAS E SEUS HÍBRIDOS	8
2.3.1. ORTANIQUE.....	9
2.4. PORTA-ENXERTOS.....	10
2.5. DIVERSIFICAÇÃO.....	11
2.6. ESTRESSE HÍDRICOS	12
2.6.1 FISIOLOGIA DO ESTRESSE HÍDRICO	13
2.6.2 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (EROs)	13
2.6.3. CLOROFILA.....	14
2.6.4. BIOSPECKLE.....	15
2.6.5. CITOMETRIA DE FLUXO	15
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 TEOR DE CLOROFILA	21
4.2 ENZIMAS	23
4.3 ATIVIDADE BIOLÓGICA	26
4.4 ANÁLISE DE COMPONENTE PRINCIPAL.....	27
5 CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

A citricultura representa o cultivo plantas cítricas e neste grupo, a produção de laranjas, limões, limas e pomelos se destacam mundialmente com a maior produção e maior área cultivada. As tangerinas ocupam o segundo lugar em importância mundial entre as frutas cítricas, com produção aproximada de 24 milhões de toneladas dos 124.246 mil toneladas das frutas cítricas produzidas no mundo. (FAO,2016).

O Brasil destaca-se como o quinto maior produtor mundial de tangerina com 970 mil toneladas da fruta, atrás apenas da China, Espanha, Marrocos e Turquia. São aproximadamente 50 mil hectares plantados principalmente nas regiões Sudeste e Sul do País, principalmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul, que juntas totalizaram 86% da produção nacional, destinadas basicamente ao consumo de fruta fresca (IBGE, 2019; FAO,2016).

Assim como em grande parte das plantas agronomicamente cultivadas, a água é um dos fatores ambientais mais relevantes para metabolismo das plantas cítricas, afetando o crescimento, o comportamento fisiológico e a produtividade (BILIBIO et al., 2010; LIMA et al., 2012). Seu excesso ocasiona sérios prejuízos podendo afetar a aeração na zona radicular e a lixiviação dos nutrientes, enquanto que sua falta pode inibir o crescimento da planta e afetar o metabolismo fisiológico (TAIZ, 2016).

Na produção de frutas cítricas, desde a implantação do pomar até colheita, as plantas estão sujeitas a contínuos e variados estresses de natureza biótica e abiótica de diferentes intensidades, associados às condições climáticas e edáficas. Nos casos de estresses hídricos, existe uma relação direta com a presença ou déficit de água no solo em épocas e quantidades apropriadas (CRUZ, 2003). O estágio fenológico em que a planta se encontra influencia na sua capacidade de percepção ao déficit hídrico e este é observado na medida em que os estômatos se fecham. Como consequência a redução da fotossíntese é agravada causando murcha das folhas ou até mesmo a queda das mesmas, o que pode comprometer o crescimento e até a produção de frutos (SENTELHAS, 2005). A falta de água ao longo de formação e desenvolvimento dos frutos quando ocorridos em épocas ocasionais promove um florescimento temporão, que reduz a produção na época comum da cultivar. (ORTOLANI et al., 1991; DOORENBOS; KASSAM, 1994).

Sabendo a importância da água para o cultivo vegetal, a utilização de parâmetros na identificação de plantas cítricas tolerantes ao estresse hídrico é importante na tomada de decisão sobre a recomendação de combinação de copas e porta-enxertos. A utilização de

metodologias e técnicas na avaliação de plantas tolerantes ao estresse hídrico devem ser consideradas antes da recomendação para plantios comerciais, afim de reduzir o risco no cultivo. Sabendo que porta-enxertos podem interferir no comportamento da copa enxertada deve se averiguar o efeito sobre esta combinação.

Diante dessa demanda, este trabalho foi conduzido com o objetivo de verificar a eficácia da avaliação da atividade celular e sua correlação com a atividade biológica; da avaliação do conteúdo de DNA, do teor de clorofila e ainda da quantificação de enzimas atuantes nas reações de oxidações nas células, como ferramentas para estudar os efeitos da restrição hídrica no comportamento de uma copa de tangerina enxertada em três porta-enxertos distintos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Panorama Da Citricultura Mundial

A produção global de laranja para safra 2018/19 deve expandir 4,2 milhões de toneladas, uma vez que o clima favorável leva a cultivos maiores no Estados Unidos. Conseqüentemente, espera-se que a fruta tanto para usos frescos quanto para processamento seja maior e as exportações de frutas frescas devem aumentar 4%. No Brasil, a previsão é de que haja um aumento de 13%, pela boa floração e conseqüente formação de frutos com o clima favorável.

Já para as tangerinas, a previsão é de um aumento de 1,5 milhão de toneladas na safra 2018/19, com expansão da cultura na China e na União Europeia compensando um declínio na Turquia. O consumo e as exportações estão em níveis recordes com o aumento da oferta disponível. A produção da China está prevista para subir 800.000 toneladas para um recorde de 22,0 milhões devido ao clima favorável e rápida expansão da área de cultivo dedicada as tangerinas.

2.2 Origem, Classificação Botânica E Distribuição Geográfica

As plantas cítricas pertencem à família *Rutaceae*, com os principais gêneros *Citrus*, *Fortunella* e *Poncirus* (CRONQUIST, 1968; MARCIDE, 1985; SWINGLE, 1967). Sua distribuição, desde os centros de origem no continente asiático para as mais diversas regiões do mundo, acompanharam os mais importantes acontecimentos históricos como as invasões

bárbaras (350 a 400 D.C) que resultaram no fim do império Romano, atribuindo nessa época sua dispersão mundial (WEBBER et al., 1967). O cultivo do citros espalhou-se pelo mundo principalmente pela sua capacidade de adaptação às condições tropicais e subtropicais, estabelecendo-se como atividade agrícola de grande importância, superada somente pela cultura da bananeira e sua respectiva indústria (FURLAN, 2014).

Desde os primeiros registros, a região do Sudeste da China (antiga Birmânia) é tida como a mais antiga no cultivo de *Citrus L.* (SPURLING, 1969). Os locais de origem variam de acordo com os relatos históricos, tendo como destaque a laranjeira doce (*Citrus sinensis*) com origem no sul da China e Indochina, a tangerina (*Citrus reticulata Blanco*) com a mesma origem da anterior, mas com migração para o Leste da Índia o limoeiro [*Citrus limom (L.) Burm. f*] com centro de origem indefinidos (CHAPOT, 1975). Trazida da Espanha por portugueses e introduzida no Brasil em 1501, a laranja passou por várias localidades e se concentrou em SP (NEVES et al., 2007).

2.3 Tangerineiras e Seus Híbridos

As tangerineiras (*Citrus reticulata Blanco*) se originaram na China e sudeste da Ásia (KOLLER; SCHAFER, 2009) e representa 6% da produção brasileira de citros. Entre as cultivares mais cultivadas são: tangerineira "Ponkan" (*C. reticulata Blanco*) e tangor "Murcott" [*C. sinensis (L.) Osbeck* × *C. reticulata Blanco*]. Há poucas plantações de tangerina Montenegrina (*C. delicious Tenore*) e tangerina 'Cravo' (*C. reticulata Blanco*) (IBGE, 2019).

Os frutos de tangerinas usualmente são de tamanho pequeno ou médio, de forma achatada, casca fina e pouco aderente, o centro do fruto é aberto e o aroma é distintivo. Em regiões de clima subtropical, com invernos frios, o fruto desenvolve coloração avermelhada, tanto interna como externamente, ou seja, na casca. As sementes têm cotilédones verdes, mas há exceções. A planta é muito resistente ao frio, enquanto o fruto não. Tem folhas lanceoladas, com ponta e com a nervura central proeminente; o pecíolo é típico, não alado. As flores são usualmente brancas, pequenas, isoladas, ou em inflorescência de pedúnculos curtos. A planta é normalmente alternante Há espécies mono e outras poliembriônicas (HODGSON, 1967; ANDERSON, 1996).

Há uma vasta adaptação climática devido a ampla diversidade interespecífica e também híbridos e variedades. As tangerineiras 'Ponkan' e 'Dancy' apresentam melhor desempenho em climas tropicais e semitropicais; e as 'Clementinas' e 'Mexericas' em regiões

subtropicais e mediterrâneos. Já as ‘Satsumas’ resistem a temperaturas de até -9°C sendo melhores em climas com inverno rigoroso (DAVIES & ALBRIGO, 1994).

Os híbridos em tangerineira podem ser criados a partir de cruzamentos controlados ou naturais. Como exemplos deste último, tem-se alguns tangores – originados a partir de cruzamentos de tangerinas com laranjas verdadeiras, como ‘Murcott’ e ‘Temple’ (DAVIES & ALBRIGO, 1994). Já a hibridação controlada é possível graças a possibilidade de utilizar plantas mães monoembriônicas como por exemplo os tangelos (tangerina x pomelo) Clementina e King (HODGSON, 1967; MOREIRA & PIO, 1991). Também pode ser usada planta mãe poliembriônica, como foi feito no Brasil (DONADIO, 1984), utilizando Satsuma e obtendo-se alguns híbridos de interesse potencial, principalmente alguns que se mostraram tolerantes à CVC (LI, 1997).

Os dados da FAO (2016) reportam ainda que houve mudanças importantes na produção de tangerinas entre os principais países produtores. Assim, enquanto o Brasil, nos últimos vinte anos, mais que dobrou sua produção, o Japão sofreu uma redução de cerca de 60%, embora ainda se mantenha como terceiro entre os principais produtores, atrás da China e Espanha, onde as tangerineiras ganharam muita importância nos últimos 20 anos. A Espanha mais que dobrou sua produção, aumentando sua participação no total produzido de 10 para 13%.

2.3.1. Ortanique

O tangor ‘Ortanique’ [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] com tangerineira (*C. reticulata* Blanco) é citado por Oliveira & Scivittaro (2011) e Oliveira et al. (2010) tendo como o primeiro local descoberto a Jamaica. No Rio Grande do Sul é destaque na produção deste híbrido cuja área plantada ultrapassa 100 hectares sendo também cultivada em outras regiões do mundo como cita Saunt (1990) algumas regiões como Honduras Austrália, Chipre e África do Sul. As plantas são vigorosas, de rápido crescimento, entram precocemente na fase produtiva, os ramos são resistentes e não possuem espinhos, os brotos são vigorosos e pouco ramificados, a folhagem é densa e as folhas apresentam forma geralmente elíptica, tamanho médio e pecíolo alado. As flores são completas, com grãos-de-pólen e sacos embrionários férteis, porém auto incompatíveis. Os frutos são de tamanho médio a grande, com peso médio de 210 g; forma ligeiramente achatada na parte distal, onde ocorre a formação de um pequeno umbigo; casca aderida à polpa, com coloração laranja ligeiramente avermelhada e textura

granulosa devido à presença de glândulas salientes de óleo; sem sementes quando cultivados em pomares isolados de outras cultivares; possuem boa resistência ao transporte.

A maturação dos frutos é tardia. A colheita pode ser realizada de meados de julho ao final de outubro. Os frutos conservam-se adequadamente nas plantas até o mês de outubro, sem perda de qualidade. Quando colhidos, podem ser conservados sob refrigeração por mais de um mês. É uma cultivar bastante produtiva, dependendo das condições de cultivo, pode atingir 40 toneladas por hectare. (EMBRAPA 2010).

2.4. Porta-Enxertos

Porta enxerto é uma das partes que integra a planta cítrica e que podem influenciar nas características culturais, fitossanitárias, produtividade e qualidade e produção de frutos. Diferentes porta enxertos em mesmas condições ambientais resultam em respostas que são compatíveis a constituição genética destes e sua interação com o ambiente. As características desejáveis nas matrizes de um porta-enxerto são: alta taxa de poliembrião (produzir descendentes com mesmas características genéticas); grande número de sementes, resistência as principais doenças (gomose, tristeza e declínio); quantidade e qualidade dos frutos e tolerância à seca (CARLOS et al., 1997; FADEL, 2015). A escolha do porta-enxerto também influencia nas características quantitativa dos frutos tais como tamanho, quantidade de suco, sólidos solúveis e sólidos totais, amargor e teor de sais minerais tamanho, peso, coloração e espessura da casca (HIROCE, 1990; DI GIORGI et al., 1993; STUCHI et al., 1996; CARLOS et al., 1997, ,SHARMA et al.,2016).

Além de influencias nas características físico-químicas, organolépticas e sensoriais, os porta-enxertos têm diferentes comportamentos quanto à disponibilidade de água, destacando-se o limoeiro ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osbeck) como tolerante ao estresse hídrico quando comparado a outras cultivares (CARLOS et al., 1997; GONÇALVES et al., 2016). Já o ‘Citrumelo Swingle’ (*Citrus paradisi* Macf. x *Poncirus trifoliata* Raf.) é um importante porta-enxerto para a produção comercial de citros. Nos anos 40, esse híbrido começou a ser testado como porta-enxerto para variedades comerciais de citros, sendo introduzido no Brasil logo após esse período. Desde então, o citrumelo Swingle despontou em diversos experimentos em praticamente todas as regiões citrícolas mundiais como um ótimo porta-enxerto alternativo (CITROCLIMA, 2005). Estima-se que mais de 50% das plantas cítricas cultivadas na Flórida estão sobre esse porta-enxerto (CASTLE E STOVER, 2001). No Brasil, o maior produtor de

cítricos do mundo, o citrumelo Swingle é o segundo porta-enxerto mais utilizado e vem ganhando maior importância devido à sua tolerância à Morte Súbita dos Citros (MSC).

2.4.1. Diversificação

A diversificação nos porta-enxertos é uma necessidade atual nos pomares cítricos brasileiros onde predomina o uso do limoeiro ‘Cravo’ que se destaca-se como o mais utilizado, devido a inúmeros benefícios. Porém a não diversificação e o grande uso do mesmo nos pomares brasileiros torna-se preocupante, e já marcou a história da citricultura brasileira com a incidência da Morte Súbita dos Citros doença que trouxe grande impacto econômico ao dizimar pomares do Triângulo Mineiro. A manutenção de pomares neste único porta-enxerto torna os pomares brasileiros vulneráveis a ocorrência de novas doenças que podem comprometer a produção.

A diversificação dos porta-enxertos é importante também na garantia da diversidade genética, fator importante surgimento de novas enfermidades. (MEDINA et al., 1998; SAU et al., 2018). A baixa variabilidade genética aumenta a vulnerabilidade às enfermidades, podendo estas causar a redução da produção, o aumento de custos, dos tratamentos culturais, além de reduzir a vida útil dos pomares (ESPINOZA-NÚÑEZ, 2010; POMPEU JÚNIOR; BLUMER, 2009).

O limoeiro ‘Cravo’, mesmo sendo o mais utilizado como variedade porta-enxerto no Brasil, com boa produção e qualidade de frutos, na maioria das combinações é susceptível ao ‘Declínio’, que tem causa controversa, possivelmente pelo estresse sofrido pela planta, e a ‘Morte súbita dos citros’ com causa incerta, mas suspeita-se de um vírus transmitido por vetor. Além disso, é susceptível ao exocorte e xiloporose (POMPEU JÚNIOR, 1991; AGÊNCIA DE DEFESA E INSPEÇÃO AGROPECUÁRIA DE ALAGOAS – ADEAL, 2018).

Como alternativa de porta-enxertos disponíveis tem-se o ‘Cravo Santa Cruz’ (*Citrus × limonia*) originado à partir da mutação da gema do ‘Cravo Santa Bárbara’. Apresenta poliembrião elevada, resultando em maior uniformidade dos cavaleiros e formação de copas menores, boa tolerância à seca, suscetibilidade à gomose de *Phytophthora*, ao declínio e à morte súbita dos citros (EMBRAPA, 2015). Comparando a seleção de limoeiro ‘Santa Cruz’ com outras três seleções dessa cultivar obtidas na Embrapa Mandioca e Fruticultura, observaram que este produz um maior número de sementes por fruto e tem poliembrião mais elevada, apresentando bom potencial de emprego em viveiros comerciais de citros (SOARES FILHO et al., 1999).

O ‘Sunki Tropical’ (*Citrus sunki* HORT. EX TAN.) induz boa qualidade de frutos quando combinada a variedades de tangerineira, laranjeira e pomeleiro, sua produção é precoce, apresenta alta tolerância à seca, resistente a gomose causada por *Phytophthora*, tolerante ao vírus da tristeza e frutos com poucas sementes, mas tras o inconveniente de induzir a produção de frutos de um a dois anos após o limoeiro ‘Cravo’ e o ‘Volkameriano’ (SOARES FILHO et al., 2002, 2003, 2004; EMBRAPA, 2015).

No Sergipe, os citrandarins ‘Índio’, ‘Riverside’ e ‘San Diego’ foram considerados alternativas promissoras ao limoeiro ‘Cravo’ comum, por induzirem à formação de copa de laranjeira ‘Pêra’ menor e com elevada eficiência produtiva nos primeiros anos (CARVALHO et al., 2016).

A história da citricultura vem mostrando a importância da diversificação na utilização de porta-enxertos, além da necessidade de variedades melhoradas visando à tolerância e/ou resistência a estresses bióticos e abióticos (SANT’ ANNA, 2009).

No campo, há uma preferência dos citricultores por variedades que sejam tardias, pois cultivares medianas ou precoces apresentam menores produtividades e também múltiplas floradas, fatores que dificultam o controle de pragas e doenças. Porém, variedades precoces tem a vantagem de produzir em épocas que a oferta de mercado é menor, facilitando a comercialização e aumentando a lucratividade (CAPUTO, 2012).

2.6. Estresse Hídrico

Tirar as plantas das condições ótimas para seu desenvolvimento é considerado um estresse o que pode ser induzir mudanças nas suas estruturas fisiológicas sendo estas reversíveis ou não (LARCHER, 2004). Segundo FAROOQ et al., 2009, o estresse abiótico mais interfere no metabolismo das plantas é o déficit hídrico e seus efeitos podem ser manifestos em qualquer estágio fenológico da planta, sendo variável em função da severidade e duração do estresse. ().

O estresse hídrico em plantas cítricas está relacionado ao porta-enxerto, porta-enxerto (COHEN & NAOR, 2002; SYVERTSEN & LEVY, 2005) e estão relacionadas às suas características de sistema radicular, como a profundidade, arquitetura e condutividade hidráulica das raízes (MEDINA et al., 1998). Sob deficiência hídrica, a interação entre porta-enxerto e copa pode se tornar mais significativa (DONATO et al., 2007). Alguns autores reportam também que , o estresse hídrico pode acentuar a sintomatologia de algumas doenças,

principalmente as vasculares, como CVC (Clorose Variegada dos Citros) e o declínio dos Citros (BERGUER, 1998, MEDINA, 2002; MACHADO et al., 2007).

2.6.1 Principais fatores ligados ao estresse Hídrico

A falta de água é um fator que afeta a planta em vários aspectos organizacionais afetando o crescimento, alterando o metabolismo, diminuindo o potencial produtivo (PASSIOURA, 1997). Mudanças climáticas podem provocar alterações na disponibilidade hídrica para plantas, e em casos de restrição hídrica pode ser o fator ambiental limitante do crescimento e produtividade (CHAVES et al., 2003; HAMDY et al., 2003).

As plantas submetidas ao estresse hídrico podem desenvolver mecanismos para reestabelecer seu estado de equilíbrio, sendo este chamado de tolerância ou aclimação (MITTLER, 2006; SUZUKI;). Esses asseguram sua capacidade de tolerância, e são ativadas vias metabólicas que sintetizam proteínas e outros compostos para auxiliar no processo de aclimação (SHULAEV et al., 2008). Essas proteínas e compostos induzem respostas bioquímicas e fisiológicas que envolvem o fechamento estomático, redução no crescimento celular e na fotossíntese e ativação da respiração (YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SHINOZAKI, 2007).

2.6.2 Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)

O déficit hídrico leva à redução da fotossíntese e aumento da respiração nas plantas o que, por sua vez, aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) em inglês (Reactive Oxygen Species – ROS). EROs, são produzidos nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomas como o oxigênio single ($^1\text{O}_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido (O_2^-), e radicais hidroxila (HO) capazes de causar danos oxidativos aos lipídios, proteínas e ao DNA (APEL; HIRT, 2004; MØLLER; JENSEN; HANSSON, 2007).

Para diminuir os sintomas citotóxicos dos EROs as plantas desarmam um sistema antioxidativo em que enzimas específicas agem neutralizando a ação desses radicais, começando com a superóxido dismutase (SOD), que desmuta o radical O_2^- para H_2O_2 ; este sofre ação de enzimas como: a catalase (CAT), responsável pela transformação do H_2O_2 em H_2O e O_2 , e as peroxidases, ascorbato peroxidase (APX) e guaiacol peroxidase (GPX) que reduzem o H_2O_2 a H_2O (APEL; HIRT, 2004).

2.6.3. Clorofila

A clorofila é o pigmento mais numeroso entre os seres vivos cujo principal papel é a absorção da luz solar e sua transformação para energia química no período da fotossíntese, este processo é fundamental para a vida na terra. A dois sistemas na fotossíntese, as reações luminosas, que acontecem quando as plantas são iluminadas, e reações de fixação de carbono, que ocorrem na luz e escuridão. Em reações luminosas, a clorofila e outros pigmentos das células fotossintetizantes absorvem a energia luminosa e a conservam na forma química de dois produtos ricos em energia, o ATP e o NADPH (DANIELA BORRMANN, 2009).

As plantas verdes contêm principalmente clorofila a, que corresponde a aproximadamente 75 % dos pigmentos verdes totais, e a clorofila b, que é um pigmento suplementar, na razão aproximada de 3:1, embora razões entre 2,5 e 4,0 já tenham sido reportadas na literatura. A proporção varia com as condições de crescimento e fatores ambientais, etapa no ciclo de vida da planta e espécie vegetal. Por exemplo, plantas que crescem na sombra apresentam uma quantidade elevada de clorofila b, o que pode ser explicado com base nas suas propriedades de absorção da luz. A clorofila b é capaz de absorver fortemente entre 450 e 480nm, enquanto a clorofila a absorve fortemente entre 400 e 450nm (GROSS, 1991).

Durante o ciclo celular das plantas a clorofila é sintetizada e degradada na mesma proporção de modo que a planta entra em senescência, embora haja algumas exceções em alguns vegetais nas quais permanecem “sempre-verdes” (DANIELA BORRMANN, 2009).

A primeira etapa da degradação da clorofila é iniciada na senescência por fatores endógenos, mas pode ser influenciada por fatores externos, tais como déficit hídrico, redução de luz, mudanças de temperatura, aumento do teor de etileno ou por fatores internos, como aumento de permeabilidade da membrana e mudança de pH. Esses fatores interferem no processo natural, levando a aumentar ou retardar a degradação da clorofila (TAKAMIYA et al., 2000; HEATON & MARANGONI, 1996).

O processo inicial da degradação resulta em catabólitos coloridos, verde amarronzados que ainda possuem propriedades fotodinâmicas. O processo final da degradação envolve a formação de produtos incolores, fluorescentes e não-fluorescentes, que se diferenciam pela localização das duplas ligações nos anéis pirrólicos (GANDUL-ROJAS et al., 2004).

O acúmulo de catabólitos fotoreativos produz espécies reativas de oxigênio que induziriam a morte celular. Portanto, o metabolismo funcional da clorofila, incluindo biossíntese e degradação, é importante para prevenir o acúmulo desses intermediários. As

propriedades fotodinâmicas da clorofila, que possibilitam a conversão da energia luminosa em energia química durante a fotossíntese podem se tornar uma ameaça durante a senescência. Por isso, a degradação da clorofila pode ser considerada um processo de detoxificação (HÖRTENSTEINER et al, 2004). A própria clorofila na sua forma livre é fotossensível e atua como pró-oxidante, provocando a morte prematura da célula (PRUŽINSKÁ et al., 2003).

2.6.4. Biospeckle

Rabal et al. (1998) classifica o speckle como uma luz a laser que pode ser notado iluminando um material biológico, tais como sementes, folhas, raízes, caules, ou qualquer outro fenômeno biológico. O biospeckle somente é observado com delineamento estatístico sobre imagens pré obtidas objetivando traçar uma resposta concreta sobre o fenômeno. A introdução do speckle dinâmico como fenômeno capaz de mensurar a atividade biológica em tecidos animais e vegetais tem referido um grande avanço desde a década de 1970, quando BRIERS (1975) propôs a medição da microcirculação do sangue em tecido humano. Nos trabalhos que se seguiram buscou-se dominar a técnica, além de descobrir novas aplicações para o uso do laser e do speckle dinâmico como instrumento de medição da atividade biológica. A combinação, atualmente disponível, de sistemas de aquisição e processamento digital de imagens, constitui uma ferramenta importante para os pesquisadores desenvolverem novas técnicas de avaliação não destrutivas. Segundo BERGKVIST (1997), os materiais biológicos apresentam uma característica peculiar em relação aos outros materiais, uma vez que eles, apresentam-se como meios de grande dispersão da luz. Esses materiais apresentam uma grande complexidade no que se refere à interação da luz com seus diversos constituintes, o que é amplificado pela complexa movimentação interna. A água é um constituinte básico de materiais biológicos, não absorve a luz do laser de HeNe a 632nm. Em experimentos, e de forma intuitiva, observa-se que a umidade está relacionada com a transmissão da luz pelo material biológico.

2.6.5. Citometria de Fluxo

A citometria de fluxo é uma ferramenta que analisa parâmetros ópticos de partículas coradas em suspensão (DOLEŽEL, 1997). É uma ferramenta usada para estimar o conteúdo de DNA, mensurar níveis de ploidia, caracterizar híbridos somáticos e analisar o ciclo celular,

que são úteis em diversas áreas da biotecnologia vegetal (YANPAISAN et al., 1999; DOLEŽEL e BARTOS, 2005).

Segundo JOHNSTON et al. (1999), para estimar o conteúdo de DNA de uma espécie é necessário o uso de núcleos de animais ou de plantas como padrões. O uso do padrão interno minimiza o erro de análise, pelo fato de amostras serem processadas em conjunto com o padrão. Conseqüentemente, os picos entre as posições do padrão e da espécie são constantes, reduzindo o erro nas médias comparativas entre os picos da amplificação linear na quantificação do DNA em uma única amostra entre o padrão e a espécie em questão (DICKSON et al., 1992; DIAMOND e DE MAGGIO, 2000).

Com a citometria de fluxo é possível observar a diferença do conteúdo de DNA dentro de uma mesma espécie como já foi observado por Buitendijk et al., 1997. Embora o conteúdo de DNA por genoma da espécie seja constante, podem ocorrer exceções. Em muitos casos, a variação intraespecífica se dá pela variação dos cromossomos, aneuploidias, presença de cromossomos supranumerários, perdas ou duplicações de segmentos dos cromossomos. Isso pode ter grande efeito no conteúdo de DNA do genoma da espécie (BENNETT e SMITH, 1976; OHRI, 1998).

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida durante os meses de fevereiro e março de 2016; em casa de vegetação do pomar da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Os parâmetros ambientais de temperaturas máximas e mínimas do ar e precipitação registrados durante o período de condução do experimento são apresentados na Figura 1.

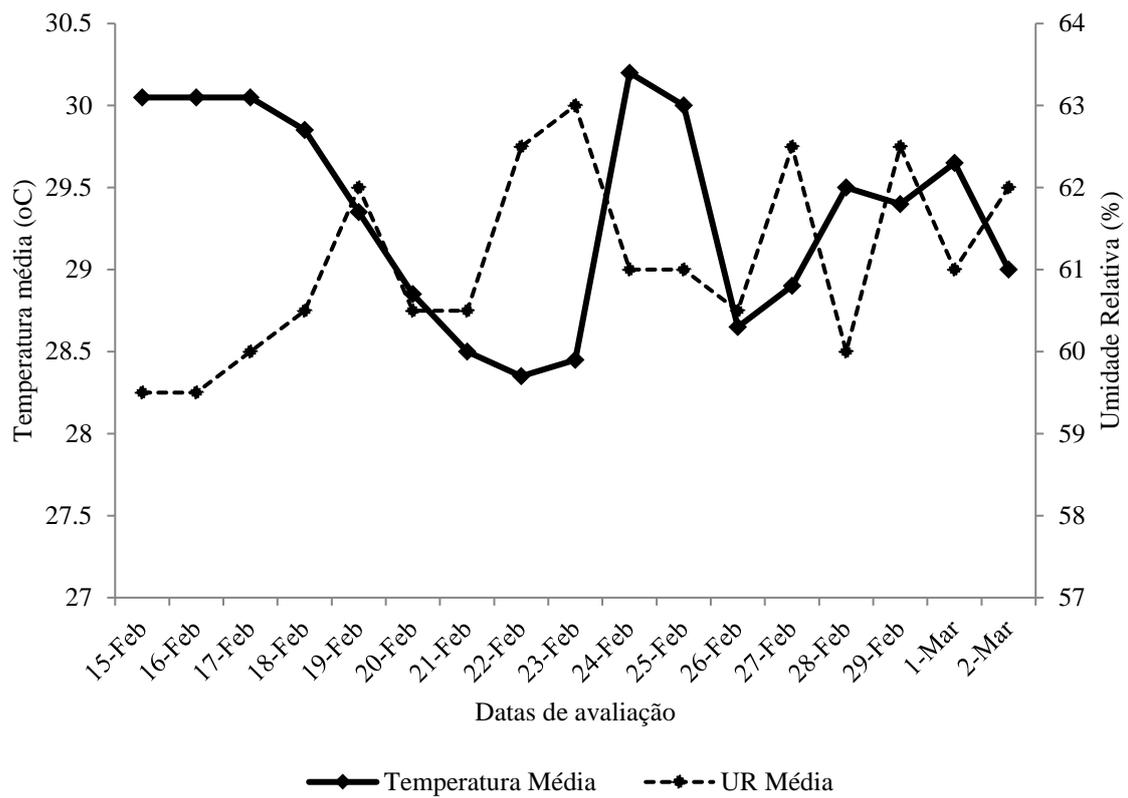


Figura 1- Valores médios de Temperatura (°C) e precipitação (mm) registrados durante o período de avaliação de plantas de tangerina ‘Ortanique’ em diferentes porta enxertos.

Foram avaliadas plantas da cultivar ‘Ortanique’ [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck x *Citrus reticulata* Blanco] enxertada os porta enxertos: ‘Citromelo Swingle’, ‘Cravo Santa Cruz’ e ‘Sunki Tropical’. As combinações e os respectivos tratamentos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Relação de tratamentos e combinação de copa e porta-enxertos para variedade Ortanique.

Tratamentos	Combinação (Copa com Porta-Enxerto)	Irrigação
1	Ortanique x Cravo Santa Cruz	Irigado
2	Ortanique x Cravo Santa Cruz	Não-Irigado
3	Ortanique x Sunki Tropical	Irigado
4	Ortanique x Sunki Tropical	Não-Irigado
5	Ortanique x Citrumelo Swingle	Irigado
6	Ortanique x Citrumelo Swingle	Não-Irigado

Foram selecionadas plantas uniformes com 24 meses de idade, não apresentaram diferenças quanto à altura e diâmetro de porta-enxerto, com valores médios, respectivos de 12,53cm; 0,67 cm.

As plantas foram transplantadas para recipientes de 5L contendo substrato composto de terra de subsolo e areia na proporção de 3:1. O solo foi analisado e apresentou 27% argila; 53% areia e 20% silte e as seguintes características: pH (H₂O) = 5,8; P = 1,2 mg dm⁻³; K = 45 mg dm⁻³; Ca⁺² = 1,3 cmol dm⁻³; Mg⁺² = 0,4 cmol dm⁻³; Al⁺³ = 0,1 cmol dm⁻³; H+Al = 2,3 cmol dm⁻³; SB = 1,8 cmol dm⁻³; t = 1,9 cmol dm⁻³; T = 4,1 cmol dm⁻³; V = 44%; MO = 1,5 dag kg⁻¹; P-rem = 16 mg L⁻¹. Uma vez que os níveis de nutrientes foram satisfatórios, foi realizada uma adubação básica seguindo as recomendações de Mattos JR. et al (2009) e para determinar a quantidade de água a ser aplicada, determinou-se também a capacidade de campo do solo, pelo método de laboratório (REICHARDT, 1988).

Os tratamentos compostos pelas plantas irrigadas, foram irrigados para manter o solo na capacidade de campo, e para a indução do estresse hídrico foi suspensa a irrigação nos tratamentos não irrigados. O experimento seguiu o delineamento em blocos casualizados com duas plantas por parcela e cinco repetições, constituindo um fatorial 2x5x5 sendo: 2 níveis de estresse hídrico x 3 combinações porta enxerto/copa, fatorial triplo com parcela subdividida no tempo considerando as 4 épocas de avaliação que correspondeu ao período entre 15 de fevereiro à 2 de março, intercalados de 4 em 4 dias.

As plantas de cada tratamento foram avaliadas por clorofila através de leituras direta no clorofilometro Falker ®.

Para a determinação do conteúdo de DNA: foram utilizadas duas amostras de aproximadamente 30 mg de folhas jovens da variedade de copa. Cada amostra foi comparada com amostra foliar de soja (*Glycine max*), padrão de referência de DNA - 2,50 picogramas (pg) (DOLEZEL et al., 1994). As folhas foram cortadas em placas de Petri contendo 1 ml de tampão Marie composto por 50 glucose mM; NaCl 50 mM; KCl 50 mM; 50 mM Na₂.EDTA; 50 mM citrato de sódio; 0,5% de Tween 20, 50 mM de HEPES (pH 7,2), 1% (m / v) de polivinilpirrolidona-10 (PVP-10) (MARIE E BROWN, 1993), para obter um extrato de núcleos. Este processo foi realizado sob gelo triturado para manter a integridade dos núcleos. Posteriormente, o material foi aspirado usando uma pipeta Pasteur e filtrado em uma malha de 50 µm. Ao filtrado foram adicionados 25 µg / mL do iodeto de fluorocromo propídio. Após 5 minutos de adição do fluorocromo, as amostras já poderiam ser analisadas. Duas leituras de cada amostra foram realizadas, sendo lidos 10 mil núcleos para estimar o conteúdo de DNA em pg. Os histogramas foram obtidos no citômetro FacsCalibur® (Becton Dickinson, Biosciences, San Jose, Califórnia) com o programa Cell Quest. O conteúdo de DNA nuclear das plantas foi estimado usando a razão entre as intensidades de fluorescência dos núcleos G1 do padrão de referência e os núcleos G1 da amostra, multiplicando essa relação pela quantidade de DNA do padrão de referência. Os histogramas obtidos foram analisados no software WinMDI 2.8.

Na análise eletroforética de isoenzimas foram coletadas amostras foliares das plantas nos respectivos tratamentos na última época de avaliação e armazenadas à temperatura de -86 °C. O material foi macerado em almofariz pré-resfriado com nitrogênio líquido e adicionado antioxidante polivinilpirrolidona (PVP). As amostras de 100 mg do material macerado nas quais foram adicionados 300 µL do tampão Tris HCl 0,2M pH 8,0 e β-mercaptoetanol 0,1%. O material foi homogeneizado em vortex e mantido por 12 horas em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm por 30 minutos, a 4 °C. A eletroforese foi realizada em sistema de géis de poliacrilamida em sistema descontínuo (7,5% gel separador e 4,5% gel concentrador). O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi o Tris-Glicina pH 8,9. Foram aplicados 60 µL do sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética efetuada a 120 V por 5 horas. Após o término da corrida, os géis foram revelados para as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), conforme ALFENAS et al. (2006).

Análise da atividade biológica pela técnica do biospeckle laser: foi realizada iluminando-se duas amostras de cada tratamento. As leituras foram feitas na região de uma folha completamente expandida. Luz coerente iluminava a amostra e interagia com o material vegetal, gerando padrões de interferência que foram capturados por um microscópio digital,

posicionado na região anterior do tubo, caracterizando uma configuração “backscattering”. A luz coerente foi provida por um laser diodo de cor verde, comprimento de onda de 532 nm e corrente em torno de 66 mA. Uma lente a uma distância de 0,75m da amostra foi utilizada para ampliar o feixe de luz, objetivando iluminar uma região maior da amostra (RIBEIRO et al., 2014). O microscópio portátil digital utilizado foi da marca Dinolite, modelo AM 413zt. Para cada amostra foram capturadas 128 imagens em escala de cinza, com resolução de 1.280 x 1.024 pixels e intervalo de 0,08 s entre frames. Essas imagens foram processadas utilizando-se o software MatLab. Os resultados foram expressos de maneira quantitativa pela diferença dos valores absolutos (do inglês, Absolute Value of the Differences – AVD).

Para análises estatísticas foi utilizado o software RStudio team 2016, aplicando análise de parcelas subdivididas no tempo e análise de correlação multivariada no modelo de PCA, e para criação dos gráficos o pacote ggplot2 e Excel 2019.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo do resultado de análise de variância para todas as variáveis analisadas é apresentado no Quadro 2, onde verifica-se que houve efeito significativo para os para clorofila a, clorofila total e AVD de Renan.

Quadro 2 – Resumo da análise de variância para teor de clorofila a (Cl a), teor de clorofila total (Cl total), e AVD de Renan.

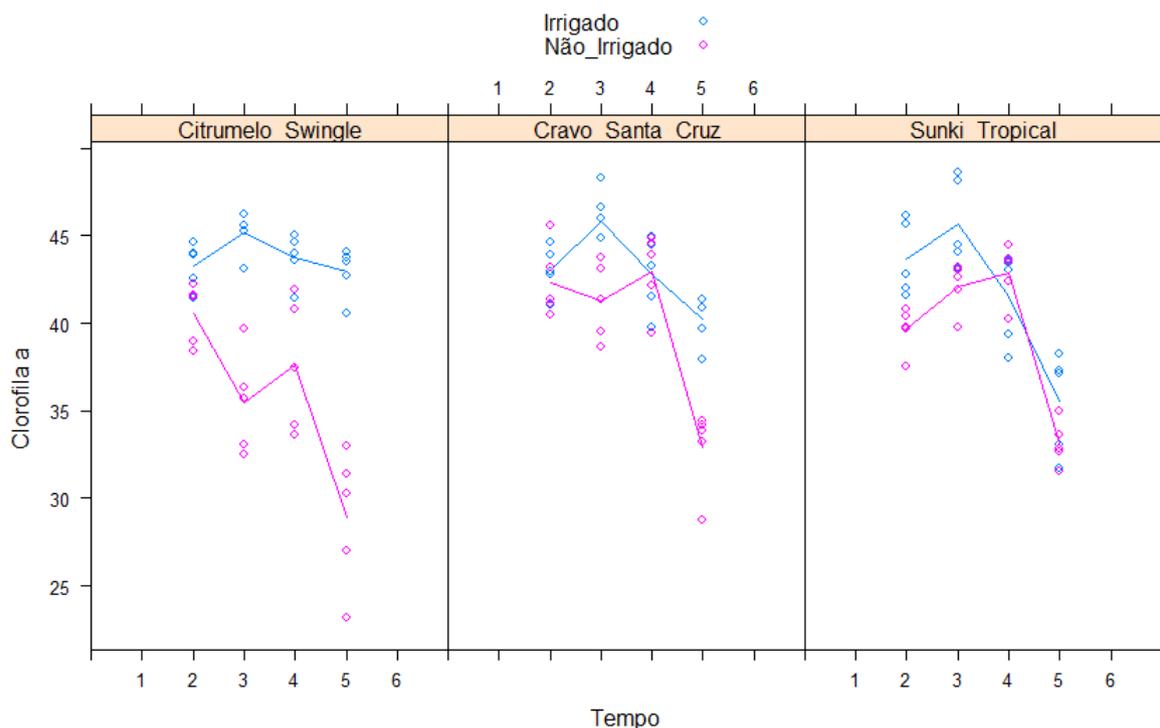
Fontes de Variação	GL	QM		
		Cl a	Cl T	AVD R
Porta enxerto	1	87.077	169.55	51.070
Irrigação	1	230.524	478.50	47.843
Época	3	98.817	216.10	9.452
Época*porta enxerto	3	41.706	81.06	5.768
Época*irrigação	3	77.954	209.65	7.924
Época*porta enxerto* irrigação	3	44.467	82.61	3.844

Não houve diferença estatisticamente significativa para a variável conteúdo de DNA. Entretanto, foi verificado menores valores na condição de estresse hídrico, não irrigado, sendo mais expressivo ao longo do tempo.

4.1 Teor de Clorofila

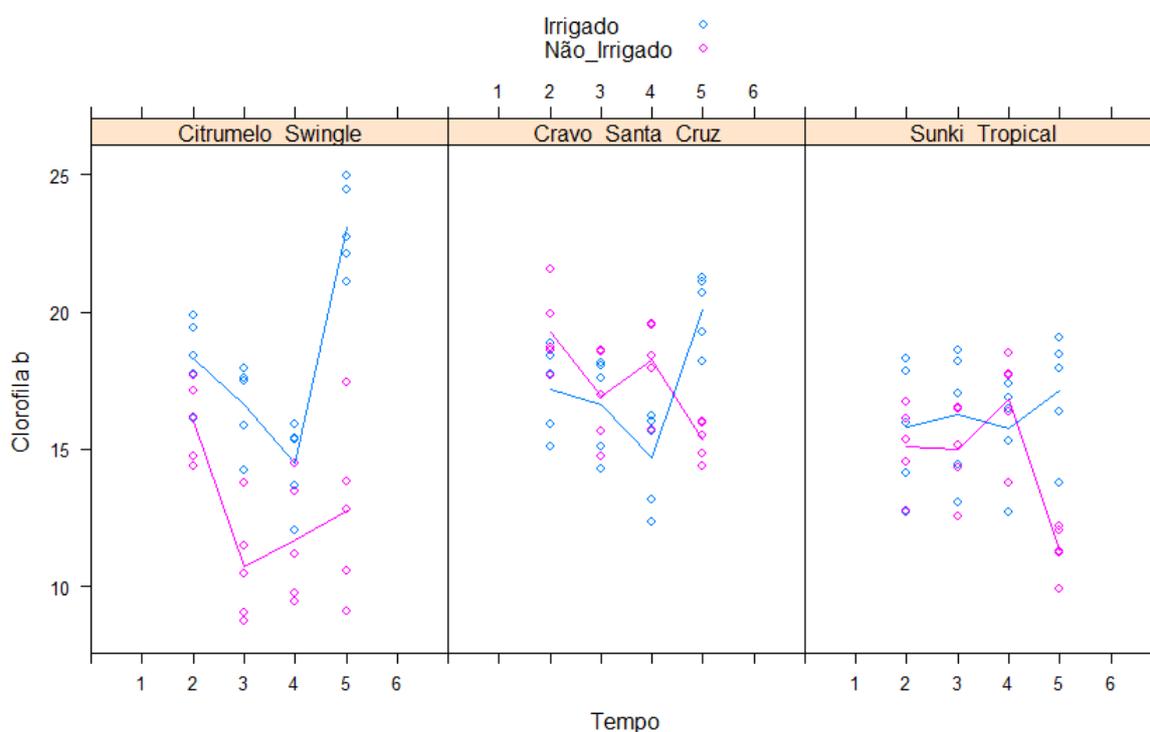
Segundo Lui & Chen, (1998) a clorofila a é mais suscetível à degradação oxidativa, e no presente trabalho a clorofila a sofreu variação significativa ao longo do tempo, mostrando-se sensível aos níveis de estresse mais elevados. A copa enxertada no porta-enxerto Citrumelo Swingle mostrou-se mais sensível ao estresse devido à alta discrepância entre as médias das plantas irrigadas e não irrigadas. Já as plantas enxertadas em Cravo Santa Cruz demonstraram estabilidade até a época três de avaliações, mas houve declínio para clorofila a na quarta época de aproximadamente 25% entre as médias. Plantas enxertadas em Sunki Tropical foram mais estáveis ao estresse ao longo do tempo, em relação a clorofila a, apresentando médias estatisticamente consideradas iguais configurando maior estabilidade para clorofila a em plantas sob estresse.

Figura -1 Médias dos teores de clorofila a na folha da copa Ortanique sobre diferentes porta-enxertos irrigados e não irrigados ao longo do tempo expresso em número de avaliações de 4 em 4 dias.



Apesar de não ter havido diferença significativa para a clorofila b observou se uma tendência a diminuir essa variável a medida que aumenta o nível de estresse ao longo do tempo. Segundo Roca et al., 2004 as plantas são capazes de transformar clorofila b em clorofila a através da ação da clorofila b redutase para minimizar efeitos estressantes.

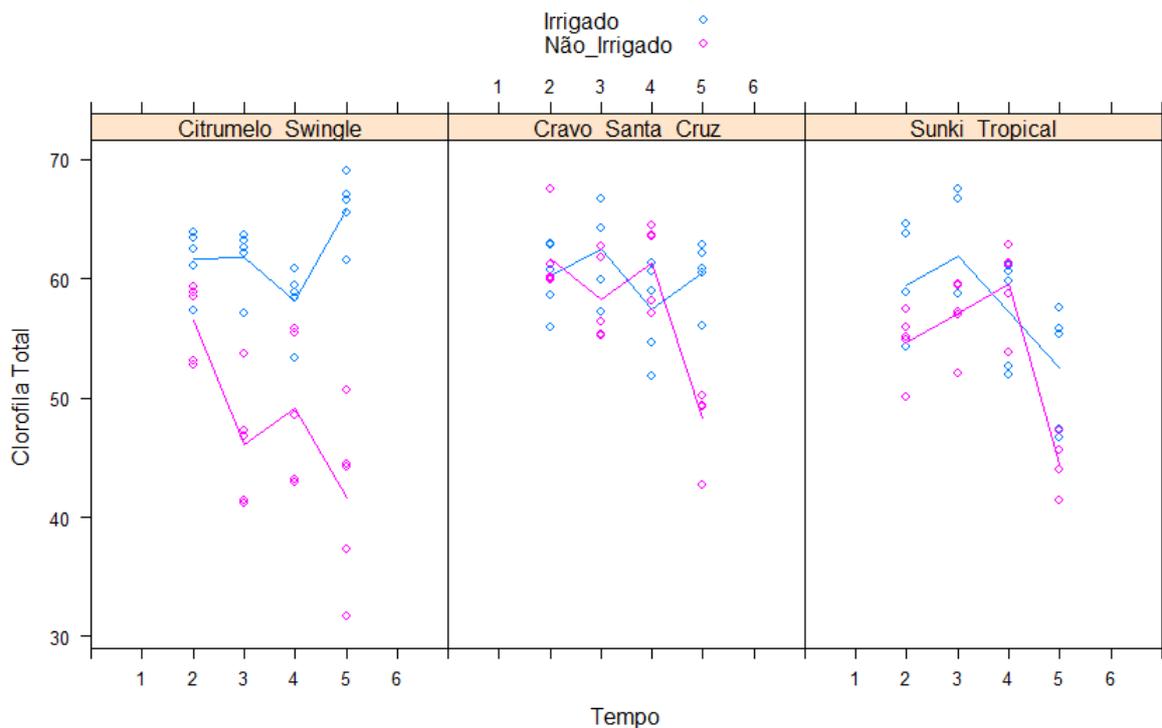
Figura -2 Médias dos teores de clorofila b na folha da copa Ortanique sobre diferentes porta-enxertos irrigados e não irrigados ao longo do tempo, expresso em número de avaliações de 4 em 4 dias no período do experimento.



A etapa inicial da degradação das clorofilas em tecidos senescentes é iniciada por fatores externos, como o estresse hídrico, luminosidade, alterações térmicas, níveis aumentados de etileno ou a combinação destes fatores. Isto resulta em alterações químicas, enzimáticas e, possivelmente de expressão gênica, que conduzem a uma redução da concentração de clorofilas (STREIT, NIVIA MARIA et al. 2005). O conteúdo total de clorofila na folha foi estatisticamente diferente entre as plantas irrigadas e não irrigadas. A copa Ortanique enxertada no porta-enxerto Citrumelo Swingle demonstrou altamente sensível

ao longo do tempo quando comparado com os outros, embora as copas Ortanique enxertadas em Cravo Santa Cruz e Sunki Tropical também demonstrarem sensibilidade na quarta época. O comportamento dessa variável pode ser uma ferramenta para monitoramento do estresse, identificação dos níveis de tolerância ao estresse.

Figura -3 Medias dos teores de clorofila Total na folha da copa Ortanique sobre diferentes porta-enxertos irrigados e não irrigados ao longo do tempo, expresso em número de avaliações de 4 em 4 dias no período do experimento.



4.2 Enzimas

O comportamento enzimático da copa avaliado na última época de avaliação demonstrou que o Citrumelo Swingle apresenta limitação na produção da enzima catalase na qual sua produção foi menor quando o porta-enxerto estava sem irrigação, enquanto que os porta-enxertos Cravo Santa Cruz e Sunki Tropical demonstraram-se com capacidade de produção da enzima, sugerindo que essas plantas através do mecanismo enzimático tentou suprimir e tolerar os efeitos da falta de água na planta. Algumas enzimas são essenciais para a

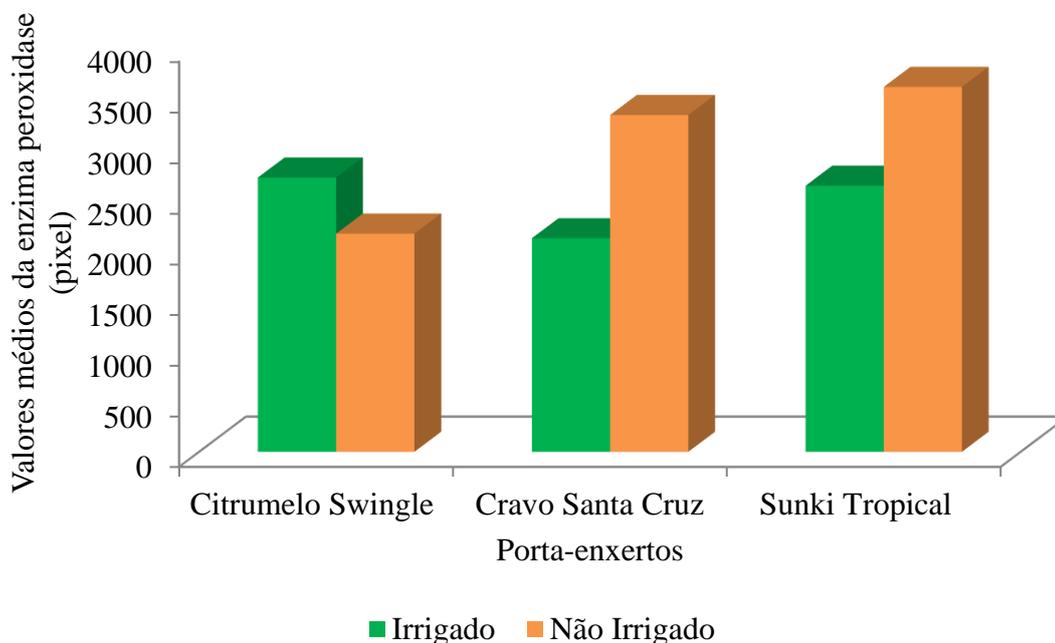
desintoxicação das células em plantas estressadas como por exemplo a catalase que desmuda moléculas de H_2O_2 em H_2O e O_2 (NASCIMENTO, J. B., & BARRIGOSI, J. A. F. 2014).

Figura- 4 Valores dos teores da enzima catalase na folha da copa Ortanique sobre diferentes porta-enxertos irrigados e não irrigados obtidos na última época de avaliação.



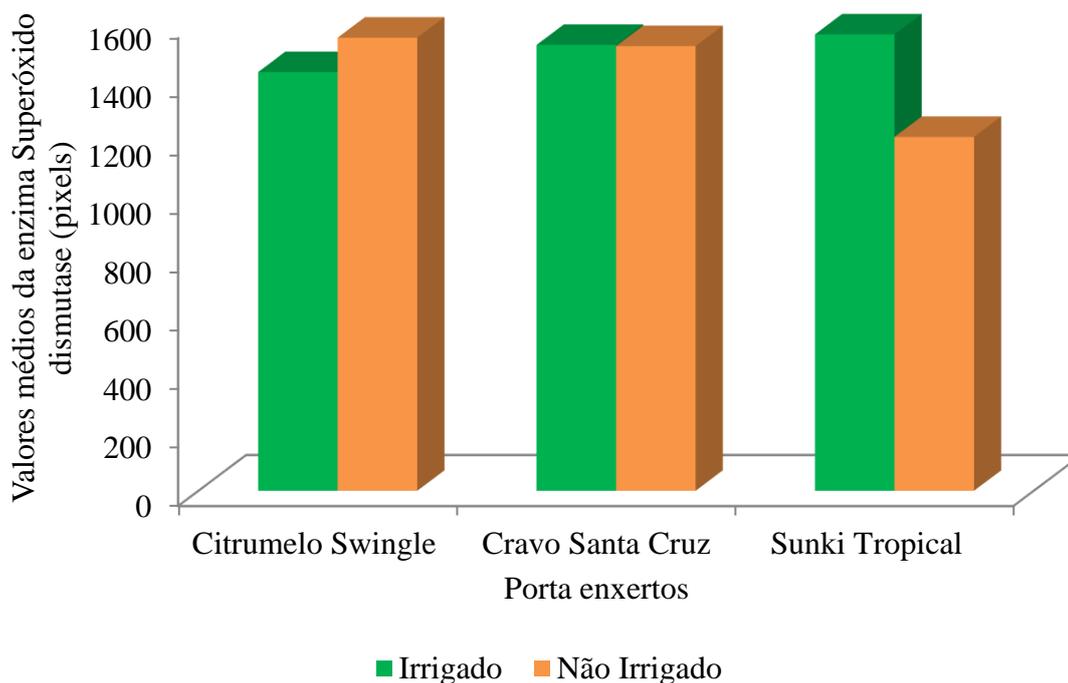
Quanto à quantificação da peroxidase houve uma tendência de maior produção da enzima em plantas enxertadas em Cravo Santa Cruz e Sunki Tropical. Segundo Uliana, C. V.; Riccardi, C. S.; Yamanaka, H, 2008 em altas concentrações do substrato H_2O_2 ocorre a inibição do sítio catalítico da enzima que é o que ocorre quando a planta passa por um estresse hídrico para poder tolerar momentaneamente. Os resultados sugerem que as plantas enxertadas nos porta-enxertos Cravo Santa Cruz e Sunki Tropical são mais eficientes em eliminar os EROs presentes na folha, sobressaindo à plantas enxertadas no porta-enxerto Citrumelo Swingle.

Figura - 5 Valores dos teores da enzima Peroxidase na folha da copa Ortanique sobre diferentes porta-enxertos irrigados e não irrigados obtidos na última época de avaliação.



Os teores de superóxido dismutase (SOD) foram inferiores comparados aos teores de Peroxidase e Catalase. A SOD considerada a primeira linha de defesa contra as EROs e que catalisam a dismutação de dois radicais O_2^- , gerando H_2O_2 e O_2 . Essas enzimas participam da modulação do nível de H_2O_2 em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos (MITTLER, 2002; BHATTACHARJEE, 2010). Os dados foram visualmente iguais sugerindo que o porta enxerto não teve interferência na modulação dos EROs analisando as plantas tanto sob restrição hídrica quanto em plantas com a capacidade de campo estável na variável enzima SOD.

Figura - 6 Valores dos teores da enzima Superóxido Dismutase na folha da copa Ortanique sobre diferentes porta-enxertos irrigados e não irrigados obtidos na última época de avaliação.

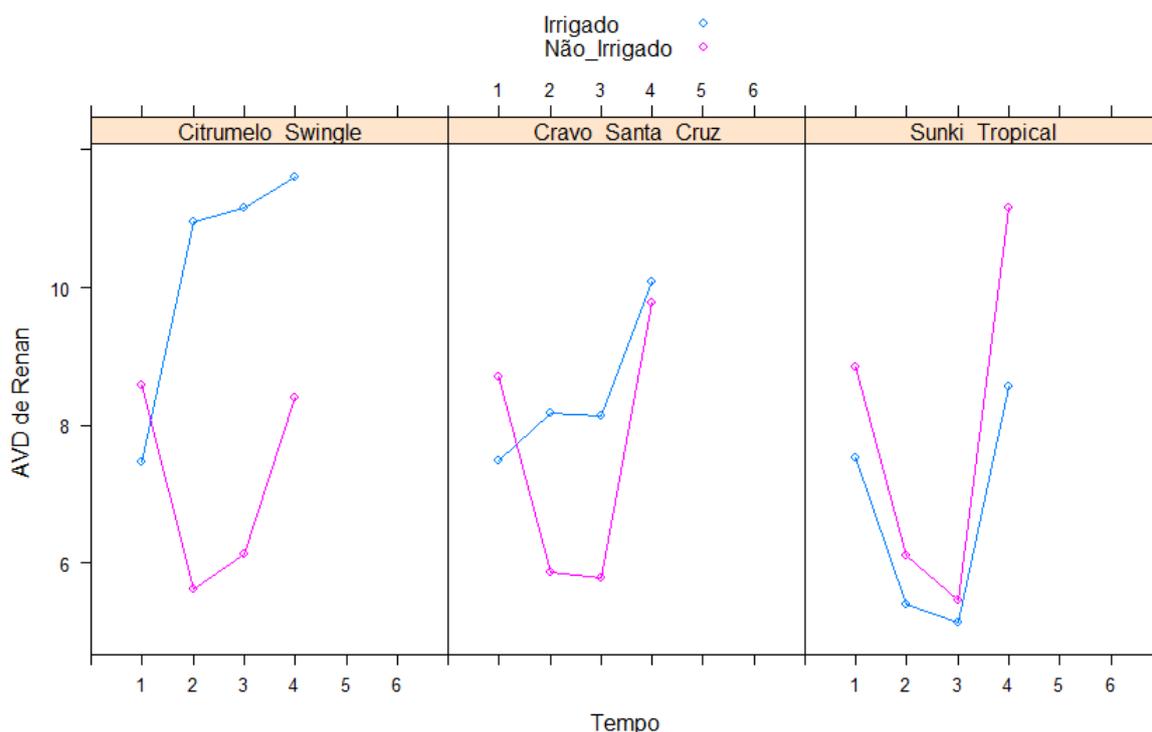


4.3 Atividade Biológica

Nos resultados em que a atividade biológica foi observada, demonstram que a planta enxertada em Citrumelo Swingle apresentaram atividade biológica menor ao longo do tempo em plantas sobre restrição hídrica, enquanto que planta enxertadas em Cravo Santa Cruz verificou-se uma tendência ao decréscimo ao até a terceira época de avaliação, mas entre a terceira e quarta época um aumento na atividade, podendo sugerir que a planta aumentou a atividade biológica para manter o metabolismo em funcionamento, tendência também observada para a enzima peroxidase. Já o Sunki Tropical apresentou uma atividade biológica estatisticamente igual para as três primeiras épocas, exceto para a época quatro, na qual a planta estava mais estressada, comportamento semelhante ao observado para Clorofila Total. Todas as plantas sobre o estresse nas primeiras duas épocas de avaliação abaixaram sua atividade biológica, e todas elas também aumentaram entre a terceira e quarta época, destacando-se o Sunki Tropical e o Cravo Santa Cruz, isso sugere que a planta impulsionou sua atividade biológica para poder se manter viva. Segundo BERGKVIST (1997), essa movimentação proveniente da atividade metabólica, pode ser maior ou menor, dependendo do estágio de maturação, crescimento ou deterioração do material biológico, bem como da

quantidade de água, temperatura e iluminação.

Figura- 7 Valores médios dos coeficientes de AVD de Renan na folha da copa Ortanique sobre diferentes porta-enxertos irrigados e não irrigados ao longo do tempo expresso em número de avaliações de 4 em 4 dias no período do experimento.

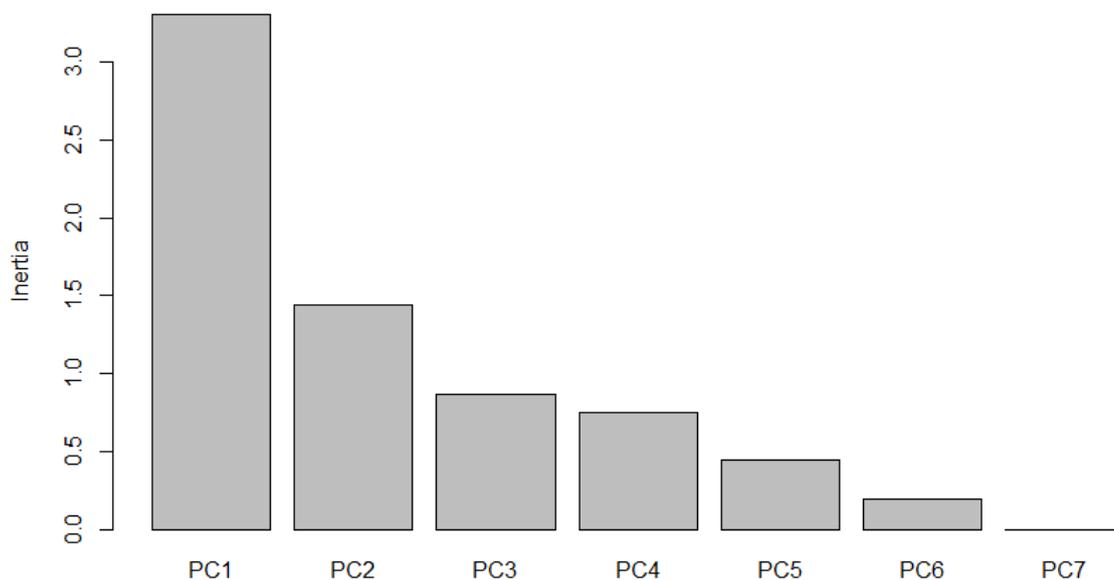


4.4 Análise de Componente Principal

Na análise dos componentes principais (Principal Component Analysis - PCA), foi observado a correlação geral entre todas as variáveis do experimento.

A prc analisa a significância da média de cada variável analisada separadamente. Analisando todas as variáveis presente no experimento verificou-se que as variáveis porta-enxerto e irrigação influenciaram em 67,78%, com a maior porcentagem da influência na explicação dos dados, foi construindo o gráfico da PCA a partir desse dois índices de significância.

Figura – 8 PRC, porcentagem de significância de cada variável dos dados analisados em matriz de correlação.



PC1 = Porcentagem da correlação entre o porta-enxerto e as demais variáveis, PC2 = Porcentagem da correlação entre a Irrigação e as demais variáveis, PC3 = Porcentagem da correlação entre a clorofila a e as demais variáveis, PC4 = Porcentagem da correlação entre a clorofila b e as demais variáveis, PC5 = Porcentagem da correlação entre a clorofila total e as demais variáveis, PC6 = Porcentagem da correlação entre quantidade de DNA e as demais variáveis, PC7 = Porcentagem da correlação entre a atividade biológica e as demais variáveis.

A PCA foi construída baseando-se na média dos dados de todas as plantas avaliadas, direcionando as variáveis nos eixos X e Y positiva e negativamente, comparando-as umas com as outras em função do porta-enxerto e da irrigação, sendo representado pelo eixo X o porta-enxerto e pelo eixo Y a irrigação, configurando uma análise de correlação multivariada. Observando o eixo X comparando todos os porta-enxertos entre si, as variáveis clorofila a, b, total, quantidade de DNA e irrigação, demonstra que eles são inversamente proporcionais aos porta-enxertos e tem comportamentos diferentes evidenciada pelos vetores em vermelho, o porta-enxerto influência nas características fisiológicas da copa já citado anteriormente por CARLOS et al., 1997, DI GIORGI et al., 1993, SHARMA et al., 2016. Quanto ao eixo Y que compara a irrigação com as demais variáveis entre todos os porta-enxertos, podemos perceber que a clorofila a foi diretamente proporcional, ou seja, tratamentos irrigados e não irrigados tendem a ter um maior teor de clorofila a, já que a clorofila b tem capacidade de se

Porta-enxertos							
1	Santa Cruz	Irrigado	Epoca 1	5	Santa Cruz	Não Irrigado	Epoca 1
2	Santa Cruz	Irrigado	Epoca 2	6	Santa Cruz	Não Irrigado	Epoca 2
3	Santa Cruz	Irrigado	Epoca 3	7	Santa Cruz	Não Irrigado	Epoca 3
4	Santa Cruz	Irrigado	Epoca 4	8	Santa Cruz	Não Irrigado	Epoca 4
9	Sunki Tropical	Irrigado	Epoca 1	13	Sunki Tropical	Não Irrigado	Epoca 1
10	Sunki Tropical	Irrigado	Epoca 2	14	Sunki Tropical	Não Irrigado	Epoca 2
11	Sunki Tropical	Irrigado	Epoca 3	15	Sunki Tropical	Não Irrigado	Epoca 3
12	Sunki Tropical	Irrigado	Epoca 4	16	Sunki Tropical	Não Irrigado	Epoca 4
17	Citumelo Swingle	Irrigado	Epoca 1	21	Citumelo Swingle	Não Irrigado	Epoca 1
18	Citumelo Swingle	Irrigado	Epoca 2	22	Citumelo Swingle	Não Irrigado	Epoca 2
19	Citumelo Swingle	Irrigado	Epoca 3	23	Citumelo Swingle	Não Irrigado	Epoca 3
20	Citumelo Swingle	Irrigado	Epoca 4	24	Citumelo Swingle	Não Irrigado	Epoca 4

5 CONCLUSÕES

A cultivar Ortanique teve melhor desempenho em condição de restrição hídrica sobre os porta-enxertos Cravo Santa Cruz e Sunki Tropical que são mais estáveis e superiores ao Citrumelo Swingle segundo as técnicas usadas nesta avaliação.

O limoeiro Cravo Santa Cruz destacou-se como o melhor porta-enxerto por ser o melhor e apresentar maior desempenho durante o período de estresse.

As técnicas utilizadas para avaliação são ferramentas úteis que podem auxiliar na caracterização da tolerância ao estresse hídrico com ênfase para análise de clorofila, pela rapidez na resposta.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE DEFESA E INSPEÇÃO AGROPECUÁRIA DE ALAGOAS. **Morte Súbita dos Citros**. Maceió, 2018. Disponível em: <<http://www.defesaagropecuaria.al.gov.br/saude-vegetal/morte-subita-dos-citros>>.

ALFENAS, A. C. Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos. 2. ed. **Viçosa, MG: UFV**, 2006.

ANDERSON, C. Variedades cultivadas en el area del rio Uruguay. In: **MANUAL PARA PRODUCTORES DE LARANJA Y MANDARINA DE LA REGION DEL RIO URUGAY**. Argentina: INTA, 1996.

APEL, K.; HIRT, H. **Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress and signal transduction**. Annual Review of Plant Biology, v. 55, p. 373–99, 2004.

BENNETT, M.D.; SMITH, J. B. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Annals of Botany**, v.274, p. 228-271, 1976.

BERGUER, R. D. **A causa e o controle do declínio dos citros**. Revista Laranja, Cordeirópolis, v. 19, n. 1, p. 79-90, 1998.

BERGKVIST, A. Biospeckle-based study of the line profile of light scattered in strawberries. 1997. 62p. **Dissertation (Master in Science) - Faculty of Technology at Lund University, Lund**.

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfi eld: **Science Publishers**, 2010. p.1-30.

Bilibio, C.; Carvalho, J. de A.; Martins, M.; Rezende, F. C.; Freitas, W. A.; Gomes, L. A. A. **Função de produção da berinjela irrigada em ambiente protegido**. Irriga, v.15, p.10-22, 2010.

Borrmann, D, Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabólitos incolores, Tese para obtenção do grau de DOUTOR, UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, FACULDADE DE

CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Área de Bromatologia, 2009.

BRIERS, J.D. Wavelength dependence of intensity fluctuations in laser speckle patterns from biological specimen. **Optics Communications, Amsterdam**, v.13, n.3, p.324-326, Mar. 1975.

BUITENDIJK, J. H.; BOON, E.J.; RAMANNA, M. S. Nuclear DNA content in twelve species of *Alstroemeria* L. and some of their hybrids. **Annals of Botany**, v.79, p.343-353, 1997.

CAMBRAIA, J. Aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos dos estresses nutricionais em plantas. In: NOGUEIRA, R. J. M. C.; ARAÚJO, E. de L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. (eds.). Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, 2005. cap. 2, p. 95-104

CAPUTO, M. M. Avaliação de doze cultivares de laranja doce de maturação precoce na região sudoeste do Estado de São Paulo. 2012. 84 p. **Tese (Doutorado em Fitotecnia)** - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

CARLOS, E. F., STUCHI, E. S., DONADIO, L. C. Porta- enxertos para a citricultura paulista. **Boletim citrícola, Jaboticabal: Funep**, n.1, p.47, 1997.

CARVALHO, L. M. de; et al. Porta-enxertos promissores, alternativos ao limoeiro 'Cravo', nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.51, n.2, p.132-141, 2016.

CASTLE, B.; STOVER, E. Update on use of Swingle citrumelo rootstock. **Agricultural Science**. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, USA. 4 p. 2001.

CHAPOT, H. **The citrus plant**. In: HAFLIGER, E. (ed). Citrus. Basle: Ciba-Geigy, 1975..

CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30 p. 239–264, 2003.

Cohen, S. Naor, A. The effect of three rootstocks on water use, canopy conductance and hydraulic parameters of apple trees and predicting canopy from hydraulic conductance. **Plant, Cell and Environment** 25: 17–28, 2002.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**, London: Nelson and Sons, v.1, 1968.

Cruz, A. C. R. (2003). Consumo de água por cultura de citros cultivada em latossolo vermelho amarelo. **Esalq/Usp**.

CUNHA, G. R.; BERGAMASCHI, H. Efeitos da disponibilidade hídrica sobre o rendimento das culturas. In: _____. **Agrometeorologia aplicada à irrigação**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1992. p. 125.

DAVIES, F.S., ALBRIGO, L.C. Citrus. **Crop Production Science in Horticulture - 2**. (Cab International Inglaterra) 254p.

DIAMOND, R. A.; DEMAGGIO, S. In living color – Protocols in flow cytometry and cell sorting. **'D-flowering' – The flow cytometry of plant DNA**, v.6, p.390-419, 2000.

DI GIORGI, F.; IDE, B. Y.; DIB, K., et al. **Qualidade da laranja para industrialização**. Laranja, Cordeirópolis, v.14, n.1, p.97-118, 1993.

DICKSON, E. E.; ARUMUGANATHAN, K.; KRESOVICH, S. Nuclear DNA content variation within the Rosaceae. **American Journal of Botany**, v.79, p.1081-1086, 1992.

DONADIO, L.C. 1994. Segregation in hybrids from 'Satsuma' x Natal. In; **PROCEEDING INTERNATIONAL SOCIETY OF CITRICULTURE**, 6, 1994, São Paulo Proceedings... v.1, p.4-5.

Donato SLR, Pereira CS, Barros ZDJ, De Siqueira DL, Salomão LCC. 2007. Respostas de combinações de variedades copa e porta-enxerto de citros à deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 42: 1507–1510.

DO ESPÍRITO SANTO, Rafael. Utilização da Análise de Componentes Principais na compressão de imagens digitais. **Einstein** (16794508), v. 10, n. 2, 2012.

DOORENBOS, J.; KASSAM, A. H. Efeito da água no rendimento das culturas. Tradução: GHEYI, H. R. Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba, 1994. 306 p. (**Estudos da FAO, Irrigação e Drenagem**, 33).

DOLEŽEL, J.; BARTOS, J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Annals of Botany**, v.95, p.99-100, 2005.

DOLEŽEL, J. Application of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal Applied Genetics**, v.38, n.3, p.285-302, 1997.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, Clima Temperado 'ORTANIQUE': OPÇÃO PARA MESA E PRODUÇÃO DE SUCO, 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Raiz & Fruto. **Informativo da Embrapa Mandioca e Fruticultura**, Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2015, Ano 27, n. 74, 12p.

ESPINOZA-NÚÑEZ, E. Porta-enxertos para limeira ácida 'Tahiti' cultivada com e sem irrigação. 2010. 110 p. **Tese (Doutorado em Fitotecnia)** - Universidade de São Paulo (Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz), Piracicaba, 2010.

FADEL, A. L. Desempenho horticultural de laranjeira 'Valência' sobre onze porta-enxertos na região norte do Estado de São Paulo. 2015. 105 p. **Tese (Doutorado em Fitotecnia)** - Universidade de São Paulo (Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz), Piracicaba, 2015.

FAO. (2016). Citrus Fruit Fresh and Processed Statistical Bulletin 2016. Statistical Bulletin, 77. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i8092e.pdf>.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., & S.M.A. Fujita, D. B. Plant drought stress: effects , mechanisms and management To cite this version : Review article. **Agronomy for Sustainable Developmen**, (2009).

FIGUEIREDO, J. O.; HIROCE, R. Influência do porta-enxerto na qualidade do fruto e aspectos nutricionais relacionados à qualidade. In: **SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS- PORTA-ENXERTOS**,1, 1990, Jaboticabal. FUNEP, 1990. p. 111-121.

FURLAN, G, T. Cultura citrícola global e inovação, o caso greening. 2014. 40 p. **Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Gestão do Agronegócio)** - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas, Limeira, 2014.

GANDUL-ROJAS, B., ROCA, M., MÍNGUEZ-MOSQUEIRA, M.I. Chlorophyll and carotenoid degradation mediated by thylakoid-associated peroxidative activity in olives (*Olea europaea*) cv. Hojiblanca. **Journal of Plant Physiology**, v.161, p. 499507, 2004.

GONÇALVES, L. P.; ALVES, T. F. O.; MARTINS, C. P. S. et al. Rootstock-induced physiological and biochemical mechanisms of drought tolerance in sweet orange. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v.38, p.1-12, 2016.

GRAÇA, J; BARROS, J, C, da S, M; VIEIRA, A; FILHO, L, M, R; IDE, C, L. A importância da diversificação do porta-enxerto para a citricultura. **Pesagro-Rio**, Niterói, n.44, p.1-2, 2015.

GROSS, J. Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids. New York: **Van Nostrand Reinhold**, 1991. 351p.

HAMDY, A.; RAGAB, R.; SCARASCIA-MUGNOZZA, E. Coping with water scarcity: water saving and increasing water productivity. **Irrigation and Drainage**, v. 52, p. 3–20, 2003.

HEATON, J.W., MARANGONI, A.G. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. **Trends of Food Science and Technology**, Amsterdam, v.7, n.1, p.8-15, 1996.

HODGSON, R.W. Horticultural varieties of citrus. In: REUTHER, W.; WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (ed). **The citrus industry**. Berkeley: **University of California**, 1967. v.1, p.431-459.

HÖRTENSTEINER, S. The loss of green color during chlorophyll degradation: A prerequisite to prevent cell death? **Planta**, v.219, n.2, p.191-194; 2004.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2014. Produção Agrícola Municipal.

IBGE. **Indicadores IBGE**: Estatística da produção agrícola setembro 2012. 76p.

KOLLER, Otto Carlos; SCHAFER, Gilmar. Origem da Cultura da Tangerineira, Importância no Mundo e no Brasil. In: Otto Carlos Koller. (Org.). Citricultura Cultura de Tangerineiras: Tecnologia de Produção, Pós-Colheita e Industrialização. 1ed.Porto Alegre: **Editora Rígel**, 2009, v. 1, p. 13-24. Disponível em: <
<http://www.ufrgs.br/agronomia/materiais/6936830001.pdf> >.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**, São Carlos: Rima artes, 2004. 531p.

LI, W. Avaliação do comportamento de variedades de copas e porta-enxertos à Clorose Variegada dos Citros. Jaboticabal, 1997. 103p. **Tese (Doutorado)**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

Lima, M. E.; Carvalho, D. F.; Souza, A. P.; Rocha, H. S.; Guerra, J. G. M. Desempenho do cultivo da berinjela em plantio direto submetida a diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, p.604-610, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662012000600003>.

LUI, M.H.; CHEN, B.H. Relationship between chlorophyll a and β -carotene in a lipid-containing model system during heating. **Food Chemistry**, v.61, n.1/2, p.41-47,1998.

MACHADO, E. C.; OLIVEIRA, R. F.; RIBEIRO, R. V.; MEDINA, C. L.; STUCHI, E. S.; PAVANI, L. C. Deficiência hídrica agrava os sintomas fisiológicos da clorose variegada dos citros em laranja 'Natal'. **Bragantia**, v. 66, n. 3, p. 373-379, 2007.

MARCIDE, J.M.O. Nomenclatura botánica de los cítricos. **Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos**, Valência, n.259-260, p.71-81, 1985.

Medina CL, Machado EC. 1998. Trocas gasosas e relações hídricas em laranja 'Valência' enxertada sobre limoeiro 'Cravo' e trifoliata e submetida à deficiência hídrica. **Bragantia** 57: 15–22.

MEDINA, C. L. Fotossíntese, relações hídricas e alterações bioquímicas em laranja 'Pêra' com CVC e submetida à deficiência hídrica. **Tese (Doutorado)** – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002, 147 p.

MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C; PINTO, J. M. Fotossíntese de laranja 'Valência' enxertada sobre quatro porta-enxertos e submetida à deficiência hídrica. **Bragantia**. Campinas, v.57, n.1. 1998.

MITTLER, R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 15–19, 2006.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant in Science**, v.9, p.405-410, 2002. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S1360138502023129/1-s2.0-S1360138502023129-main.pdf?_tid=18fce1ee-f799-11e1-9e230000aacb35f&acdnat=1346877451_8e3e01c159c2ce299d9a230bd1cd09e8>. doi: 10.1016/S1360-1385(02)02312-9.

MØLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 459–481, 2007.

MOREIRA, C.S., PIO, R.M. RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A.A. eds. Melhoria de Citros. In: **Citricultura brasileira**. 2 ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.116-152.

Mudas Cítricas **Citrolima**, 2005, Citrumelo Swingle, disponível em: <http://www.citrolima.com.br/portaenxertos/swingle.htm>.

NASCIMENTO, Jacqueline Barbosa; BARRIGOSI, José Alexandre Freitas. O papel das enzimas antioxidantes na defesa das plantas contra insetos herbívoros e fitopatógenos. 2014.

NEVES, M. F.; LOPES, F. F.; TROMBIN, V. G.; AMARO, A. A.; NEVES, E. M.; JANK, M.S. Caminhos para a citricultura. Uma agenda para manter a liderança mundial. São Paulo: **Editora Atlas**, 2007. 110p.

OHRI, D. Genome size variation and plant systematics. **Annals of Botany**, v.82, p.75- 83, 1998.

Oliveira, RP; Scivittaro, WB 2011. Cultivo de Citros sem Sementes. Pelotas, Brasil, **Embrapa de Clima Temperado**. 378 p. (Sistema de Produção 21). Disponível em <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/940971/1/Sistemas21.pdf>.

Oliveira, RP; Scivittaro, WB; Schroder, EC; Esswein, FJ. 2010. Produção de citros orgânico no Rio Grande do Sul. (Sistema de Produção 20). Pelotas, Brasil, **Embrapa de Clima Temperado**. 296 p. Disponível em <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/938021/1/15850.pdf>.

ORTOLANI, A.; PEDRO JÚNIOR, M. J.; ALFONSI, R. R. Agroclimatologia e o cultivo de citros. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J.; AMARO, A. A. (Eds.) **Citricultura Brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1991. p. 153-195

PASSIOURA, J. B. Drought and drought tolerance. In: BELHASSEN, E. (Ed.) Drought tolerance in higher plants. **Kluwer Academic Press: Netherlands**, 1997, p. 1-7.

POMPEU JÚNIOR, J. Porta enxertos. In: RODRIGUES, O.; VIEGAS, F.; POMPEU JUNIOR, J.; AMARO, A. A. **Citricultura brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v. 2, p.265-276.

POMPEU JÚNIOR, J.; BLUMER, S. Híbridos de trifoliata como porta-enxertos para a laranja Valência. **Revista Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Brasília, v.44, n.7, p.701-705, 2009.

PRUŽINSKÁ, A., TANNER, G., ANDERS, I., ROCA, M., HÖRTENSTEINER, S. Chlorophyll breakdown: Pheophorbide a oxygenase is a Rieske-type iron-sulfur protein, encoded by the accelerated cell death 1 gene. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.100, n.25, p.15259-15264; 2003.

RABAL, H.J.; BRAGA JÚNIOR, R.A.; TRIVI, M.R.; FABBRO, I.M.D. O uso do laser na agricultura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 27., 1998, Poços de Caldas. **Anais... Poços de Caldas: Sociedade Brasileira de Engenharia**, 1998.

Ribeiro RV, Espinoza-Núñez E, Pompeu Junior J, Mourão Filho FAA, Machado EC. 2014. Citrus rootstocks for improving the horticultural performance and physiological responses under constraining environments. In: **Improvement of Crops in the Era of Climatic Changes**. 1–37.

RIBEIRO, K. M. et al. Continuous, high-resolution biospeckle imaging reveals a discrete zone of activity at the root apex that responds to contact with obstacles. **Annals of botany**, v. 113, n. 3, p. 555–63, 1 fev. 2014.

RStudio Team (2016). **RStudio: Integrated Development for R**. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

Sant' Anna, Humberto Lucas Santos de Aspectos fisiológicos de variedades de citros submetidas à deficiência hídrica progressiva Cruz das Almas 84 f. 2009, **Tese (Mestrado em Fitotecnia)** -UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA, CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2009.

ROCA M., JAMES, C., PRUŽINSKÁ, A., HÖRTENSTEINER, S., THOMAS, H., OUGHAM, H. Analysis of the chlorophyll catabolism pathway in leaves of an introgression senescence mutant of *Lolium Temulentum*. **Phytochemistry**, v.65, p.1231-1238; 2004.

SAU, S.; GHOSH, S. N.; SARKAR, S.; GANTAIT, S. Effect of rootstocks on growth, yield, quality, and leaf mineral composition of Nagpur mandarin (*Citrus reticulata* Blanco.), grown in red lateritic soil of West Bengal, India. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.237, p.142-147, 2018.

Saunt, J., (1990). *Citrus Varieties of the World* (Norwich, England: Sinclair Int., Ltd.).

SENTELHAS, P. C. Agrometeorologia dos citros. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. (Eds.) **Citros**. Campinas: 2005. Cap. 11.

SHARMA, R. M.; DUBEY, A. K.; AWASTHI, O. P.; KAUR, C. Growth, yield, fruit quality and leaf nutrient status of grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.): Variation from rootstocks. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.210, p.41-48, 2016.

SHULAEV, V.; CORTES, D.; MILLER, G.; MITTLER, R. Metabolomics for plant stress response. **Physiologia Plantarum**, v. 132, p. 199–208, 2008.

SOARES FILHO, W. dos S.; DIAMANTINO, M. S.; MOITINHO, E. D. B.; CUNHA SOBRINHO, A.P. da; PASSOS, O. S. ‘Tropical’: uma nova seleção de tangerina ‘Sunki’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v. 24, n. 1, p. 127-132, 2002.

SOARES FILHO, W. dos S.; MORAIS, L. S.; CUNHA SOBRINHO, A. P.; DIAMANTINO, M. S. A. S.; PASSOS, O. S. ‘Santa Cruz’: uma nova seleção de limão ‘Cravo’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.21, n.2, p. 222-225, 1999.

SPURLING, M. B. Citrus in the Pacific area. In: INTERNACIONAL CITRUS SYMPOSIUM, 1., 1968, **Riverside**. Proceedings... Riverside: University of California, 1969. v. 1, p. 93-101.

STREIT, Nivia Maria et al. As clorofilas. *Ciência Rural*, v. 35, n. 3, 2005.

STUCHI, E. S.; SEMPIONATO, O. R.; SILVA, J. A. A. da. Influência dos porta-enxertos na qualidade dos frutos cítricos. **Laranja**, Cordeirópolis, v.17, n.1, p.159-178, 1996.

SUZUKI, N.; MITTLER, R. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. **Physiologia Plantarum** v. 126, p. 45–51, 2006.

SWINGLE, W. T.; REECE, P. C. The botany of citrus and its wild relatives. In: Reuther, W.; Webber, H.J.; Batchelor, L.D. (Eds) **The citrus industry**. Riverside: University of California, v.1, p.190-430, 1967.

Syvvertsen J, Levy Y. 2005. Salinity interactions with other abiotic and biotic stresses in citrus. **HortTechnology** 15: 100–103.

TAKAMYIA, K., TSUCHIYA, T., OHTA, H. Degradation pathway(s) of chlorophyll: what has gene cloning revealed? **Trends in Plant Science**, v.5, n.10, p.426-431, 2000.

ULIANA, C. V.; RICCARDI, C. S.; YAMANAKA, H. Investigation on electrochemical behavior of peroxidase enzyme in the presence of hydrogen peroxide and 5-aminosalicylic acid. **Eclética Química**, v. 33, n. 1, p. 57-62, 2008.

USDA. (2015). Citrus: World Markets and Trade. **United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service**, July, 1–11. [https://doi.org/10.1016/S1097-8690\(11\)70006-3](https://doi.org/10.1016/S1097-8690(11)70006-3).

WEBBER, H, J.; REUTHER, W.; LAWNTON, H.W. History and development of the citrus industry. In: REUTHER, W.; WEBBER, J.J.; BATCHELOR, L. D. (Ed). **The citrus industry**. Berkeley: University of California, v.1, p.1-39, 1967.

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 2, p. 221–227, 2007.

YANPAISAN, W.; NICHOLAS, J.; KING, G.; DORAN, P.M.; Flow cytometry of plant cells with applications in large scale bioprocessing. **Biotechnology Advances**, v.17, p.3-27, 1999.