

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR



Respostas fisiológicas e moleculares associadas ao secamento parcial de raiz e irrigação deficitária controlada em laranjeira doce (*Citrus sinensis* L. Osb.)

MAURÍCIO DA SILVA AMORIM

ILHEUS-BAHIA-BRASIL
2019

MAURÍCIO DA SILVA AMORIM

Respostas fisiológicas e moleculares associadas ao secamento parcial de raiz e irrigação deficitária controlada em laranjeira doce (*Citrus sinensis* L. Osb.)

Tese apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Genética e Biologia Molecular.

**ILHEUS-BAHIA-BRASIL
2019**

A524

Amorim, Maurício da Silva.

Respostas fisiológicas e moleculares associadas ao secamento parcial de raiz e irrigação deficitária controlada em laranjeira doce (*Citrus sinensis* L. Obs.) / Maurício da Silva Amorim. – Ilhéus, BA: UESC, 2019.

xii, 102f. : il.

Orientador: Marcio Gilberto Cardoso Costa
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular.

Inclui referências.

1. Laranja. 2. Deficit hídrico. 3. Expressão gênica. 4. Frutas cítricas – Produção. 5. Água – Uso. 6. Porta-enxertos. I. Título.

CDD 634.3

MAURÍCIO DA SILVA AMORIM

Respostas fisiológicas e moleculares associadas ao secamento parcial de raiz e irrigação deficitária controlada em laranjeira doce (*citrus sinensis* L. Osb.)

Tese apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Genética e Biologia Molecular.

APROVADA:

Dr^a Ândrea Carla Dalmolin
UFSB

Dr^a Martielly Santana dos Santos
UESC

Dr^a Milena do Amaral Santos
UESC

Dr^a Ivanildes C. dos Santos
UESC

DEDICATÓRIA

Dedico à minha Mãe, Maria José da Silva Amorim “Dona Zezé” (*in memoriam*), que infelizmente deixou esse plano no meio de todo processo, mas me guiou até aqui. Sem ela, teria sido impossível realizar essa conquista.

*“Sou eu próprio uma questão colocada ao mundo e devo fornecer minha resposta,
caso contrário, estarei reduzido à resposta que o mundo me der.”*

Carl Gustav Jung

*“Sou um só, mas ainda assim sou um. Não posso fazer tudo, mas posso fazer
alguma coisa. E, por não poder fazer tudo, não me recusarei a fazer o pouco que
posso.”*

Edward Everett Hale

AGRADECIMENTOS

A minha amada Mãe, Maria José “Dona Zezé” (*in memoriam*), por tudo que fez por mim. Sem ela não seria possível chegar até aqui.

Ao meu cachorro Engraxate, que foi minha melhor companhia durante todo esse tempo, principalmente após a partida de Mainha.

Ao meu orientador, Dr. Marcio Gilberto Cardoso Costa, pela orientação, paciência e prestatividade, durante essa longa jornada de doutoramento.

Ao meu co-orientador Dr Maurício Antônio Coelho, pela orientação, por todo apoio prestado na Embrapa e auxílio na execução dos experimentos.

A Universidade Estadual de Santa Cruz e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular pela oportunidade e infraestrutura.

A Embrapa Mandioca e Fruticultura, por permitir a realização dos experimentos, cedendo sua infraestrutura.

A Fazenda Gavião, por todo apoio, cedendo seu espaço para que nosso experimento fosse implantado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Centro de Biotecnologia e Genética por toda infraestrutura cedida para as análises moleculares.

Aos Laboratórios de Ecofisiologia Vegetal e Pós Colheita da Embrapa Mandioca e Fruticultura, por cederem sua infraestrutura, em especial aos analistas Mabel Souza, Eliane Goes e Pedro Lucena, que prestaram todo apoio para que os trabalhos fossem realizados.

Ao setor de transportes da Embrapa, por todo apoio durante as viagens para o experimento em campo, especialmente ao Sr. Marivaldo e Sr. Ademar.

Aos colegas da Embrapa, Wilson, Iumi, Julinha, Veinho, Jair, Jorginho e Tibério pela ajuda durante a condução dos experimentos.

Às secretárias Mara e Fabrícia por toda prestatividade e atenção ao longo desses anos.

Aos técnicos do GBG, Flávio, Aline e Horlei pela prestatividade em atender as minhas necessidades.

Aos colegas Dilson, Laiane, Thainá e Dr^a Luciana Camillo pelo suporte durante as análises bioquímicas e moleculares.

Aos meus irmãos de turma, Suzam, Juliano, em especial, Thaise Tosto, que me acompanhou durante as análises de atividade enzimática.

Aos meus amigos de Cruz e colegas de doutoramento: Danilo “Seu Barriga”, Buneca, Gomes, Nany e Paty.

Aos irmãos que fiz na genética: Luan, Fredson e Julio Chia Wong! Tamo junto drinhus!

A Ingrid Mutti, Heckel Neto e Lucas Silva, por estarem ao meu lado no complicadíssimo pós-operatório da cirurgia Ortognatica, sendo cruciais para minha recuperação e retorno as atividades acadêmicas.

A minha irmã Manuela e minhas primas, Tamyres, Tamaia e Taize, pelo apoio nessa jornada e cuidados durante o pós-operatório.

Ao meu cirurgião Buco-Maxilo Prof. Dr. Daniel Barros Rodrigues, por se sensibilizar com minha situação enquanto estudante e ter feito o possível para que minha recuperação fosse rápida.

Aos meus amigos de Cruz das Almas, que sempre estiveram comigo e me ajudaram a superar as adversidades da vida: Galera dos grupos “The Brothers” e “Clube da Jante”.

Não poderia deixar de fazer um agradecimento especial ao irmão que fiz em Cruz, Mateus Calado “Caladinho”, que esteve comigo nos momentos mais difíceis da escrita da tese.

A Mocca, minha irmã da vida, que sempre me deu forças em todos os momentos, principalmente nos mais tensos!

A irmã que a UESC me deu, Aninha, parceira dos rolês, a paulista mais baiana que conheci!

Gostaria de fazer uma menção honrosa aos meus ex orientadores: Dr. Eugenio Ferreira Coelho (Graduação) e Dr. Eduardo Augusto Girardi (Mestrado), sem o apoio deles, não teria chegado até essa etapa.

Não poderia deixar de agradecer à todos os meus mestres, da alfabetização até a pós-graduação, que contribuíram para minha caminhada até aqui!

A todos aqueles que participaram de forma direta ou indireta para realização dessa conquista, o meu MUITO OBRIGADO!

INDICE

RESUMO	x
---------------------	----------

ABSTRACT	xii
-----------------------	------------

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	15
---------------------------------	-----------

1.1. Objetivos	18
-----------------------------	-----------

1.1.1 Objetivo geral	18
----------------------------	----

1.1.2. Objetivos específicos	18
------------------------------------	----

2. REVISÃO DE LITERATURA	19
---------------------------------------	-----------

Capítulo 1

Influência das estratégias de secamento parcial de raiz e irrigação deficitária controlada na produção e qualidade de frutos de laranjeira doce (<i>Citrus sinensis</i> L. Osb.) em clima tropical.....	26
--	----

1. Introdução	30
---------------------	----

2. Material e Métodos	33
-----------------------------	----

2.1. Material vegetal e condições de cultivo	33
--	----

2.2. Umidade do solo	34
----------------------------	----

2.3. Análises biométricas	34
---------------------------------	----

2.4. Condutância estomática e temperatura foliar	35
--	----

2.5. Análise de produção e qualidade de frutos	35
--	----

2.6. Análise de expressão genica.....	36
---------------------------------------	----

3.0. Resultados	38
-----------------------	----

3.1. Condições climáticas e umidade do solo	38
---	----

3.2. Condutância estomática e temperatura foliar	41
--	----

3.3. Produção e qualidade de frutos.....	45
3.4. Expressão gênica.....	49
4. Discussão	50
5. Conclusões	53

Capítulo 2

Respostas fisiológicas da laranjeira 'Valência' enxertada em diferentes híbridos submetida a secamento parcial de raiz em ambiente protegido	64
1. Introdução	67
2. Material e Métodos	69
3. Resultados	75
4. Discussão	84
5. Conclusão	88
6. Referencias	89
3. CONCLUSÕES GERAIS	95
4. REFERÊNCIAS	96

RESUMO

AMORIM, Maurício da Silva. Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Fevereiro de 2019. **Respostas fisiológicas e moleculares associadas ao secamento parcial de raiz e irrigação deficitária controlada em laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osb.)**. Orientador: Marcio Gilberto Cardoso Costa (UESC). Coorientadores: Mauricio Antonio Coelho Filho (EMBRAPA) e Alex-Alan Furtado de Almeida (UESC).

Em citros, as estratégias de manejo de irrigação visam otimizar a eficiência do uso de água e garantir a qualidade e produção de frutos, tendo em vista que o déficit hídrico afeta aspectos fisiológicos e moleculares nas plantas que são refletidos em redução do crescimento e produtividade. Nesse contexto, o uso de irrigação com secamento parcial de raiz (PRD) e irrigação deficitária controlada (RDI) aparecem como alternativas de manejo. Porém, a compreensão de respostas morfofisiológicas e moleculares em condições diferenciais de irrigação ainda são incipientes. Portanto, objetivou-se com o presente estudo investigar as respostas fisiológicas e moleculares, associadas ao PRD e RDI em laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osb.). Dois experimentos foram avaliados, sendo um em campo (experimento 1) e outro (experimento 2) em casa de vegetação. No experimento 1 foram avaliadas plantas de laranja 'Pêra' enxertadas em limoeiro 'Cravo', submetido à diferentes tratamentos de PRD e RDI, realizando-se avaliações de condutância estomática, temperatura foliar, biometria, produtividade, qualidade de fruto e expressão gênica. No experimento 2 avaliou-se o desempenho de mudas de laranja 'Valência' enxertada em três porta enxertos híbridos e submetida a três diferentes manejos de irrigação (PRD, déficit fixo e controle), realizando-se análises de crescimento, fisiológicas, de enzimas antioxidantes e teores de ácido abscísico e prolina. Em campo, observou-se que PRD alternando os lados de irrigação a cada 15 dias e a RDI na fase de maturação do fruto apresentaram resultados de produção e qualidade de fruto semelhantes à irrigação plena, indicando que a redução da lâmina de água aplicada não influenciou

significativamente a massa e o comprimento do fruto, o rendimento de suco, a acidez titulável e a relação sólidos solúveis/acidez titulável. Os tratamentos de PRD não induziram variação significativa na expressão dos genes analisados relacionados com atributos de qualidade de fruto, em comparação ao tratamento de irrigação plena. Por conseguinte, houve um aumento significativo nos níveis de mRNA dos genes *ACL1*, *ACL3* e *ZDS* nos tratamentos de sequeiro e RDI na fase de florescimento/pegamento e desenvolvimento do fruto, enquanto que os maiores níveis de mRNA de *PSY* foram observados nos tratamentos de RDI na fase de florescimento/pegamento e maturação do fruto, quando comparados a irrigação plena. Em ambiente protegido, as plantas submetidas ao PRD não apresentaram grandes reduções nas variáveis de crescimento, apesar da limitação hídrica no solo. As plantas submetidas ao déficit fixo apresentaram crescimento limitado e as trocas gasosas foliares reduziram drasticamente. Foram observados maiores teores de ácido abscísico e prolina nas plantas submetidas ao PRD e déficit fixo, em consequência do déficit hídrico implementado. Os híbridos avaliados possuem o mesmo padrão de respostas fisiológicas quando em diferentes condições hídricas. De maneira geral, quando aplicadas em ciclos de alternância (PRD) ou períodos (RDI) mais adequados, essas estratégias são eficientes para otimização do uso de água pelas plantas. Quando avaliado em ambiente protegido, as plantas submetidas ao PRD conseguiram se aclimatar ao déficit hídrico temporário, por meio de respostas morfofisiológicas, reduzindo as trocas gasosas foliares e biomassa seca.

Palavras-chave: *Citrus* spp., deficiência hídrica, expressão gênica, produção de frutos.

ABSTRACT

AMORIM, Maurício da Silva. State University of Santa Cruz, Ilheus, February 2019. **Physiological and molecular responses associated with partial rootzone drying (PRD) and regulated deficit irrigation (RDI) in sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osb.)**. Advisor: Marcio Gilberto Cardoso Costa (UESC). Co-mentors: Mauricio Antonio Coelho Filho (EMBRAPA) and Alex-Alan Furtado de Almeida (UESC).

In citrus, the irrigation management strategies aim to optimize the efficiency of water use and ensure the quality and fruit production, considering that the water deficit affects the physiological and molecular aspects in plants that are reflected in reduced growth and productivity. In this context, the use of partial rootzone drying (PRD) and controlled deficit irrigation (RDI) appear as important management alternatives. However, the knowledge about the morphophysiological and molecular responses under differential irrigation conditions is still incipient. Therefore, the objective of this study was to investigate the physiological and molecular responses associated with PRD and RDI in sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osb.). Two experiments were evaluated, one under field (experiment 1) conditions and another (experiment 2) under greenhouse conditions. In the experiment 1, 'Pêra' sweet orange plants grafted on Rangpur lime, undergoing different treatments of PRD and RDI, were evaluated as to stomatal conductance, leaf temperature, biometry, productivity, fruit quality attributes and expression of fruit quality-related genes. In the experiment 2, the performance of 'Valencia' orange plants grafted on three hybrid citrus rootstocks and subjected to three different irrigation management (PRD, fixed deficit and control) were evaluated, including morphophysiological analyzes, activity of antioxidant enzymes and contents of abscisic acid and proline. In the field, it was observed that PRD alternating the irrigation sides at every 15 days and RDI in the maturation stage of the fruit presented results of fruit quality and production, similar to those of the full irrigation, indicating that the reduction of the water applied did not significantly

influence mass and fruit length, juice yield, titratable acidity and soluble solids/titratable acidity ratio. PRD treatments did not induce significant variation in the expression of the analyzed genes compared to the full irrigation treatment. However, there was a significant increase in the mRNA levels of the *ACL1*, *ACL3* and *ZDS* genes in the rainfed and RDI treatments at the flowering/fruit setting and fruit development stages, whereas the highest levels of *PSY* mRNA were observed in RDI treatments at the flowering/fruit setting and fruit maturation stages, when compared to the full irrigation treatment. In greenhouse conditions, the plants subjected to the PRD did not show significant reductions in the growth variables, despite the water limitation in the soil. Plants subject to fixed deficit presented limited growth and drastically reduced leaf gas exchange. The highest levels of abscisic acid and proline were observed in plants subjected to PRD and fixed deficit, as a consequence of the implemented water deficit. The evaluated hybrid citrus rootstocks induced the same patterns of physiological responses in sweet orange, irrespective of the water conditions. In general, when applied at suitable alternation frequencies (PRD) or periods (RDI), PRD and RDI strategies are efficient for optimizing the use of water by plants. When evaluated in a protected environment (greenhouse conditions), the plants subjected to the PRD were able to acclimatize to the temporary water deficit, through morphophysiological responses, reducing leaf gas exchange and dry biomass.

Keywords: *Citrus* spp., Water deficiency, gene expression, fruit production.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A utilização da água na agricultura de maneira eficiente e sustentável é imprescindível, uma vez que os recursos hídricos têm se tornado cada vez mais limitados. Torna-se necessário preservá-los para a segurança alimentar, bem como para a conservação de outros recursos naturais. O emprego da irrigação é fundamental para atingir altos rendimentos e padrões adequados de produção e qualidade, principalmente nas regiões com baixa disponibilidade hídrica (SAMPAIO et al., 2014; COTRIM et al., 2017). O uso de estratégias de irrigação plena pode ser considerado supérfluo, na medida em que existe a possibilidade de diminuir a quantidade de água empregada, sem reduzir significativamente a produtividade e qualidade. Por conseguinte, o emprego das técnicas de secamento parcial de raiz (PRD) e irrigação deficitária controlada (RDI) aparecem como alternativas de sucesso (SAMPAIO et al., 2010; ROMERO et al., 2012; SAMPAIO et al., 2014; GASQUE et al., 2016).

A técnica PRD consiste na alternância dos lados da irrigação em determinado período de tempo. Neste caso, enquanto um lado recebe irrigação, o outro é submetido a déficit hídrico parcial (SAMPAIO et al., 2014). A RDI consiste na redução da lâmina de água em determinados períodos de desenvolvimento dos frutos, promovendo também o déficit hídrico parcial no solo (SANTOS et al., 2014; COTRIM et al., 2017). Em ambas as técnicas, as respostas fisiológicas são similares, ou seja, a secagem do solo promove o aumento da concentração do ácido abscísico (ABA) nas raízes e esta sinalização hormonal da raiz para a parte aérea promove o fechamento dos estômatos, que culmina na redução da condutância estomática (g_s) e transpiração (E), que afetam taxa fotossintética líquida (A). Contudo, o balanço fino entre transpiração e assimilação de carbono pode ser refletido em aumento da eficiência intrínseca (A/g_s) e instantânea de uso da água (A/E) (ROMERO et al., 2006; HUTTON; LOVEYS, 2011; JONES, 2014; SAMPAIO et al., 2014; SANTOS et al., 2014; COTRIM et al., 2017).

O PRD foi estudado inicialmente nos Estados Unidos, em algodoeiro (GRIMES et al., 1968), sendo posteriormente utilizado com frequência na cultura videira (DRY et al., 2001; FERREYRA et al., 2006; COLLINS et al., 2010), mangueira (SPREER et al., 2009; SANTOS et al., 2015; 2016) e citros

(SAMPAIO et al., 2010; ROMERO-CONDE et al., 2014; SAMPAIO et al., 2014; MOSSAD et al., 2017). O uso do PRD melhorou a eficiência no uso da água e os atributos de qualidade do suco, como percentagem de sólidos solúveis e acidez, sem afetar significativamente a produção de frutos, em laranjeira doce do grupo 'Navel' cultivada em clima Mediterrâneo (HUTTON; LOVEYS, 2011). Em tangerinas 'Kinnow' o PRD com 50% da Evapotranspiração da cultura (ETc) teve o melhor custo benefício, sendo uma alternativa viável para economia de água (PANIGRAHI et al., 2013).

A princípio, utilizou-se RDI em pomares de pessegueiro e pereira em diferentes fases do desenvolvimento do fruto, para controlar o crescimento vegetativo e reprodutivo (MCCARTHY, 1997). Posteriormente foi testada em ameixeira (GOODWING; BOLAND, 2002) e aparece como uma excelente estratégia em mangueira (SPREER et al., 2009; COTRIM et al., 2017; SANTOS et al., 2017), videira (LOVEYS et al. 2001; LOVEYS et al., 2004) e citros (KIRDA et al., 2007; TREEBY et al., 2007; PANIGRAHI et al., 2013). A aplicação de RDI, na fase de maturação do fruto, aumentou os teores de sólidos solúveis e acidez titulável do fruto, sem reduzir significativamente a produção, em laranjeira doce cvs. 'Navelina' (GARCIA-TEJERO et al., 2010), 'Salustiana' (GARCIA-TEJERO et al., 2009) e 'Lane late' (PÉREZ-PÉREZ et al., 2009).

O cultivo de citros é uma das atividades econômicas mais importantes no Brasil, gerando inúmeros empregos diretos e indiretos e contribuindo para o fortalecimento da economia (NEVES; TROBIM, 2017). O país é um dos líderes na produção mundial de citros, com o destaque para a laranja doce que apresenta domínio de 33% do mercado mundial. Ademais, o país é o maior fornecedor de suco de laranja no mundo, com mais de 90% da produção exportada. Em 2018, a produção brasileira de citros foi de 15,7 milhões de toneladas, com exportação de 514.028 toneladas de suco concentrado. No Nordeste, o cultivo de citros é liderado pelo estado da Bahia, sendo os municípios de Rio Real, Itapicuru e Inhambupe responsáveis pela maior parte da produção de citros do estado (IBGE, 2018).

Os programas de melhoramento genético de citros têm focado, sobretudo, na geração de novas variedades porta enxertos adaptadas às condições de deficiência hídrica, característica indispensável para o convívio das plantas com a crescente escassez hídrica (POMPEU JUNIOR, 2005;

SOARES FILHO et al., 2008). Nesse contexto, alguns dos híbridos desenvolvidos foram avaliados como porta enxerto na laranjeira 'Valência', a exemplo de 'LCR x TR - 001', 'TSKC x CTSW - 041', 'TSKC x (LCR x TR) - 059' e 'HTR-069', que demonstraram potencial para substituir os porta-enxertos tradicionais, com desempenho superior ao limoeiro 'Cravo' e tangerineira 'Sunki', apresentando alta tolerância à seca, precocidade na produção, pouca suscetibilidade à gomose e tolerância ao *Citrus tristeza vírus* (CTV) (RODRIGUES et al., 2014; RAMOS et al., 2015). No Brasil a combinação da laranjeira 'Pêra' enxertada em limoeiro 'Cravo' (*C. limonia* Osbeck) aparece na maioria dos pomares (ALMEIDA; PASSOS, 2011). Embora apresente muitas vantagens, esse porta enxerto é suscetível a Morte Súbita dos Citros (MSC) e ao Declínio (POMPEU JUNIOR, 2005). Diante disso, os programas de melhoramento genético têm buscado diversificar os porta enxertos para evitar possíveis problemas ocasionados pela presença de uma única combinação copa/porta enxerto (POMPEU JUNIOR, 2005; SOUZA et al., 2010; PASSOS et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

A citricultura baiana aparece de maneira hegemônica nos Tabuleiros Costeiros, com destaque para o Litoral Norte do estado, onde ocorrem precipitações pluviométricas anuais entre 1.000 mm a 1.200 mm, com dois a seis meses de deficiência hídrica, sendo, portanto, necessário uma complementação com irrigação (CERQUEIRA et al., 2004). Tendo em vista as limitações que ocorrem pela baixa disponibilidade hídrica, como redução do crescimento vegetativo, abscisão de frutos, queda da produção e qualidade de frutos, é imprescindível que um manejo de irrigação eficiente e sustentável seja adotado. Nesse sentido, técnicas como o secamento parcial do sistema radicular (PRD) e irrigação com déficit hídrico controlado (RDI) representam alternativas para otimização do uso da água. No entanto, é necessário compreender como as técnicas impactam aspectos morfofisiológicos e moleculares. Diante disso, foram levantadas as seguintes hipóteses: (i) o PRD e RDI promovem alterações na condutância estomática que otimizam a eficiência no uso da água (EUA) em laranjeira doce nas condições de tabuleiros costeiros; (ii) o aumento da eficiência no uso da água por PRD e RDI favorece a manutenção do crescimento e produtividade; (iii) PRD e RDI promovem alterações nos teores de acidez e sólidos solúveis em frutos de

laranjeira doce nas condições de tabuleiros costeiros; e (iv) PRD e RDI induzem a expressão de genes metabolismo de citrato (*ACL 1* e *3*) e biossíntese de carotenoides (*PSY* e *ZDS*) correlacionados com a qualidade do fruto. Diante desses questionamentos objetivou-se com o presente estudo, compreender as respostas fisiológicas, moleculares, de produção e qualidade de frutos de laranjeira doce (*Citrus sinensis* L. Osb.), associadas ao secamento parcial de raiz (PRD) e irrigação deficitária controlada (RDI).

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo geral

Avaliar o crescimento, produtividade e qualidade de frutos de laranjeira doce (*Citrus sinensis* L. Osb.), bem como as respostas fisiológicas e de expressão gênica, associadas ao secamento parcial de raiz (PRD) e irrigação deficitária controlada (RDI).

1.1.2. Objetivos específicos

1. Verificar se PRD e RDI aumentam a eficiência no uso da água, otimizando a produtividade e qualidade de frutos de laranja doce, viabilizando as técnicas;
2. Averiguar se há diferença na expressão de genes do metabolismo de citrato e carotenoides nas plantas submetidas ao PRD e RDI e suas implicações na qualidade dos frutos de laranja doce;
3. Verificar se há ocorrência de alterações nas trocas gasosas foliares e fluorescência da clorofila *a* em mudas de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osb.) submetidas ao PRD e seus efeitos no acúmulo de matéria seca;
4. Observar se o PRD promove respostas no sistema antioxidante de proteção do aparato fotossintético e nos teores de prolina e ácido abscísico em mudas de laranja doce e suas implicações para aclimação ao déficit hídrico temporário.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais da citricultura

De origem asiática, os citros pertencem a família Rutaceae e subfamília Aurantioideae, englobando os gêneros: *Fortunella*, *Eremocitrus*, *Poncirus*, *Clymenia*, *Microcitrus* e *Citrus*. São espécies alógamas, com compatibilidade sexual, geralmente heterozigotas e diploides, com número de cromossomos nas células somáticas $2n = 18$ (Cameron e Frost, 1968). As plantas do gênero *Citrus* são dicotiledôneas de porte médio, atingindo de 4,5 m a 12,0 m de altura na fase adulta (REUTHER, 1973).

A produção mundial de citros, na safra de 2017/2018, foi em torno de 119,4 milhões de toneladas, desse total, China (22,1%), Brasil (17,1%) e Estados Unidos (8,9%) representam os principais produtores (FAO, 2018). No Brasil, a citricultura tem grande importância econômica, sendo responsável pela geração de 250.000 empregos diretos e indiretos, movimentando anualmente mais de US\$ 14 bilhões (NEVES; TROMBIN, 2017). Neste cenário, o Brasil é o maior produtor e exportador de suco concentrado de laranja do mundo, produzindo cerca de 15,7 milhões de toneladas da fruta na safra 2017/2018. O estado de São Paulo destaca-se como o maior produtor do país, com 72,4% de participação na produção nacional, totalizando cerca de 11,8 milhões de toneladas. A região Nordeste produziu em 2017 1,6 milhões toneladas de laranja, sendo o estado da Bahia foi responsável pela produção de 1,1 milhões toneladas desse total e Sergipe 453.933 toneladas, estando entre os maiores produtores nacionais. O município de Rio Real, localizado no Litoral Norte da Bahia, engloba cerca de 35% da área colhida e de 39,9 % da produção, sendo o maior produtor de citros do estado da Bahia e das regiões Norte e Nordeste. Em 2017, o município produziu 357.000 toneladas de laranja, sendo responsável por 78,39 % da produção. Também se destacam os municípios de Itapicuru e Inhambupe, localizados no litoral norte da Bahia, que contribuíram, respectivamente, com 192.000 e 120.000 toneladas na produção de laranja (IBGE, 2018).

As principais variedades copa produzidas no país são a laranjeira 'Pêra' e a 'Valência', sendo esta última a principal laranjeira cultivada no mundo e

utilizada em diversas pesquisas (PIO et al., 2005; POMPEU JUNIOR; BLUMMER, 2008; RAMOS et al., 2014; RODRIGUES et al., 2015; SANTANA-VIEIRA et al., 2016). Na Bahia, a laranjeira ‘Pêra’ aparece de maneira hegemônica na maioria dos pomares, combinada com o porta enxerto limoeiro ‘Cravo’. A predominância dessa combinação, apesar de gerar boa produtividade, aumenta a vulnerabilidade a pragas e fatores abióticos (ALMEIDA; PASSOS, 2011). Outras variedades de laranja doce que também são utilizadas, mas em menor escala em comparação à ‘Pêra’ e ‘Valência’, são as laranjeiras ‘Bahia’, ‘Westin’, ‘Rubi’, ‘Hamlin’, ‘Natal’ e ‘Seleta’. Essas variedades geralmente são cultivadas no estado de São Paulo (PIO et al., 2005; POMPEU JUNIOR; BLUMMER, 2008).

O limoeiro ‘Cravo’ (*C. limonia* Osbeck) representa a principal variedade porta enxerto utilizada pelos produtores de laranja, que passou a ter destaque nas regiões produtoras após sucessivos problemas enfrentados com estresses bióticos e abióticos, estando presente em cerca de 85% dos pomares (ALMEIDA; PASSOS, 2011). Embora apresente muitas vantagens, esse porta enxerto é suscetível a Morte Subita dos Citros (MSC) e ao Declínio. Diante disso, os programas de melhoramento genético têm buscado diversificar os porta enxertos. A tangerineira ‘Sunki’ e o citrumelo ‘Swingle’ aparecem como variedades com grande potencial produtivo, são resistentes a MSC e ao Declínio, além de induzir boa produtividade e qualidade de frutos (POMPEU JUNIOR, 2005).

O primeiro programa de melhoramento genético de citros foi criado em 1893, na Flórida, objetivando o controle de doenças (SOOST; ROOSE, 1996). Em 1928, a Estação Experimental de Limeira (EEL) foi criada no Brasil, iniciando os experimentos em 1930 com o objetivo de estabelecer uma coleção de variedades copa/porta enxerto (RODRIGUEZ et al., 1991). No final da década de 1980, o programa de hibridações de citros teve seu início na Bahia. Nesse contexto, a Embrapa tem buscado selecionar novos porta enxertos, visando adaptações as condições de cultivo tropicais (SOARES FILHO et al., 1997; 2008). Os programas de melhoramento genético de citros têm focado, sobretudo, na geração de novas variedades porta enxertos adaptadas às condições de deficiência hídrica e de porte ananicante/semiananicante. Essas características são desejáveis por permitirem a aclimatação das plantas com a

crescente escassez hídrica, bem como a adoção de elevadas densidades de plantio que facilitem os tratos culturais e determinem às copas nelas enxertadas uma alta eficiência produtiva e início precoce de produção de frutos (POMPEU JUNIOR, 2005; SOARES FILHO et al., 2008).

2.2. Déficit hídrico e estratégias de manejo da irrigação (PRD e RDI) em Citros

2.2.1. Deficiência hídrica em Citros

A citricultura brasileira é produzida na maior parte dos pomares em condição de sequeiro. Nos últimos anos, a ocorrência de variações no clima, tem sido um problema, resultando num déficit hídrico, tendo como consequência, redução da produtividade (SAMPAIO, 2014). Para obter boa produção de citros, são requeridas precipitações em torno de 1000 a 1200 mm, com boa distribuição ao longo do ano (COELHO et al., 2006).

Nos Tabuleiros Costeiros, embora ocorram precipitações favoráveis ao cultivo de citros, observa-se ocorrência de déficit hídrico nos meses mais quentes, período que vai de outubro a fevereiro (PEIXOTO et al., 2006; SOUZA et al., 2008; REZENDE, 2011). Diante disso, é importante que haja uma complementação de água em períodos de déficit, para evitar os efeitos negativos causados pela deficiência hídrica.

As plantas cítricas, quando em condição natural, podem ser submetidas a um grau de déficit hídrico sob elevadas temperaturas e déficit de pressão de vapor (DPV) (MEDINA et al., 1999). O déficit hídrico promove alterações fisiológicas que podem ser reversíveis ou irreversíveis, dependendo da severidade e duração do estresse, além da idade da planta (MEDINA, 2005; GILBERT; MEDINA, 2016), seja permanente ou temporário afeta negativamente o crescimento e desenvolvimento da planta (ANJUM et al., 2011). É válido ressaltar que, longos períodos de deficiência hídrica em citros, resultam em perdas de qualidade e a produtividade dos frutos.

2.2.2. Respostas morfofisiológicas e moleculares ao déficit hídrico

Os estresses ambientais promovem uma variedade de respostas nas plantas, sendo o estresse por seca multidimensional, estando associado com: radiação, temperatura do ar e déficit de pressão de vapor. Na medida em que a disponibilidade hídrica do solo é reduzida, há síntese de ácido abscísico (ABA), que é translocado para a parte aérea e promove o fechamento dos estômatos (SOUZA et al., 2004; VERSLUES, 2006).

O fechamento estomático reduz a captação de CO_2 , gerando um desacoplamento entre a fase fotoquímica e bioquímica da fotossíntese (SHARMA et al., 2012; CLAEYS; INZE, 2013). Consequentemente, os fótons que chegam na cadeia transportadoras de elétrons são direcionados ao oxigênio molecular, promovendo o estresse oxidativo, por meio da formação de superóxido que é o produto para formação de novas espécies reativas de oxigênio (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2006; SHARMA et al., 2012).

O déficit hídrico compromete os eventos fotoquímicos nos tilacóides, provocando redução na eficiência quântica da fotossíntese (FLEXAS et al., 2002; GARCÍA SANCHÉZ et al., 2007). Também pode promover danos no aparato fotossintético, em consequência do aumento de estresse oxidativo, por meio de maior atividade de ROS, atingindo moléculas vitais e danificando células vegetais (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2006). Para proteção das plantas contra o estresse oxidativo, há aumento da síntese e atividade das enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase do guaiacol (GPX) e ascorbato peroxidase (APX) (XIONG et al., 2002).

Em plantas submetidas deficiência hídrica, geralmente observa-se redução da condutância estomática, aumento do crescimento radicular e redução do crescimento vegetativo (SAMPAIO et al., 2014; COTRIM et al., 2014), fato associado a maior produção de ABA pelas raízes. Essas alterações morfofisiológicas promovem o aumento da eficiência do uso de água das plantas, evitando limitações drásticas no desenvolvimento (RODRIGUES et al., 2008; PEREZ et al., 2012).

2.2.3. Estratégias para otimização dos recursos hídricos em Citros

A água é um recurso natural limitado, devendo ser utilizada de maneira racional, por isso é importante buscar estratégias de irrigação que contribuam para o uso eficiente dos recursos hídricos. Em citros, o déficit hídrico pode ser aplicado em períodos fenológicos que não tragam prejuízos a planta, dessa forma é possível suspender a irrigação, sem prejudicar a produção ou qualidade de frutos. Assim, é possível reduzir ou suprimir as lâminas de irrigação nas fases de menor sensibilidade, contribuindo para a economia de água (PIRES et al., 2005; GARCIA-TEJERO et al., 2010). Nesse contexto, utilizar um manejo de irrigação que viabilize a eficiência do uso de água pela planta, torna-se essencial, portanto, o uso de PRD (irrigação com secamento parcial do sistema radicular) e RDI (irrigação com déficit hídrico controlado) aparecem como alternativas de manejo.

O PRD é uma técnica de irrigação que preconiza a alternância dos lados que recebem a irrigação, enquanto um lado recebe água, o outro é submetido ao secamento do solo. Essa estratégia induz a planta a fechar parcialmente os estômatos, em consequência de um dos lados da raiz ser exposto ao déficit hídrico temporário. Dessa forma, ocorre redução do consumo de água pela planta, resultado em respostas fisiológicas que aumentam a eficiência no uso da água, sem afetar a produção e qualidade dos frutos (KRIEDEMANN; GOODWIN, 2003; HUTTON; LOVEYS, 2011; SAMPAIO et al., 2014). O PRD foi estudado inicialmente nos Estados Unidos, em algodoeiro (GRIMES et al., 1968). Posteriormente, a técnica foi utilizada em videiras (LOVEYS, 1998; KRIEDEMANN; GOODWIN, 2003).

Em citros, Panigrahi et al. (2013) estudaram tangerinas Kinnow sob diferentes lâminas de irrigação e concluíram que a irrigação com aplicação de PRD, com 50% da ET_c , teve o melhor custo benefício, sendo uma alternativa viável para economia de água. Hutton e Loveys (2011), estudando o efeito do PRD em laranja de Umbigo relataram aumento da eficiência no uso da água e melhoria na qualidade de frutos, que apresentaram maior teor de sólidos solúveis (SST). Ao estudarem o PRD em limeira ácida, Sampaio et al. (2014) relataram que o PRD com 50% da ET_c , associado à alternância dos lados de

irrigação a cada 7 dias, otimizou o mecanismo de controle da abertura dos estômatos e reduziu a transpiração foliar. Segundo os autores, em condições semiáridas, o PRD representa uma excelente alternativa para otimizar o uso da água, pois a redução da lâmina aplicada induz a planta a reduzir a condutância estomática, transpiração e fotossíntese, sem reduzir significativamente a produção de frutos.

A irrigação deficitária controlada (RDI) preconiza a aplicação de déficit de irrigação em fases do desenvolvimento da planta, quando o crescimento e qualidade do fruto apresentam baixa sensibilidade ao estresse hídrico, permitindo reduzir a lâmina de água aplicada, sem causar prejuízos na produção e qualidade de frutos. A técnica foi estudada inicialmente nas culturas da pêra e pêssego, com o objetivo de controlar o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo por meio do estresse hídrico em diferentes fases do desenvolvimento do fruto (MCCARTHY, 2000). O uso da RDI, já foi estudado em diversas fruteiras, como: mangueira (COTRIM et al., 2011; 2017; SANTOS et al., 2017), pereira (MARSAL et al., 2008); videira (DRY et al., 2001; FERREYRA et al., 2006; COLLINS et al., 2010), meloeiro (FABEIRO et al., 2002); melanciaira (GONZÁLEZ et al. 2009), pêssego e ameixa (GOODWING; BOLAND, 2002).

Em citros, Garcia-Tejero et al. (2009) avaliaram o efeito do RDI na produção e qualidade de frutos de laranjeira 'Salustiana', encontrando diferenças significativas para a acidez e o teor de SST. De acordo com os resultados obtidos, os autores concluíram que o uso de RDI apresentou efeito significativo na qualidade final do fruto, aumentando os teores de sólidos solúveis (SST) e acidez titulável (AT), mas não influenciaram significativamente a produtividade. Garcia-Tejero et al. (2010) também encontraram resultados semelhantes, enquanto estudavam o efeito da irrigação deficitária em diferentes fases fenológicas da laranjeira 'Navelina' enxertada em citrange 'Carrizo'. Os resultados demonstraram que a aplicação de estresse hídrico durante a fase de maturação do fruto aumentou o SST e a AT; além disso, os autores citaram que o déficit de irrigação aumenta a eficiência no uso da água. Romero et al. (2006) avaliaram a influência da irrigação deficitária nos parâmetros fisiológicos e nutricionais dos porta -enxertos tangerineira 'Cleopatra' e citrange 'Carrizo' sob tangerineira 'Clemenules'. A partir dos

resultados obtidos, os autores inferiram que as relações planta-água-solo, como potencial hídrico foliar e condutância estomática, foram cruciais para as diferenças observadas no crescimento vegetativo e na produção de frutos, evidenciando que a planta apresenta respostas fisiológicas para suportar o déficit hídrico.

3. Genes correlacionados com a qualidade de frutos

Os carotenoides são pigmentos que possuem alto valor nutricional, sendo observados em grande quantidade nas frutas cítricas. Em citros, os genes *PSY* (sintase do fitoeno), *ZDS* (desaturase do fitoeno), *CRTISO* (isomerase do carotenoide), *LCY-b* (beta-ciclase do licopeno) e *HYb* (hidroxilase do beta-caroteno) são responsáveis pela codificação de enzimas-chave na via de biossíntese de carotenoides (KATO et al., 2004; FRASER; BRAMLEY, 2004). Nesse sentido, o acúmulo desses pigmentos está relacionado à expressão dos genes codificadores dessas enzimas.

Estudos de expressão gênica têm mostrado o envolvimento dos genes *ACLs*, *PSY* e *ZDS* na regulação dos respectivos conteúdos de ácido cítrico e carotenoides durante o processo de amadurecimento de frutas cítricas (KATO et al., 2004; KATZ et al., 2007; LIN et al., 2015). *ACL* é uma enzima que catalisa a conversão de citrato em oxaloacetato (OAA) e acetil-CoA no citosol, levando a síntese de flavonoides e isoprenoides (ETIENNE et al., 2013). *PSY* é uma enzima que catalisa a primeira etapa específica e de controle de fluxo da rota biossintética de carotenoides, por meio da condensação de duas moléculas de GGPP, produzindo fitoeno, enquanto que *ZDS* catalisa a dessaturação do zeta-caroteno em licopeno, via neurosporeno (FRASER; BRAMLEY, 2004).

O acúmulo de carotenoides durante a maturação de frutos de citros está relacionada aos produtos da expressão dos genes envolvidos nessa via. Assim, é importante conhecer esses genes, pois uma possível manipulação deles poderia alterar o perfil de carotenoides em citros, contribuindo para enriquecer o teor nutricional do fruto (KATO et al., 2004; RODRIGO et al., 2004).

CAPITULO 1

Influência das estratégias de secamento parcial de raiz e irrigação deficitária controlada na produção e qualidade de frutos de laranjeira doce (*Citrus sinensis* L. Osb.) em clima tropical

Influência das estratégias de secamento parcial de raiz e irrigação deficitária controlada na produção e qualidade de frutos de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osb.) em clima tropical

Maurício da Silva Amorim, Iumi da Silva Toyosumi, Wilson da Silva Amorim, Luciana Rodrigues Camillo, Laiane Nascimento Ferreira, Dilson Souza Rocha Junior, Walter dos Santos Soares Filho, Marcio Gilberto Cardoso Costa, Maurício Antônio Coelho Filho

Maurício da Silva Amorim, Luciana Rodrigues Camillo, Laiane Nascimento Ferreira, Dilson Souza Rocha Junior, Marcio Gilberto Cardoso Costa (✉)
Centro de Biotecnologia e Genética, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA 45662-900, Brazil
E-mail adress: marciogc.costa@gmail.com (M.G.C. Costa)

Iumi da Silva Toyosumi, Wilson da Silva Amorim, Walter dos Santos Soares Filho, Maurício Antônio Coelho Filho (✉)
Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA 44380-000, Brazil
E-mail address: mauricio-antonio.coelho@embrapa.br (M.A. Coelho Filho)

Resumo

Objetivou-se, neste estudo, investigar os efeitos das estratégias de irrigação com secamento parcial de raiz (PRD) e irrigação deficitária controlada (RDI) na produção e qualidade de fruto de laranjeira doce cultivada em clima tropical. O experimento foi conduzido em um pomar de laranjeira 'Pêra' enxertada em limoeiro 'Cravo', implantado em Inhambupe, Litoral Norte do Estado da Bahia, Brasil, em que foram avaliados, durante três anos consecutivos, os efeitos de diferentes manejos de irrigação (irrigação plena, sequeiro, PRD e RDI) nos atributos de produção e qualidade de frutos, utilizando um delineamento em blocos casualizados. Avaliou-se também a condutância estomática, temperatura foliar e expressão de genes relacionados com o metabolismo de citrato (*ACL 1* e *3*) e biossíntese de carotenoides (*PSY* e *ZDS*) no fruto. Os maiores valores de condutância estomática e umidade do solo, e menores de temperatura foliar, foram obtidos no tratamento com irrigação plena, enquanto que o inverso foi observado no tratamento de sequeiro. Os tratamentos de PRD aumentaram a eficiência no uso da água em comparação aos demais tratamentos. O tratamento de PRD com alternância dos lados de irrigação a cada 15 dias, bem como o tratamento de RDI na fase de maturação do fruto, destacaram-se por apresentar valores de produção, eficiência produtiva, massa, comprimento e tamanho do fruto, rendimento de suco, relação entre sólidos solúveis e acidez titulável similares àqueles do tratamento de irrigação plena. A expressão dos genes *ACL1*, *ACL3* e *PSY* e *ZDS* variou entre frutos oriundos dos diferentes tratamentos, sendo que os tratamentos de PRD não induziram variação significativa na expressão dos genes analisados em comparação ao tratamento de irrigação plena. Por outro lado, quando

comparados a irrigação plena, houve um aumento significativo nos níveis de mRNA dos genes estudados nos tratamentos de sequeiro e RDI. Em conclusão, nota-se que as estratégias de manejo de irrigação PRD, alternando-se os lados de irrigação a cada 15 dias, e RDI na fase de maturação do fruto podem promover elevada produção e qualidade de frutos, contribuindo para economia de água, sendo alternativas viáveis para o cultivo de laranjeira 'Pera' em regiões de clima tropical com recursos hídricos limitados.

Palavras-chave: *Citrus* spp., irrigação com déficit, produção de frutos

1. Introdução

A produção mundial de citros, na safra de 2017/2018, foi em torno de 119,4 milhões de toneladas, sendo que desse total, China (22,1%), Brasil (17,1%) e Estados Unidos (8,9%) representam os principais produtores (FAO, 2018). O Brasil é o maior produtor mundial de laranja e suco de laranja, sendo responsável por aproximadamente 34% e 56% da produção mundial de laranja e de suco concentrado, respectivamente, consolidando-se como o mais importante fornecedor global do produto (FAO, 2018; Neves e Trombin, 2017). No Brasil, a citricultura tem grande importância econômica, sendo responsável pela geração de 250.000 empregos diretos e indiretos, movimentando anualmente mais de US\$ 14 bilhões, contribuindo para o fortalecimento da economia do país (Neves e Trombin, 2017). Destacam-se como maiores produtores nacionais, em ordem decrescente, os estados de São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Paraná e Sergipe (IBGE, 2018).

O emprego da irrigação é fundamental para atingir altos rendimentos e padrões adequados de produção e qualidade, principalmente nas regiões com baixa disponibilidade hídrica. No entanto, o uso de estratégias de irrigação plena deve ser revisado, na medida em que existe a possibilidade de diminuir a quantidade de água empregada, sem reduzir significativamente a produtividade e qualidade das colheitas (Collins et al., 2010; Cotrim et al., 2017; Dry et al., 2001; Ferreyra et al., 2006; Goodwing e Boland, 2002; Romero-Conde et al., 2014). Nesse sentido, o uso das estratégias de irrigação como secamento parcial do sistema radicular (PRD) e irrigação com déficit hídrico controlado (RDI) tem permitido aumentar a eficiência no uso da água pelas culturas,

enquanto os atributos de produção e qualidade são preservados (Kirda et al., 2007; Loveys et al., 2004; McCarthy, 1997; Panigrahi et al., 2013; Sampaio et al., 2010, 2014; Santos et al., 2013, 2014, 2015; Spreer et al., 2009; Treeby et al., 2007).

O PRD consiste em irrigar parte do sistema radicular da planta, submetendo a outra parte ao secamento do solo, alternando os lados de irrigação, em determinados períodos de tempo, de acordo com a espécie da planta, tipo de solo e condições climáticas (Sampaio et al., 2010, 2014; Santos et al., 2013, 2014, 2015). No caso da RDI, a lâmina de água a ser aplicada é reduzida em fases que a cultura apresenta menor sensibilidade ao déficit hídrico, para que não ocorra prejuízos na produtividade e haja aumento da eficiência no uso da água (Cotrim et al., 2017; Goodwing e Boland, 2002). Essas técnicas apresentam respostas fisiológicas similares, ou seja, a secagem do solo promove o aumento da concentração do ácido abscísico (ABA) nas raízes e alterações nas trocas gasosas foliares. Esta sinalização hormonal da raiz para a parte aérea promove o fechamento dos estômatos e redução da transpiração, possibilitando o aumento da eficiência intrínseca e instantânea no uso da água (Romero et al., 2006; Hutton e Loveys, 2011; Santos et al., 2014; Sampaio et al., 2014; Cotrim et al., 2017).

O uso das estratégias de PRD e RDI tem permitido aumentar a eficiência no uso da água pelas culturas, enquanto os atributos de produção e qualidade são preservados (Garcia-Tejero et al., 2010; Hutton e Loveys, 2011). Em ambos os sistemas de manejo de irrigação, resultados positivos foram verificados para mangueira (Cotrim et al., 2017; Santos et al., 2015; Spreer et al., 2009), videira (Loveys et al., 2004; McCarthy, 1997) e citros (Kirda et al., 2007; Panigrahi et al.,

2013; Treeby et al., 2007). O uso do PRD aumentou a eficiência no uso da água e os atributos de qualidade do suco, como percentagem de sólidos solúveis e acidez, sem afetar significativamente a produção de frutos, em laranja doce do grupo 'Navel' cultivada em clima Mediterrâneo (Hutton e Loveys, 2011). De modo similar, a aplicação de RDI, sobretudo na fase de maturação do fruto, promoveu aumento nos teores de sólidos solúveis e acidez titulável do fruto, sem reduzir significativamente a produção, em laranja doce cvs. 'Salustiano' (Garcia-Tejero et al., 2009), Navelina (Garcia-Tejero et al., 2010) e 'Lane late' (Pérez-Pérez et al., 2009) e tangerineira 'Clementina' cv. Clemenules (Romero et al., 2006) cultivadas em clima Mediterrâneo.

No Brasil, as principais variedades copa produzidas são a laranja 'Pêra' e a 'Valência' (Pio et al., 2005; Pompeu Junior e Blummer, 2008). Na Bahia, a laranja 'Pêra' aparece de maneira hegemônica na maioria dos pomares, combinada com o porta enxerto limoeiro 'Cravo'. Essa combinação apresenta excelente desempenho, gerando boa produtividade (Almeida e Passos, 2011; Soares Filho et al., 2008). Contudo, ainda são necessárias informações sobre os efeitos do PRD e RDI na produção e qualidade de frutos de laranja doce cultivada em clima tropical. Dessa forma, objetivou-se no presente estudo investigar os efeitos do PRD e RDI nos atributos de produção, qualidade e expressão genica em frutos de laranja 'Pera' (*Citrus sinensis* L. Osb.) cultivada em clima tropical na região dos tabuleiros costeiros.

2. Materiais e métodos

2.1. Material vegetal e condições de cultivo

O experimento foi conduzido na Fazenda Agropecuária Gavião, no município de Inhambupe (11° 47' 9" S, 38° 20' 58" W, 152 m alt.), Litoral Norte do Estado da Bahia, Brasil, que se caracteriza por um clima tropical úmido, porém com uma estação seca bem definida e geralmente quente de outubro a março. Avaliou-se um pomar de laranjeira 'Pêra' enxertada em limoeiro 'Cravo', com 12 anos de idade, no espaçamento de 6,5 x 5 m, em latossolo vermelho amarelo coeso distrófico, submetido a diferentes manejos de irrigação, em delineamento experimental em blocos casualizados com sete tratamentos e quatro repetições.

A irrigação complementar foi utilizada para suprir a demanda de água, seguido de um turno de rega fixo, sendo 2h diárias no período seco e 1h diária no período úmido, conforme recomendado por Coelho et al. (2006) para a região dos tabuleiros costeiros. A evapotranspiração de referência foi estimada pela equação modificada de Penman-Monteith, conforme Allen et al. (1998) a partir dos dados obtidos na estação meteorológica da fazenda, com coeficiente de cultura (K_c) médio adotado entre 0,3 e 0,5. Foram aplicados os seguintes tratamentos: (i) irrigação plena (100% da evapotranspiração da cultura - ET_c), (ii) sequeiro (0% da ET_c), (iii) PRD15 (50% da ET_c , alternando os lados de irrigação a cada 15 dias), (iv) PRD30 (50% da ET_c , alternando os lados de irrigação a cada 30 dias), (v) RDIF1 (0% da ET_c apenas na fase de florescimento/pegamento do fruto), (vi) RDIF2 (0% da ET_c apenas na fase de

crescimento do fruto) e (vii) RDIF3 (0% da ETc apenas na fase de maturação do fruto). A irrigação foi por gotejamento, utilizando gotejadores de vazão 6L/H espaçados em 60 cm, sendo quatro gotejadores em cada lado da planta.

2.2. Umidade do solo

A umidade do solo foi determinada a partir de valores de constante dielétrica do solo, obtidas com uso de sondas artesanais de TDR (Reflectometry Domain Time), ligadas a um datalogger (CR1000, Campbell Scientific, Logan, USA). As sondas de TDR foram instaladas em uma planta de cada tratamento, na profundidade de 0,25 m, posicionadas a 1,0m do caule, realizando-se as leituras a cada 15 dias.

2.3. Avaliação biométrica

Durante o triênio avaliado, ao final de cada colheita, foram feitas medições da altura das plantas e diâmetro das copas, obtidas com o auxílio de uma régua improvisada, a partir de um tubo de PVC devidamente graduado em metros, tomando-se a distância do colo da planta, rente ao solo, até o seu topo. Também foi avaliado o volume (V) da copa (m³), determinado com base nas medições da altura da planta (H) e do diâmetro médio da copa (Dm), sendo este último obtido no sentido da linha (DI) e no sentido perpendicular à rua (Dr), por $V = \frac{2}{3} \times \pi \times \frac{Dm^2}{4} \times H$ (Pompeu Junior, 1972).

2.4. Condutância estomática e temperatura foliar

Avaliou-se, mensalmente, das 8h às 9h da manhã, a condutância estomática ao vapor de água (gs) e temperatura foliar (T_f). Todas as medidas foram realizadas a partir de 1,5 m de altura do solo em dois ramos por planta, localizados na parte externa e em lados opostos da copa (quadrantes leste e oeste), tomando-se o valor da gs em uma folha por ramo. A T_f foi obtida em quatro folhas de cada quadrante da planta. A gs foi estimada com o uso de um porômetro de difusão modelo AP4 (Delta-T Devices, Cambridge, Inglaterra) e a T_f foi determinada com o uso de um termômetro infravermelho (Extech, IR201A, Nashua, EUA).

2.5. Análise de produção e qualidade de frutos

Avaliou-se a produção anual e acumulada, no período de 2016 a 2018, utilizando frutos da colheita realizada no mês de julho, por meio da pesagem dos frutos de cada árvore com balança comercial (Toledo do Brasil, modelo 3400, São Bernardo do Campo, Brasil). A eficiência produtiva de cada árvore foi calculada pela razão média entre as produções anuais e os volumes de copa nos respectivos anos. Com os dados de produção de frutos, calculou-se a eficiência no uso de água (WUE) a partir da formula adaptada de Sampaio et al. (2010):

$$WUE = P / LBA \quad (1)$$

onde P é a produção de frutos (kg ha^{-1}) e LBA é a lâmina bruta de água aplicada no pomar ($\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$).

Para análise dos atributos de qualidade dos frutos, coletaram-se dez frutos por planta na parte externa da copa, obedecendo ao critério de uniformização das amostras a partir da coloração da casca. Os seguintes parâmetros do fruto foram avaliados: comprimento (cm), diâmetro (cm), massa (g), rendimento de suco [$JY = (\text{massa de suco}/\text{massa de fruto}) \times 100$], sólidos solúveis totais (SS), medidos em °Brix, por meio de leitura direta em refratômetro de bolso (Atago Brasil Ltda., PAL-1, Ribeirão Preto, Brasil), com os valores corrigidos para 20 °C, e acidez titulável total (TA) do suco, determinada por titulometria com solução de NaOH a 0,1 N e indicador fenolftaleína (AOAC, 1990), sendo os resultados expressos em g/100g de ácido cítrico. Com base nos resultados, calcularam-se a razão entre SS e TA e o índice tecnológico (IT), equivalente à quantidade de sólidos solúveis totais no suco (kg), em uma caixa de colheita de frutos de 40,8 kg, conforme Di Giorgi et al. (1990).

2.6. Análise de expressão gênica

Os frutos foram coletados no estágio 'breaker' (~6 °Brix), sendo o flavedo removido cuidadosamente e congelado imediatamente em nitrogênio líquido para uso posterior. O RNA total das amostras foi isolado utilizando-se TRIzol®, conforme as instruções do fabricante. A qualidade e a integridade do

RNA extraído foram avaliadas por análise em gel de agarose 1% corado com $0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$ de brometo de etídio. As amostras foram tratadas com DNase após o processo de extração, utilizando o Kit Turbo DNA-free (Ambion, Waltham, EUA), segundo as instruções do fabricante ($1 \mu\text{L}$ de DNase).

O cDNA das amostras foi sintetizado, empregando-se o kit First Strand cDNA Synthesis (Fermentas, Waltham, EUA), conforme as instruções do fabricante. As reações de PCR quantitativo em tempo real (qPCR) foram realizadas em termociclador da Stratagene Mx 3005P (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA), que contém o software MxPro-Mx 3005P, usando o kit Maxima™ SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Scientific, Waltham, EUA). As reações de qPCR foram realizadas em triplicata, em volume de reação de $25 \mu\text{L}$, contendo 100 ng de cDNA, 200 nM de cada oligonucleotídeo, $2 \mu\text{L}$ de SYBR Green $1\times$ (Applied Biosciences, Beverly Hills, EUA), tampão de PCR $1\times$, $0,1 \text{ mM}$ de dNTPs, $1,5 \text{ mM}$ de MgCl_2 , $1/2$ Rox a $50\times$, 1U de Taq DNA Polimerase Platinum® (Invitrogen, Waltham, EUA) e água Milli-Q esterilizada por autoclavagem. A amplificação seguiu as seguintes etapas: (I) pré-tratamento a 50°C por 2 min , (II) ativação da Taq DNA Polimerase a 95°C por 10 min , (III) desnaturação a 94°C por 15 s , (IV) anelamento a 60°C por 30 s e (V) extensão a 60°C por 1 min . As etapas 3 a 5 foram repetidas por 40 ciclos. Como controle endógeno para normalização dos dados de qPCR foram utilizados primers para a amplificação dos genes codificando para GAPC2 (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase C2) e UPL7 (ubiquitin protein ligase 7) (Mafrá et al., 2012). Primers foram especificamente desenhados para a amplificação dos genes relacionados com o metabolismo de citrato [*ATP citrato lyase 1 (ACL1)* e *ATP citrato lyase 3 (ACL3)*] e biossíntese de

carotenoides [*fitoeno sintase (PSY)* e *zeta-carotene desaturase (ZDS)*]. Informações sobre os primers utilizados são mostradas na Tabela S1.

Para a quantificação da expressão gênica foram utilizados os métodos comparativos de Ct: $2^{-\Delta Ct}$ e $2^{-\Delta\Delta Ct}$, com dados provenientes de pelo menos três repetições biológicas e três réplicas técnicas, utilizando o tratamento controle (irrigação plena) como referência para comparação dos níveis expressão. Reações controle, desprovidas de cDNA (NTC), também foram utilizadas em todos os experimentos. O programa Dissociation Curve 1.0 (Applied Biosystems, Foster City, EUA) foi utilizado para atestar que somente um produto de PCR foi gerado pela amplificação dos transcritos.

2.7. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste Scott-Knott com significância de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$) e regressão. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico R.

3. Resultados

3.1. Condições climáticas e umidade do solo

A precipitação pluviométrica e a temperatura média do ar apresentaram valores máximos de 178,8 mm e 27,4°C e mínimos de 1,8mm e 21,7 °C respectivamente, ao longo do período experimental (Fig. 1). Assim, ao longo dos três anos de avaliação, o tratamento de RDI na fase de florescimento/pegamento do fruto (RDIF1) e o RDI na fase de crescimento do

fruto (RDIF2) ocorreram nos períodos de menores precipitações pluviométricas, com média de 52,3 e 31,9 mm e maiores temperaturas, com valores médios de 26,2 e 26,4 °C, respectivamente. Por sua vez, o tratamento de RDI na fase de maturação do fruto (RDIF3) correspondeu com o período de maior precipitação pluviométrica e menor temperatura (abril a julho) (Fig. 1).

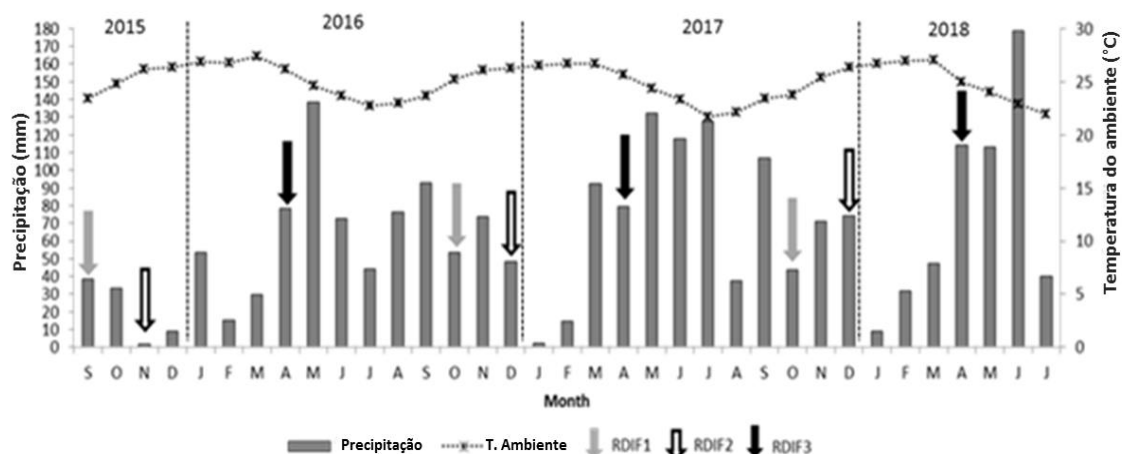


Fig. 1. Precipitação pluviométrica e temperatura média do ar mensal na localidade do experimento. Inhambuque – BA, Set/2015-Jul/2018. RDIF1 – RDI de 0% da irrigação complementar na fase de florescimento/pegamento de fruto; RDIF2- RDI de 0% de irrigação complementar na fase de desenvolvimento do fruto; RDIF3 – RDI de 0% de irrigação complementar na fase de maturação do fruto

A umidade do solo variou entre os diferentes tratamentos, com a irrigação plena apresentando valores médios de $0,25 \text{ cm}^3\text{cm}^{-3}$ e o tratamento de sequeiro $0,14 \text{ cm}^3\text{cm}^{-3}$ (Fig. 2 A). Por outro lado, os tratamentos de PRD seguiram uma tendência de redução e aumento da umidade em virtude da alternância do lado da irrigação. Neste caso, com valores médios máximos de $0,24 \text{ cm}^3\text{cm}^{-3}$ e mínimos de $0,11 \text{ cm}^3\text{cm}^{-3}$ indicando o lado mais úmido e o outro mais seco, respectivamente (Fig. 2 B-C). Os tratamentos de RDI apresentam diferentes valores de umidades de acordo com o período no qual o déficit foi implementado, sendo que o RDI na fase de florescimento/pegamento

de fruto apresentou umidade média de $0,12 \text{ cm}^3\text{cm}^{-3}$ durante a suspensão da irrigação e $0,23 \text{ cm}^3\text{cm}^{-3}$ quando irrigado (Fig. 2D). O RDI na fase de desenvolvimento do fruto passou por maior período de restrição hídrica, devido à suspensão da irrigação ocorrer nos meses com baixa precipitação pluviométrica (dezembro a abril, Fig. 1.), apresentando valores médios de $0,11 \text{ cm}^3\text{cm}^{-3}$ quando não houve irrigação e $0,22 \text{ cm}^3\text{cm}^{-3}$ quando irrigado (Fig. 2D). O RDI na fase de maturação não teve grande variação na umidade do solo, mesmo com a restrição hídrica, pois a suspensão da irrigação ocorreu durante o período com maior precipitação pluviométrica, observando-se valor médio da umidade de $0,22 \text{ cm}^3\text{cm}^{-3}$ (Fig 2D).

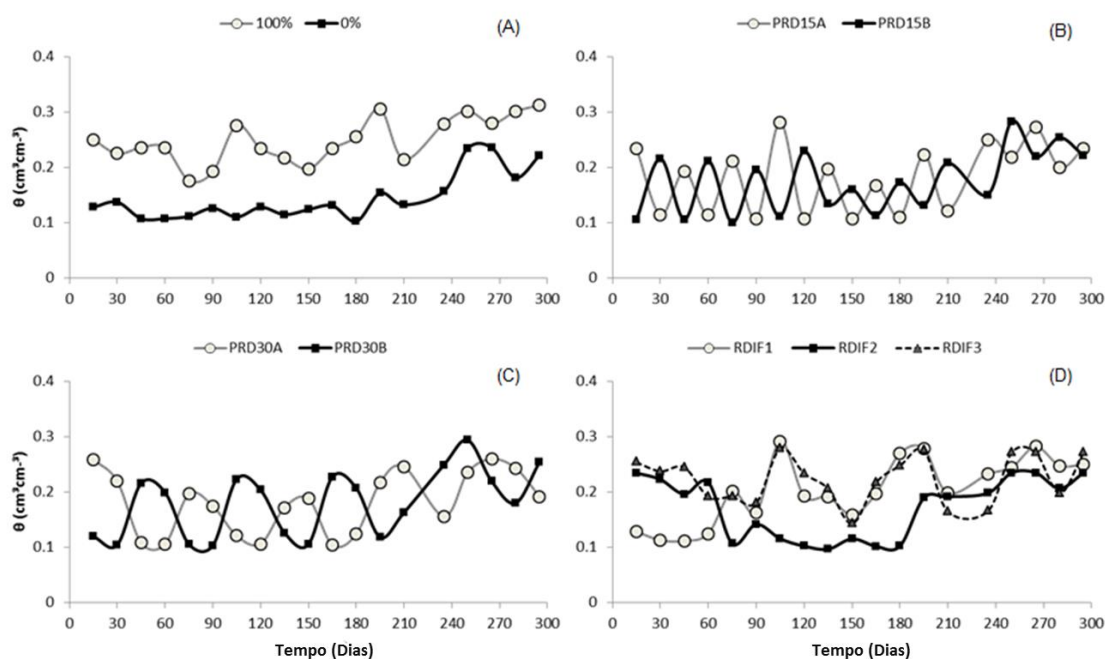


Fig. 2. Umidade do solo, nos diferentes tratamentos, entre outubro de 2016 e julho de 2017. A- Irrigação plena (100%) e Sequeiro (0%), B- PRD 15 dias, lado A (PRD15A) e lado B (PRD15B), C- PRD 30 dias, lado A (PRD30A) e lado B (PRD30B) e D- RDI na fase de florescimento/pegamento de fruto (RDIF1), RDI na fase desenvolvimento do fruto (RDIF2) e RDI na fase maturação do fruto (RDIF3).

3.2. Condutância estomática e temperatura foliar

A condutância estomática (g_s) foi influenciada pelos diferentes tratamentos de irrigação. Nota-se que o tratamento com irrigação plena apresentou a maior g_s , enquanto que os tratamentos que receberam menor quantidade de água apresentaram menores valores de g_s (Fig. 3). Os menores valores de g_s foram observados durante os meses mais quentes, período que vai de outubro até fevereiro. Em contrapartida, valores maiores foram encontrados nos meses com temperaturas mais amenas, entre março e julho. É possível observar que, quanto maior temperatura foliar, menor condutância, e vice-versa (Fig. 3). Foram encontrados valores médios de 0,30 e 0,13 mol m⁻²s⁻¹ de g_s e 30,3 e 33,0 °C da T_f na irrigação plena e sequeiro, respectivamente (Fig. 3A).

O PRD com alternância dos lados a cada 15 dias, apresentou valores médios de g_s ligeiramente inferiores e T_f ligeiramente superiores ao PRD com alternância dos lados a cada 30 dias, sendo 0,20 e 0,22 mol m⁻²s⁻¹ de g_s e 31,5 e 31,1 °C de T_f , respectivamente (Fig. 3B). Com relação ao RDI, os menores valores de g_s e maiores de T_f foram observados no tratamento de RDI na fase de desenvolvimento do fruto, sendo os valores médios de 0,16 mol m⁻²s⁻¹ de g_s e 32,5 °C da T_f . Os RDIs na fase de florescimento/pegamento de fruto e maturação, apresentaram, respectivamente, valores médios de 0,21 e 0,22 mol m⁻²s⁻¹ de g_s e 31,3 e 30,9 °C de T_f (Fig. 3C).

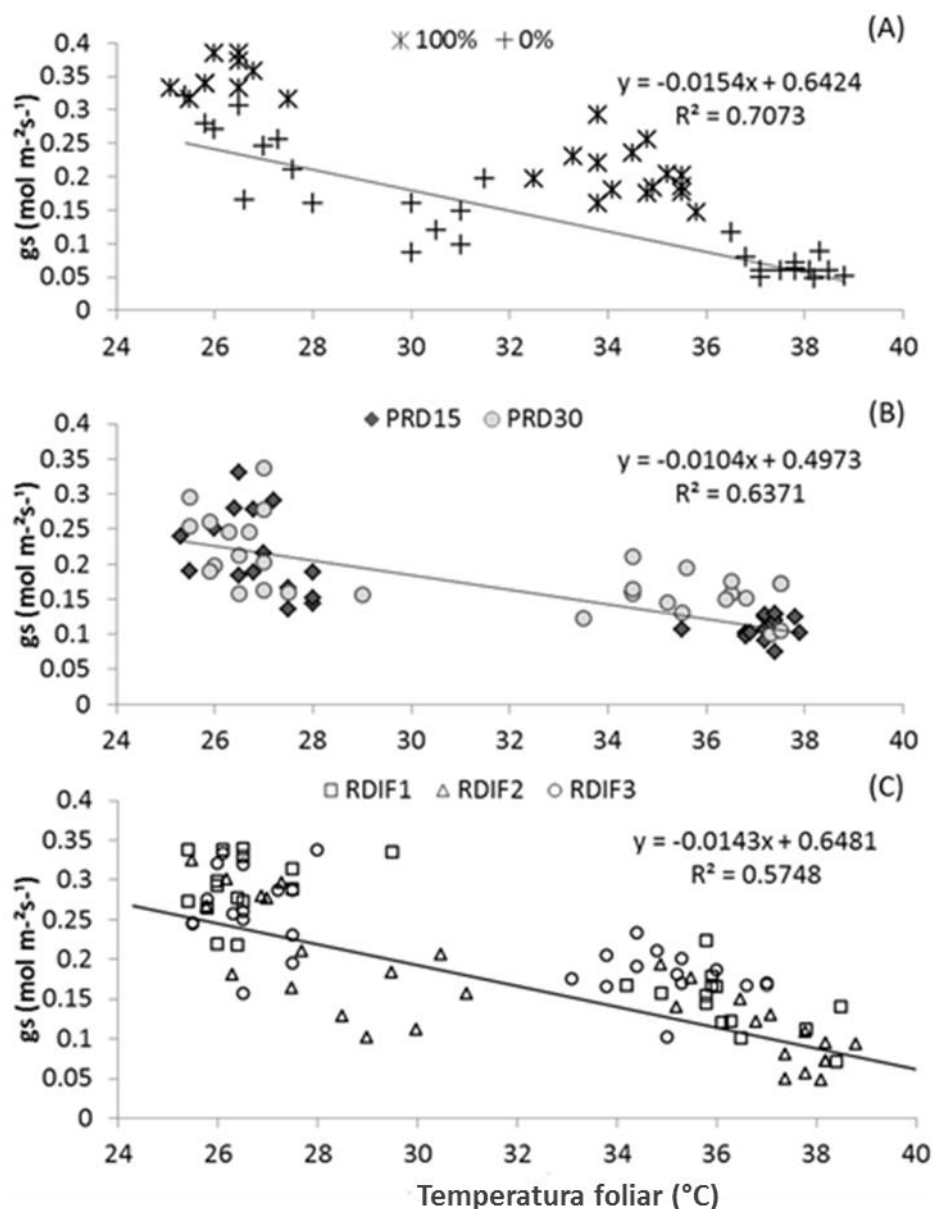


Fig. 3. Relação entre condutância estomática e temperatura foliar. (A)- Irrigação plena (100%) e Sequeiro (0%), (B)- PRD 15 dias (PRD15) e PRD 30 dias (PRD30) e (D) RDI na fase de florescimento/pegamento de fruto (RDIF1), RDI na fase desenvolvimento do fruto (RDIF2) e RDI na fase maturação do fruto (RDIF3).

Os fatores ambientais influenciariam a condutância estomática e temperatura foliar no PRD e RDI ao longo do período experimental (Figs. 4 e 5). Em todos os tratamentos avaliados, nota-se uma correlação inversamente proporcional entre a condutância estomática e déficit de pressão de vapor (DPV), em que quanto maior o DPV, menor a g_s e vice-versa (Fig. 4). Os

maiores valores de DPV foram observados durante os meses mais quentes e os menores durante os meses mais frios, com valores médios de 3,5 e 2,9 KPa, respectivamente. Foram registrados valores máximos e mínimos de condutância estomática com DPV de 2,6 e 3,7 KPa, respectivamente.

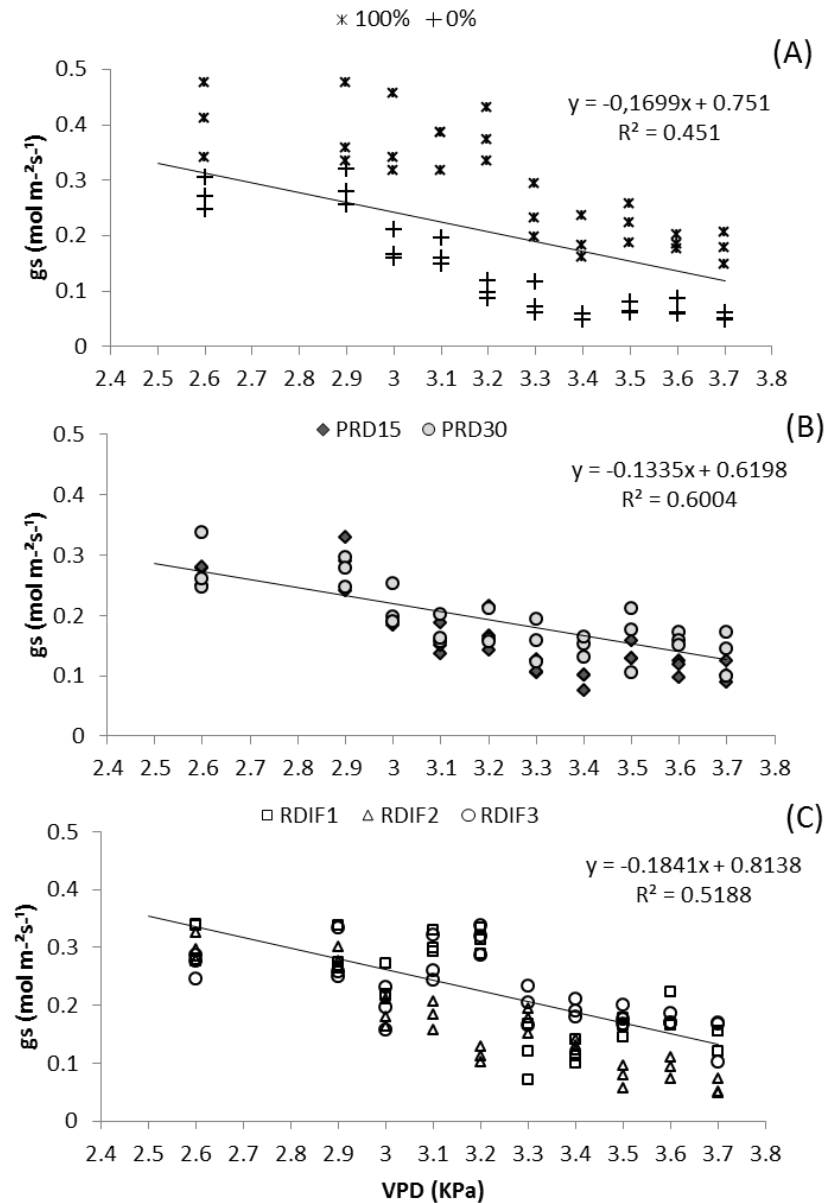


Fig. 4. Relação entre condutância estomática (g_s) e déficit de pressão de vapor (VPD). (A)- Irrigação plena (100%) e Sequeiro (0%), (B)- PRD 15 dias (PRD15) e PRD 30 dias (PRD30) e (D) RDI na fase de florescimento/pegamento de fruto (RDIF1), RDI na fase desenvolvimento do fruto (RDIF2) e RDI na fase maturação do fruto (RDIF3).

Observa-se uma relação diretamente proporcional entre a temperatura do ambiente e temperatura da folha, quanto maior a temperatura do ambiente, maior temperatura foliar (Fig. 5). Em todos os tratamentos, os maiores valores de Tf foram registrados com temperatura do ambiente acima de 26 °C e as menores abaixo de 24 °C.

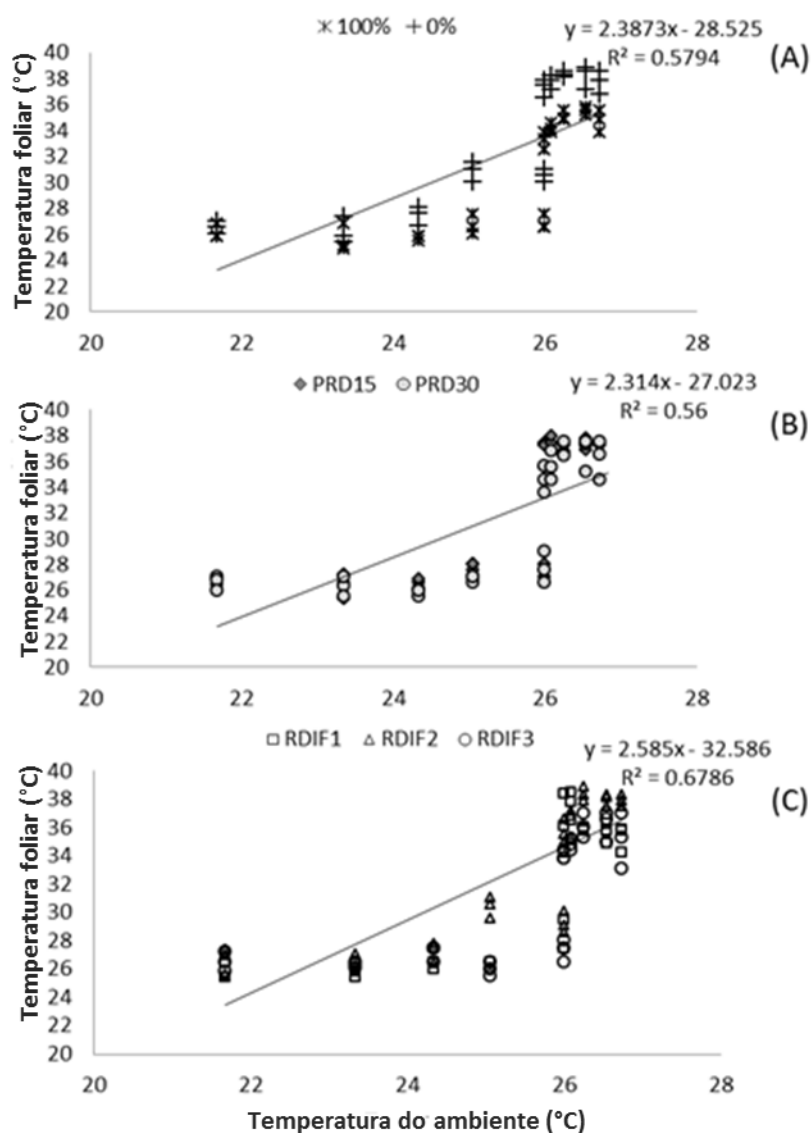


Fig. 5. Relação entre temperatura foliar e temperatura do ar. (A)- Irrigação plena (100%) e Sequeiro (0%), (B)- PRD 15 dias (PRD15) e PRD 30 dias (PRD30) e (D) RDI florescimento/pegamento de fruto (RDIF1), RDI desenvolvimento do fruto (RDIF2) e RDI maturação do fruto (RDIF3).

3.3. *Produção e qualidade de frutos*

Em todos os anos avaliados, houve diferença significativa na produção de frutos entre os diferentes manejos de irrigação adotados (Tabela 1). Os tratamentos PRD alternando os lados a cada 15 dias (PRD15) e RDI na fase de maturação do fruto (RDIF3) apresentaram valores de produção similares àqueles do tratamento de irrigação plena nos anos de 2016 e 2017, mas ~12% menores no ano de 2018 (Tabela 1). Considerando-se a produção acumulada de frutos no triênio avaliado, os maiores valores foram registrados para o tratamento de irrigação plena, seguido pelos tratamentos de PRD15 e RDIF3, enquanto que os tratamentos de sequeiro e RDI na fase de desenvolvimento do fruto (RDIF2) resultaram nos menores valores de produção acumulada (Tabela 1). Uma elevada taxa de abscisão de frutos foi observada para o tratamento RDIF2.

Não houve diferença significativa entre as variáveis analisadas de altura, diâmetro e volume de copa no triênio avaliado (Tabela 1). Por outro lado, a eficiência produtiva foi influenciada pelos diferentes manejos de irrigação. Os tratamentos de RDIF2 e sequeiro apresentaram as menores eficiências produtivas, ~30% menor do que os demais tratamentos, que se enquadraram no mesmo agrupamento. Os tratamentos de PRD apresentaram maior eficiência no uso da água (EUA) em comparação aos demais tratamentos, com o PRD15 apresentando EUA ~43% maior do que o controle (Tabela 1).

Tabela 1. Produção anual e acumulada (P) de frutos, altura (A) e volume (V) de copa, eficiência produtiva (EF) e eficiência no uso da água (EUA) e lamina bruta aplicada (LB) em laranjeira ‘Pera’ enxertada em limoeiro ‘Cravo’, sob diferentes manejos de irrigação, no período de 2016 a 2018, no município de Inhambupe, Bahia.

Trameto	P2016	P2017	P2018	P 2016-2018	A	V	EF	EUA	LB
	-----kg planta ⁻¹ -----				(m)	(m ³)	(kg m ⁻³)		(mm)
100%	102.65±10.39a	112.31±5.13a	116.14±7.5a	331.10±15.81a	3.01±0,3	24.32±1.03	4.54±0.51a	4.49±0.06c	2119
0%	70.26±4.26c	72.30±4.26c	71.23±4.90d	213.79±7.29d	3.12±0,4	27.41±1.70	2.59±0.49b	-	0
PRD15	96.47±5.18a	102.05±6.15a	101.82±5.77b	300.34±10.64b	3.05±0,3	26.62±1.17	3.76±0.22a	7.92±0.04a	1099
PRD30	81.77±5.06b	85.12±4.05b	84.41±5.08c	251.30±6.80c	3.16±0.2	25.52±1.97	3.24±0.14a	6.83±0.04b	1099
RDIF1	81.66±11.23b	84.50±5.63b	82.92±4.06	249.08±7.40c	3.14±0.2	23.21±1.49	3.58±0.46a	5.18±0.05c	1622
RDIF2	75.07±6.46b	72.93±4.91c	71.10±5.29d	219.10±8.08d	3.12±0.7	24.11±1.83	2.85±0.21b	4.86±0.07c	1035
RDIF3	94.47±6.34a	101.40±5.49a	102.93±4.53b	298.80±10.08b	2.99±0.5	23.26±1.24	4.28±0.33a	4.98±0.05c	1660
CV (%)	12.67	10.83	10.17	9.97	4.9	13.65	16.27	12.94	-

Médias seguidas de mesma letra pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). 100%-Irrigação plena; 0%-Sequeiro; PRD15-PRD alternando-se os lados de irrigação a cada 15 dias; PRD30- PRD alternando-se os lados de irrigação a cada 30 dias; RDIF1-RDI de 0% da irrigação complementar na fase de florescimento/pegamento de fruto; RDIF2- RDI de 0% da irrigação complementar na fase de desenvolvimento do fruto; RDIF3- RDI de 0% da irrigação complementar na fase de maturação do fruto.

Os atributos de qualidade do fruto também foram afetados significativamente pelos diferentes manejos de irrigação (Tabela 2). Quando comparados a irrigação plena, os tratamentos de sequeiro e RDIF2 apresentaram reduções em ~20, ~5, ~6 e 33% de massa, comprimento de fruto rendimento de suco e relação SS/AT, respectivamente. Por outro lado, os maiores valores de acidez titulável foram verificados em RDIF2, ~42% maiores que o tratamento de irrigação plena (Tabela 2). Os tratamentos PRD15 e RDIF3 apresentaram resultados semelhantes à irrigação plena, em que a redução da lâmina de água não influenciou significativamente a massa e o comprimento do fruto, o rendimento de suco, a acidez titulável e a relação SS/AT (Tabela 2). Por outro lado, o tratamento PRD30 reduziu em ~5 e ~7% o comprimento do fruto e o rendimento de suco, e aumentou em 30% a acidez titulável, em comparação ao tratamento de irrigação plena. Não foram encontradas diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação para as variáveis diâmetro do fruto, teor de sólidos solúveis e índice tecnológico (Tabela 2).

Tabela 2. Massa (M), comprimento (C) e diâmetro (D) do fruto, rendimento de suco (R), acidez titulável (AT), sólidos solúveis (SS), ratio (SS/AT) e índice tecnológico (IT) de frutos de laranjeira Pêra enxertada em limoeiro 'Cravo', sob diferentes manejos de irrigação, no período de 2016 a 2018, no município de Inhambupe, Bahia.

Tratamento	M (g)	C (cm)	D (cm)	R (%)	AT (%)	SS (Brix°)	SS/TA	IT
100%	247.7±9.63a	8.0±0.16a	7.8±0.14	58.7±0.54a	0.7±0.02b	9.6±0.13	13.0±0.13a	2.0±0.46
0%	200.1±8.23b	7.6±0.21b	7.6±0.17	55.8±0.79b	1.1±0.03a	10.1±0.07	8.8±0.07b	2.3±0.26
PRD15	241.9±7,2a	8.0±0.21a	7.7±0.20	57.3±0.17a	0.8±0.02b	9.8±0.10	12.9±0.11a	2.3±0.12
PRD30	234.8±6.14a	7.7±0.19b	7.6±0.17	54.6±0.18b	1.0±0.04a	10.1±0.07	11.5±0.07a	2.1±0.61
RDIF1	231.4±7.74a	7.6±0.13b	7.7±0.14	58.4±0.51a	0.8±0.01b	9.1±0.36	12.2±0.36a	2.1±0.50
RDIF2	195.7±5.82b	7.6±0.05b	7.5±0.17	54.6±0.52b	1.2±0.02a	10.0±0.23	8.6±0.24b	2.4±0.39
RDIF3	205.4±4.08a	7.9±0.17a	7.7±0.12	57.8±0.19a	0.8±0.02b	9.5±0.20	11.7±0.20a	2.0±0.28
CV (%)	6.71	2.48	2.81	4.52	8.97	5.15	9.28	7.52

Médias seguidas de mesma letra pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). 100%-Irrigação plena; 0%-Sequeiro; PRD15-PRD alternando-se os lados de irrigação a cada 15 dias; PRD30- PRD alternando-se os lados de irrigação a cada 30 dias; RDIF1-RDI de 0% da irrigação complementar na fase de florescimento/pegamento de fruto; RDIF2- RDI de 0% da irrigação complementar na fase de desenvolvimento do fruto; RDIF3- RDI de 0% da irrigação complementar na fase de maturação do fruto.

3.4. Expressão gênica

Diferenças significativas nos níveis de expressão dos genes relacionados com o metabolismo de citrato (*ACL1* e 3) e biossíntese de carotenoides (*PSY* e *ZDS*) foram observadas entre os diferentes manejos de irrigação (Fig. 6). Os tratamentos de PRD não induziram variação significativa na expressão dos genes analisados em comparação ao tratamento de irrigação plena. Por outro lado, quando comparados a irrigação plena, houve um aumento significativo nos níveis de mRNA dos genes *ACL1*, *ACL3* e *ZDS* nos tratamentos de sequeiro, RDIF1 e RDIF2, enquanto que os maiores níveis de mRNA de *PSY* foram observados nos tratamentos RDIF1 e RDIF3 (Fig. 6).

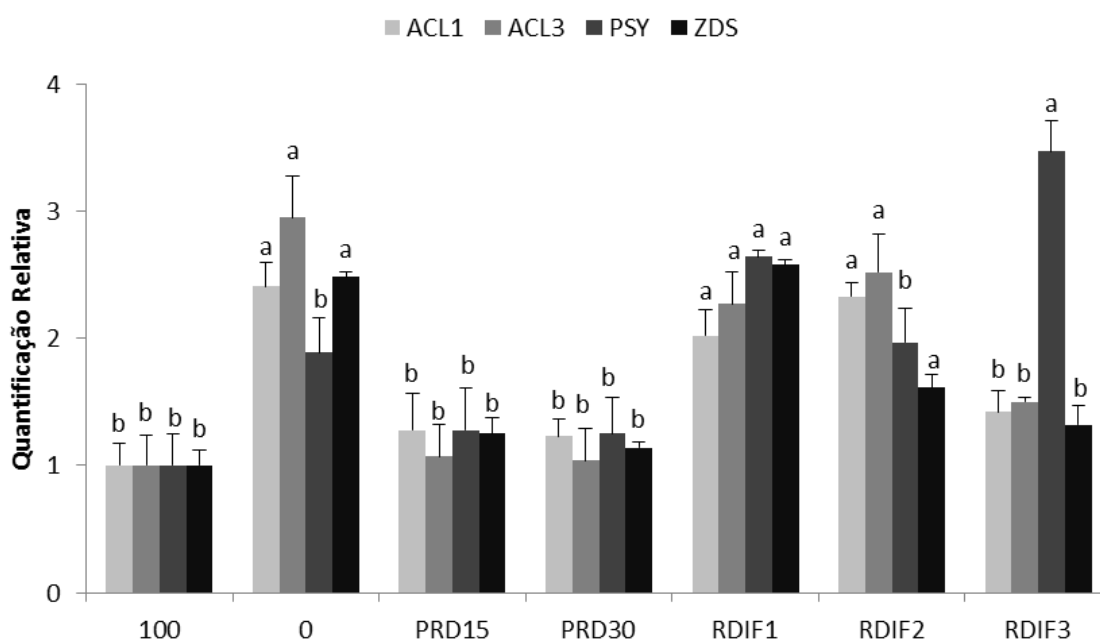


Fig. 6. Análise da expressão dos genes ATP citrato lyase 1 (*ACL1*), ATP citrato lyase 3 (*ACL3*), fitoeno sintase (*PSY*) e zeta-caroteno desaturase (*ZDS*) em frutos de laranja 'Pera' enxertada em limoeiro 'cravo'. Os níveis de expressão gênica são apresentados utilizando o tratamento controle (100%) como referência. Os dados são a média $\pm$ SE de três réplicas biológicas e três réplicas técnicas para cada réplica biológica. Médias seguidas de mesma letra pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

4. Discussão

A seca é um estresse multidimensional que envolve maiores valores na disponibilidade de radiação luminosa, temperatura, DPV, e menores valores médios de precipitação. O comportamento do clima registrado no presente estudo, com as maiores precipitações pluviométricas nos meses de abril a julho e menores entre outubro e fevereiro, e maiores temperaturas entre dezembro e abril e menores entre maio e setembro (Fig. 1), é típico da região dos tabuleiros costeiros do estado da Bahia (D'Angiolella et al., 2012). A citricultura ocorre na maioria dos casos, em condição de sequeiro, por isso a disponibilidade hídrica representa um dos principais fatores que limitam essa atividade. Portanto, é importante conhecer a influência do ambiente sobre a cultura de citros, avaliando os efeitos dos fatores do clima no uso e perdas de água pelas plantas e também na disponibilidade de água no solo (Reuther, 1973).

É importante ressaltar que a partir do momento em que há escassez de água no solo, a planta começa a reduzir a transpiração, o que promove redução da perda de água pelas folhas e contribui para economia da água disponível (Medina et al., 1999). A aplicação dos tratamentos de irrigação plena, PRD15, PRD30 e RDIF3 manteve os valores de umidade do solo elevados durante todo o período experimental (Fig. 2). Por outro lado, os tratamentos RDIF1 e RDIF2 apresentaram valores de umidade do solo similares àqueles do tratamento de sequeiro durante parte do período de déficit hídrico intenso (Fig. 2). Em citros, a fase de florescimento/pegamento e desenvolvimento de fruto é sensível ao déficit hídrico (Medina et al., 1999), o que pode ter contribuído para que esses tratamentos apresentassem os menores valores de produção entre os manejos de irrigação adotados (Tabela

1), tendo em vista que nesses tratamentos o déficit hídrico foi implementado no período com menor precipitação pluviométrica e maiores temperaturas (Fig. 1).

O DPV reflete o vapor de água presente na atmosfera, sendo que altos valores dessa variável, geralmente observados em períodos secos, resultam na redução da condutância estomática das plantas, uma resposta para reduzir a perda de água para o ambiente, o que acaba promovendo aumento da temperatura foliar (Paiva et al., 2005). No presente estudo a manutenção de elevados valores de condutância estomática implicou na diminuição da temperatura foliar (Fig. 3) por meio da dissipação da energia incidente via calor latente, evitando assim o estresse térmico (Tardieu, 2012). A temperatura tem influência na fotossíntese, de maneira direta na atividade enzimática no processo fotossintético e cadeia transportadora de elétrons; e indireta quando há diferença entre o DPV da folha e do ar (Fig. 4); dessa forma, influencia o ajuste estomático (Cotrim et al., 2017). Valores intermediários de g_s e T_f foram registrados nos tratamentos de PRD como uma resposta à restrição do volume de solo irrigado (Fig. 3). Ambos, fechamento parcial dos estômatos e restrição do volume de solo irrigado contribuem para a redução do uso da água e aumento da eficiência no uso da água (EUA) (Hutton e Loveys, 2011), como observado no presente estudo. Os tratamentos de RDI reduziram a g_s e aumentaram a T_f apenas no período em que o déficit hídrico foi implementado (Fig. 3), o que não favoreceu o aumento da EUA (Tabela 1).

Os resultados de produção demonstraram que é possível promover níveis de rendimento similares àqueles de irrigação plena mesmo com a redução da lâmina de água aplicada, conforme evidenciado nos tratamentos PRD15 e RDIF3 (Tabela 1). Esses tratamentos apresentaram uma redução de

apenas ~9% na produção acumulada de frutos no triênio avaliado em comparação ao tratamento de irrigação plena (Tabela 1), sendo comparável aos valores de perda de rendimento de ~9% relatado para laranjeira doce do grupo Navel submetida a PRD (Hutton e Loveys, 2011), e de ~10% relatado para laranjeira 'Lane late' sob RDI na fase de maturação do fruto (Pérez-Pérez et al., 2009) cultivadas em clima Mediterrâneo. Esses resultados satisfatórios de produção são provavelmente devidos ao menor intervalo de tempo para alternância do lado de irrigação no tratamento PRD15, o que reduz os riscos de danos oxidativos induzidos pela longa exposição ao déficit hídrico em ambos os tecidos radicular e foliar, e ao período em que o tratamento RDIF3 foi implementado, no qual ocorre maior precipitação pluviométrica e temperaturas mais amenas (Fig. 1), contribuindo para a manutenção de elevados valores de umidade do solo (Fig. 2). Por outro lado, os baixos valores de produção obtidos no tratamento RDIF2 se devem, pelo menos em parte, a elevada taxa de abscisão de frutos, que na fase de crescimento do fruto ocorre principalmente em razão da combinação de elevadas temperaturas e intenso déficit hídrico (Sentelhas, 2005). A menor produção do PRD30 em comparação ao PRD15 está associada ao tempo de alternância dos lados, em que quando o mesmo lado da planta é mantido seco por um período de tempo muito longo, a biossíntese de ABA não é contínua, diminuindo a eficiência no controle estomático, além de provocar estresse acentuado (Hartung et al., 2002; Wilkinson e Davies, 2002).

Os tratamentos PRD15 e RDIF3 também se destacaram quanto aos atributos de qualidade do fruto, produzindo frutos com valores de massa, comprimento e tamanho, rendimento de suco e relação entre sólidos solúveis e

acidez titulável similares àqueles do tratamento de irrigação plena (Tabela 2). Esses resultados contrastam em parte com aqueles obtidos para laranja doce cultivada em clima Mediterrâneo, onde o uso do PRD (Hutton e Loveys, 2011; Treeby et al., 2007) e RDI na fase de maturação do fruto (Garcia-Tejero et al., 2010; Pérez-Pérez et al., 2009) reduziu o tamanho do fruto e a percentagem de suco, mas aumentou os teores de sólidos solúveis e acidez titulável, tornando-os mais adequados para a produção de frutos para suco em vez de mesa (Hutton e Loveys, 2011). Tais diferenças podem ser explicadas pelas diferentes condições de clima e estratégias de PRD adotadas. Em contraste com as condições de clima Mediterrâneo, nas condições dos tabuleiros costeiros a fase de maturação do fruto coincide com o período de maior precipitação pluviométrica e temperaturas mais amenas (Fig. 1), por isso a restrição da irrigação não influenciou os resultados de qualidade de fruto (Tabela 2). Quando há restrição hídrica no período de maturação de fruto, observa-se aumento do teor de sólidos solúveis e acidez (Garcia-Tejero et al., 2010).

A acidez titulável e a coloração do fruto estão entre os principais atributos de qualidade do fruto. Em frutas cítricas, a acidez do fruto é determinada principalmente pela presença de ácido cítrico (Yamaki, 1979), enquanto que a coloração do fruto é determinada pelo acúmulo de carotenoides e concomitante degradação da clorofila (Kato et al., 2004; Rodrigo et al., 2004). Os processos envolvidos no metabolismo e acúmulo de ácido cítrico e carotenoides durante o desenvolvimento do fruto estão sob ambos os controles genético e ambiental (Dhuique-Mayer et al., 2009; Etienne et al., 2013). Estudos de expressão gênica têm mostrado o envolvimento dos genes

ACL, *PSY* e *ZDS* na regulação dos respectivos conteúdos de ácido cítrico e carotenoides durante o processo de amadurecimento de frutas cítricas (Kato et al., 2004; Katz et al., 2007; Lin et al., 2015; Rodrigo et al., 2004; Yu et al., 2012). Os resultados de expressão gênica mostraram uma correlação entre a acidez titulável e os níveis de expressão de *ACL1* e *ACL3* nos tratamentos de sequeiro, RDIF1 e RDIF2 (Fig. 6), sugerindo que esses genes desempenham um importante papel na regulação do conteúdo de citrato em plantas submetidas a esses manejos de irrigação. Por outro lado, a falta de correlação entre a acidez titulável e os níveis de expressão de *ACL1* e *ACL3* nos tratamentos PRD sugere que outras vias de degradação podem estar envolvidas na regulação do conteúdo de citrato nessas condições. Os elevados níveis de expressão simultânea de *PSY* e *ZDS* no tratamento RDIF1 correlacionam-se com a maior intensidade de coloração da casca constatada em frutos oriundos desse tratamento, com base em observações visuais.

5. Conclusões

Em ciclos de alternância mais curtos (15 dias), o PRD é uma estratégia de manejo de irrigação viável em laranjeira doce cultivada em condições de clima tropical, tendo em vista que a redução da lâmina de água não reduz significativamente a produção e qualidade de frutos, além de aumentar a eficiência no uso da água. O RDI também é estratégia de manejo de irrigação viável para economia de água, porém não deve ser aplicada em períodos de maior necessidade hídrica e baixa precipitação pluviométrica, pois resulta em menor produção e qualidade de frutos. O presente estudo também contribui com informações sobre a expressão dos genes envolvidos na biossíntese de

carotenoides e metabolismo do citrato em função da disponibilidade hídrica, em frutos de laranjeira doce, permitindo a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na regulação dos conteúdos de ácido cítrico e carotenoides em resposta aos diferentes manejos de irrigação.

Agradecimentos

Agradecemos à Fazenda Agropecuária Gavião Ltda. (Inhambupe, Bahia) por ceder e manutenção da área experimental. Este trabalho contou com o apoio de bolsas de pesquisa do CNPq (Processo nº 306667 / 2014-2 e 478733 / 2013-5), da Embrapa (Processo Macroprograma 2 # SEG # 02.13.03.005.00.00) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Walter dos Santos Soares Filho, Marcio Gilberto Cardoso Costa e Maurício Antônio Coelho Filho são bolsistas de pesquisa do CNPq.

Referencias

- Almeida, C.O. de, Passos, O.S., 2011. Citricultura brasileira em busca de novos rumos: Desafios e oportunidades na região nordeste. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas. 145 p.
- AOAC, 2012. Official methods of analysis, 15th Ed. AOAC, Arlington. 1298 p.
- Coelho, E. F.; Coelho Filho, M. A.; Simões, W. L.; Coelho, Y. S., 2006. Irrigação em citros nas condições do nordeste do Brasil. Laranja, v.27, p.297-320.
- Collins, M.J., Fuentes, S., Barlow, E.W.R., 2010. Partial rootzone drying and deficit irrigation increase stomatal sensitivity to vapour pressure deficit in anisohydric grapevines. Funct. Plant Biol. 37, 128-138.

- Cotrim, C., Coelho, E., Da Silva, A.J., Santos, M., 2017. Regulated deficit irrigation and 'Tommy Atkins' mango crop productivity under drip. *Rev. Bras. Agric. Irrig.* 11, 2229-2238.
- D'angiolella, G.L.B., Castro Neto, M.T., Coelho, E.F., 2012. Caracterização climática dos tabuleiros costeiros do Recôncavo Baiano. Available at: <http://www.cbmet.com/cbmfiles/13831e6409241d28220970bafb518cd63d.pdf>.
- Dhuique-Mayer, C., Fanciullino, A.L., Dubois, C.; Ollitrault, P., 2009. Effect of genotype and environment on citrus juice carotenoid content. *J. Agric. Food Chem.* 57, p. 9160-9168.
- Di Giorgi, F., Ide, B.Y., Dib, K., Marchi, R.J., Triboni, H.R., Wagner, R.L., 1990. Contribuição ao estudo do comportamento de algumas variedades de citros e suas implicações agroindustriais. *Laranja* 11, 567-612.
- Dry, P., Loveys, R., McCarthy, M., Stoll, M., 2001. Strategic management in Australian vineyards. *J. Int. Sci. Vigne Vin.* 35, 129-139.
- Etienne, A., Génard, M., Lobit, P., Mbéguié-A-Mbéguié, D., Bugaud, C., 2013. What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. *J. Exp. Bot.* 64, 1451-1469.
- FAO, 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/citrus-fruit/en/>. (accessed 30 January 2019).
- Ferreira, R., Selles, G., Silva, H., Ahumada, R., Muñoz, I., Muñoz, V., 2006. Efecto Del agua aplicada em las relaciones hídricas y productividad de la vid 'Crimson Seedles'. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília. v.41. n. 7, 1109-1118.

- García-Tejero, I., Jiménez-Bocanegra, J.A., Martínez, G., Romero, R., Durán-Zuazo, V.H., Muriel-Fernández, J.L., 2010a. Positive impact of regulated deficit irrigation on yield and fruit quality in a commercial citrus orchard [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck, cv. salustiano]. *Agric. Water Manag.* 97, 614-622.
- García-Tejero, I., Romero-Vicente, R., Jiménez-Bocanegra, J.A., Martínez-García, G., Durán-Zuazo, V.H., Muriel-Fernández, J.L., 2010b. Response of citrus trees to deficit irrigation during different phenological periods in relation to yield, fruit quality, and water productivity. *Agric. Water Manag.* 97, 689-699.
- Goodwing, I., Boland, A.M., 2002. Scheduling deficit irrigation of fruit trees for optimizing water use efficiency. In: *Deficit irrigation practices*. FAO, Rome, pp. 67-78.
- Hartung, W.; Sauter, a.; Hose, E. 2002. Absciscic acid in the xylem: where does it come from, where does it go to? *Journal of Experimental Botany*, v. 53, n. 366, p. 27-32.
- Hutton, R.J., Loveys, B.R., 2011. A partial root zone drying irrigation strategy for citrus - Effects on water use efficiency and fruit characteristics. *Agric. Water Manag.* 98, 1485-1496.
- IBGE, 2018. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html?=&t=resultados> (accessed 30 January 2019).

Kato, M., Ikoma, Y., Matsumoto, H., Sugiura, M., Hyodo, H., Yano, M., 2004.

Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiol.* 134, 824-837.

Katz, E., Fon, M., Lee, Y.J., Phinney, B.S., Sadka, A., Blumwald, E., 2007. The citrus fruit proteome: insights into citrus fruit metabolism. *Planta* 226, 989-1005.

Kirda, C., Topaloğlu, F., Topcu, S., Kaman, H., 2007. Mandarin yield response to partial root drying and conventional deficit irrigation. *Turk. J. Agric. For.* 31, 1-10.

Lin, Q., Wang, C., Dong, W., Jiang, Q., Wang, D., Li, S., Chen, M., Liu, C., Sun, C., Chen, K., 2015. Transcriptome and metabolome analyses of sugar and organic acid metabolism in Ponkan (*Citrus reticulata*) fruit during fruit maturation. *Gene* 554, 64-74.

Loveys, B.R., Stoll, M., Davies, W.J., 2004. Physiological approaches to enhance water use efficiency in agriculture: exploiting plant signaling in novel irrigation practice. In: Bacon, M.A. (Ed.), *Water use efficiency in plant biology*. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 113-142.

Mafrá, V., Kubo, K.S., Alves-Ferreira, M., Ribeiro-Alves, M., Stuart, R.M., Boava, L.P., Rodrigues, C.M., Machado, M.A., 2012. Reference genes for accurate transcript normalization in citrus genotypes under different experimental conditions. *PLoS One* 7, e31263.

Mccarthy, M.G., 1997. The effect of transient water deficit on berry development of Shyraz *Vitis vinifera* L. *Aust. J. Grape Wine Res.* 3, 102-108.

- Medina, C.L., Machado, E.C., Gomes, M.M.A., 1999. Stomatal conductance, transpiration and photosynthesis rates in 'Valencia' orange trees submitted to water stress. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 11, 29-34.
- Neves, M.F., Trombin, V.G., 2017. Anuário da citricultura 2017. Available at: http://www.citrusbr.com/download/biblioteca/CitrusBR_Anuario_2017_alta.pdf.
- Paiva, A. S.; Fernandes, E. J.; Rodrigues, T. J. D.; Turco, J. E. P., 2005. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. *Engenharia Agrícola*, v.25, p.161-169.
- Panigrahi, P., Sharma, R.K., Parihar, S.S., Hasan, M., Rana, D.S., 2013. Economic analysis of drip-irrigated Kinnow mandarin orchard under deficit irrigation and partial root zone drying. *Irrig. Drain.* 62, 67-73.
- Pérez-Pérez, J.G., Robles, J.M., Botía, P., 2009 Influence of deficit irrigation in phase III of fruit growth on fruit quality in 'lane late' sweet orange. *Agric. Water Manag.* 96, 969-974.
- Pio, R. M.; Figueiredo, J. O.; Stuchi, E. S.; Cardoso, S. A. B. 2005. Variedades copas. In: MATTOS JÚNIOR, D.; NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JR., J. (Ed.). *Citros*. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, p. 37-60.
- Pompeu Junior, J.; Blumer, S. 2008. Laranjeiras e seus porta-enxertos nos viveiros de mudas cítricas do Estado de São Paulo em 2004-2007. *Revista Laranja*. Cordeirópolis, v. 29, n. 1, p. 35-50.
- Reuther, W. Climate and citrus behavior. 1973. In: REUTHER, W.(ed.) *The citrus industry*. Berkeley: University of California, v.3, p.280-337, cap.9.

- Ribeiro, R.V., Machado, E.C., Santos, M.G., 2005. Leaf temperature in sweet orange plants under field condition: influence of meteorological elements. *Rev. Bras. Agrometeorol.* 13, 353-368.
- Rodrigo, M.J., Marcos, J.F., Zacarías, L., 2004. Biochemical and molecular analysis of carotenoid biosynthesis in flavedo of orange (*Citrus sinensis* L.) during fruit development and maturation. *J. Agric. Food Chem.* 52, 6724-6731.
- Romero P., Navarro, J.M., Pérez-Pérez, J.G., García-Sánchez, F., Gómez-Gómez, A., Porras, I., Martinez, V., Botía, P., 2006. Deficit irrigation and rootstock: their effects on water relations, vegetative development, yield, fruit quality and mineral nutrition of Clementines mandarin. *Tree Physiol.* 26, 1537-1548.
- Romero-Conde, A., Kusakabe, A., Melgar, J.C., 2014. Physiological responses of citrus to partial rootzone drying irrigation. *Scientia Horticulturae.* v. 169, 234–238.
- Sampaio, A.H.R., Coelho Filho, M.A., Coelho, E.F, Daniel, R., 2014. Physiological indicators of 'Thahiti' acid lime under regulated deficit irrigation and partial rootzone drying irrigation. *Irriga* 19, 292-301.
- Sampaio, A.H.R., Coelho Filho, M.A., Coelho, E.F., Daniel, R., Machado, V.V., Carvalho, G.C., Santana Junior, E.B., 2010. Water deficit and partial rootzone drying in an acid lime orchard. *Pesq. Agropec. Bras.* 45, 1141-1148.
- Santos, M.R., Martinez, M.A., Donato, S.L.R., 2013. Gas exchanges of Tommy Atkins mango tree trees under different irrigation treatments. *Biosci. J.* 29, 1141-1153.

- Santos, M.R., Martinez, M.A., Donato, S.L.R., Coelho, E.F., 2014. 'Tommy Atkins' mango yield and photosynthesis under water deficit in semiarid region of Bahia. *Rev. Bras. Eng. Agric. Ambient.* 18, 899-907.
- Santos, M.R., Neves, B.R., Silva, B.L., Donato, S.L.R., 2015. Yield, water use efficiency and physiological characteristics of "Tommy Atkins" mango under partial rootzone drying irrigation system. *J. Water Resour. Prot.* 7, 1029-1037.
- Sentelhas, P.C., 2005. Agrometeorologia dos citros. In: Mattos Junior, D., De Negri, J.D., Pio, R.M., Pompeu Junior, J. (Eds.), *Citros*. Instituto Agronômico/Fundag, Campinas, pp. 317-344.
- Soares Filho, W.S., Ledo, C.A., Souza, A.S., Passos, O.S., Quintela, M.P., Mattos, L.A., 2008. Potential of obtaining new rootstocks in crosses among 'Rangpur' lime, 'Sour' orange, 'Sunki' mandarin and *Poncirus trifoliata*. *Rev. Bras. Frutic.* 30, 215-218.
- Spreer, W., Nagle, M., Neidhart, S., Carle, R., Ongprasert, S., Müller, J., 2007. Effect of regulated deficit irrigation and partial rootzone drying on the quality of mango fruits (*Mangifera indica* L., cv. 'Chok Anan'). *Agric. Water Manag.* 88, 173-180.
- Spreer, W., Ongprasert, S., Hegele, M., Wünsche, J.N., Müller, J., 2009. Yield and fruit development in mango (*Mangifera indica* L. cv. Chok Anan) under different irrigation regimes. *Agric. Water Manag.* 96, 574-584.
- Tardieu, F. 2012. Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right drought scenario. *Journal of Experimental Botany*, V. 63, n. 1, p.25-31.

Treeby, M.T., Henroid, R.E., Bevington, K.B., Milne, D.J., Storey, R., 2007.

Irrigation management and rootstock effects on navel orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] fruit quality. Agric. Water Manag. 91, 24-32.

Wilkinson, S.; Davies, W. J. 2002. ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. Plant Cell Environ. v. 25, p. 195-210.

Yamaki, Y.T., 1989. Organic acids in the juice of citrus fruits. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci. 58, 587-594.

Yu, K., Xu, Q., Da, X., Guo, F., Ding, Y., Deng, X., 2012. Transcriptome changes during fruit development and ripening of sweet orange (*Citrus sinensis*). BMC Genomics 13, 10.

Material suplementar

Tabela S1. Sequências dos primers empregados nas reações de qPCR

Gene	<i>Loco</i>	Oligonucleotídeo
CsPSY	Cs6g15910	Forward: 5'-CATTGGCACTAGGGATTGCT-3' Reverse: 5'-ATCAACAAATTGCAGCACCA-3'
CsZDS	orange1.1t02361	Forward: 5'-TTCAGCCGATTTGATTTTCC-3' Reverse: 5'-GGCCAAGTCAGCATTTTCATT-3'
CsACL1	orange1.1g014493m	Forward: 5'-TGGCATATGCAAACAGGCTA-3' Reverse: 5'-ATGACAATGGCGTGAGTGTG-3'
CsACL3	orange1.1g014514m	Forward: 5'-TTCCTGCAGAGGTATTGAGTTGT-3' Reverse: 5'-CAGCAAGACGCTTCAAGTGC-3'

CAPITULO 2

Respostas fisiológicas da laranjeira 'Valência' sob diferentes porta enxertos híbridos submetida ao secamento parcial do sistema radicular em condições de ambiente protegido

**Respostas fisiológicas da laranjeira ‘Valência’ sob diferentes porta
enxertos híbridos submetida ao secamento parcial do sistema radicular
em condições de ambiente protegido**

RESUMO

Um manejo de irrigação adequado contribui para aumentar a eficiência no uso da água pela planta, promovendo efeitos positivos no desempenho horticultural. A estratégia de irrigação baseada no secamento parcial do sistema radicular (PRD) pode contribuir ainda mais para a redução do uso da água e aumento na eficiência de seu uso, sem prejuízos para o crescimento e produtividade. Objetivou-se com o presente estudo investigar as respostas fisiológicas e bioquímicas da laranjeira ‘Valência’ (*Citrus sinensis* L. Osb.) ao secamento parcial de raiz (PRD). O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em que plantas de laranjeira ‘Valência’, enxertadas nos híbridos ‘LCR x TR - 001’, ‘TSKC x CTSW - 041’ e ‘TSKC x (LCR x TR) - 059’ foram submetidas a três diferentes regimes hídricos, irrigando-se o sistema radicular das plantas que foi dividido em duas partes e crescendo em dois tubos PVC: (i) controle, irrigação plena e lamina de água calculada aplicada em ambos os tubos de PVC, (ii) PRD, irrigado com 50% da lamina água calculada em um dos tubos de PVC, alternando os lados de irrigação a cada quatro dias e (iii) déficit fixo, irrigado com 25% da lamina água calculada aplicada em apenas um dos tubos de PVC. A evapotranspiração nos tubos de cada planta foi calculada em função dos dados obtidos pelas leituras da sonda TDR, uma em cada lado do tubo de PVC. Foram realizadas análises de partição de biomassa, trocas gasosas foliares, atividade das enzimas dismutase do superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e peroxidase do guaiacol (GPX) e dos teores de ácido abscísico (ABA) e prolina. As plantas submetidas ao PRD se aclimataram ao déficit hídrico parcial, apresentando maior eficiência no uso da água, não reduzindo significativamente as variáveis de crescimento, apesar da limitação hídrica no solo. Os híbridos avaliados apresentaram o mesmo padrão de respostas fisiológicas quando em condições de déficit hídrico. A atividade das enzimas SOD e GPX e os níveis de prolina e ABA variaram em função do regime hídrico, com os maiores valores observados em plantas submetidas ao déficit fixo. As plantas submetidas ao PRD se aclimataram ao déficit hídrico temporário, por meio de respostas morfofisiológicas, como redução da área foliar e aumento da razão raiz/parte aérea, reduzindo as trocas gasosas foliares e biomassa seca. A intensificação do déficit hídrico promoveu aumento na atividade das enzimas SOD e GPX e nos teores de prolina e ABA. O PRD representa uma alternativa viável, pois promove aclimação das plantas à limitação hídrica, sendo uma técnica recomendada para regiões com recursos hídricos limitados.

Palavras-chave: deficiência hídrica, eficiência do uso da água, porta-enxerto.

Physiological responses of 'Valencia' sweet orange grafted on different hybrid rootstocks and subjected to partial rootzone drying under protected environment conditions

ABSTRACT

Proper irrigation management contributes to increase the efficiency of water use by the plant, promoting positive effects on the horticultural performance. The irrigation strategy based on partial rootzone drying (PRD) can further contribute to the reduction of water use and increase the efficiency of its use, without harming growth and productivity. The objective of this study was to investigate the physiological and biochemical responses of 'Valencia' sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osb.) to PRD. The experiment was carried out in a greenhouse where 'Valencia' sweet orange plants grafted on 'LCR x TR - 001', 'TSKC x CTSW - 041' and 'TSKC x (LCR x TR) - 059' hybrids were subjected to three different water regimes by irrigating the plant root system which was split into two parts and grown into two PVC pipes: (i) control, full irrigation and calculated water amount applied to both PVC pipes, (ii) PRD, irrigated with 50% of the calculated water amount in one of the PVC pipes, alternating the irrigation sides at every four days and (iii) fixed deficit, irrigated with 25% of the calculated water amount applied in only one of the PVC pipes. The evapotranspiration in the pipes of each plant was calculated as a function of the data obtained by the readings of the TDR probes, one on each side of the PVC pipe. Analysis of biomass partition, leaf gas exchange, activity of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and guaiacol peroxidase (GPX) and contents of abscisic acid (ABA) and proline were performed. Plants subjected to PRD acclimatized to partial water deficit, presenting greater water use efficiency and not significantly reducing growth variables, despite the soil water limitation. The evaluated hybrids presented the same pattern of physiological responses when under water deficit conditions. SOD and GPX activity and proline and abscisic acid (ABA) levels varied as a function of water regime, with the highest values observed in plants subjected to fixed deficit. Plants subjected to PRD acclimatized to temporary water deficit through morphophysiological responses, such as reduction of leaf area and increase of root / shoot ratio, reducing leaf gas exchange and dry biomass. The intensification of the water deficit promoted increase in the activity of the enzymes SOD and GPX and the contents of proline and ABA. PRD represents a viable alternative because it promotes plant acclimatization to water limitation, being a recommended technique for regions with limited water resources.

Key words: water deficiency, water use efficiency, rootstock.

1. INTRODUÇÃO

Diante dos problemas causados pela deficiência hídrica em citros, principalmente em regiões com baixa disponibilidade hídrica, é importante selecionar porta enxertos adequados, que tolerem condições adversas. Além disso, é importante utilizar estratégias de manejo de irrigação que contribuam para o aumento da eficiência no uso da água, objetivando promover efeitos positivos no desempenho horticultural e evitar danos fisiológicos e moleculares (KATAGIRI, 2004; PEIXOTO et al., 2006). Desse modo, o secamento parcial do sistema radicular (PRD) aparece como uma alternativa de estratégia de manejo com base no déficit hídrico controlado, tendo em vista que contribui para reduzir o uso da água e aumentar a eficiência de seu uso pelas plantas (KRIEDEMANN; GOODWIN 2003; ROMERO et al., 2012).

As plantas estão sujeitas à diversos estresses bióticos e abióticos, desenvolvendo diante disso mecanismos para promover respostas que minimizem os danos causados por esses estresses (ARBONA et al., 2017). É importante compreender as causas do estresse e como o mesmo é percebido, visando desenvolver estratégias para proteger as culturas contra seus efeitos. Assim, torna-se imprescindível avaliar os efeitos causados pelo déficit hídrico temporário nos processos fisiológicos, pois a restrição hídrica influencia várias respostas nas plantas, que geralmente estão associadas a mecanismos de adaptação e produção da cultura (KATAGIRI, 2004; PEIXOTO et al., 2006; GARCÍA; TEJERO et al., 2010). No que se refere as estratégias de irrigação com déficit, é necessário se conhecer as respostas fisiológicas de plantas submetidas, por exemplo, ao secamento parcial de raiz, e entender as consequências dessa técnica no desenvolvimento da planta, bem como sua viabilidade para aumentar a eficiência no uso da água.

A técnica do PRD consiste na alternância dos lados da irrigação em frequências que dependerão do sistema solo-planta. Neste caso, enquanto um lado recebe irrigação, o outro é submetido a déficit hídrico parcial (PANIGRAHI et al., 2013; SANTOS et al., 2015). A secagem do solo promove o aumento da concentração do ácido abscísico (ABA) nas raízes e que uma vez translocado para a parte aérea promove o fechamento dos estômatos e redução da transpiração, possibilitando o aumento da eficiência intrínseca e instantânea no

uso da água (ROMERO et al., 2006; HUTTON; LOVEYS, 2011; SANTOS et al., 2015; SAMPAIO et al., 2014; COTRIM et al., 2017). Nesse contexto, avaliar as trocas gasosas permite visualizar a aclimação das plantas em diferentes condições de disponibilidade hídrica, tendo em vista que a redução no crescimento e produtividade tem relação com limitação da atividade fotossintética (PAIVA et al. 2005).

O déficit hídrico, através da estratégia de PRD, permite reduzir o uso da água pela cultura, obtendo produções satisfatórias, embora sejam observados impactos no desenvolvimento vegetativo das plantas. Em plantas submetidas ao PRD, geralmente observa-se redução da condutância estomática e aumento do crescimento radicular (SAMPALIO et al., 2014; COTRIM et al., 2017), fato associado ao aumento de ABA que é translocado das raízes para as folhas, sinalizando a restrição hídrica no solo (ROMERO et al., 2006; ROMERO-CONDE et al., 2014). Essas alterações permitem o aumento da eficiência no uso da água pelas plantas, dessa forma, não ocorrendo limitações drásticas no desenvolvimento.

Os citros lideram a produção mundial de frutíferas, sendo cultivados em mais de 100 países que apresentam diferentes climas, tropical, subtropical e mediterrâneo (OLIVEIRA et al., 2014), e geralmente em condição de sequeiro. Os programas de melhoramento genético de citros têm focado, sobretudo, na geração de novas variedades porta enxertos adaptadas às condições de deficiência hídrica (SOARES FILHO et al., 2008). Nesse contexto, alguns dos híbridos desenvolvidos foram avaliados como porta enxerto para laranjeira ‘Valência’, a exemplo de ‘LCR x TR - 001’, resultante do cruzamento entre limoeiro ‘Cravo’ (*Citrus limonia* L. Osbeck) x trifoliata (*Poncirus trifoliata* L. Raf.), ‘TSKC x CTSW - 041’, resultante do cruzamento entre tangerineira ‘Sunki’ {[*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] seleção comum} x citrumelo ‘Swingle’ (*C. paradisi* Macfad. x *P. trifoliata*) e ‘TSKC x (LCR x TR) - 059’, resultante do cruzamento entre tangerineira ‘Sunki’ {[*C. sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] seleção comum} x [limoeiro ‘Cravo’ (*C. limonia* L. Osbeck) x trifoliata (*P. trifoliata* L. Raf)]. Esse novos híbridos demonstraram potencial para substituir os porta enxertos tradicionais, com desempenho superior ao limoeiro ‘Cravo’ e tangerineira ‘Sunki’, apresentando alta tolerância à seca, precocidade na

produção, pouca suscetibilidade à gomose e tolerância ao CTV (RODRIGUES et al., 2015; RAMOS et al., 2015).

No Brasil, existem poucos estudos utilizando a técnica do PRD, e em citros são ainda mais limitados, a exemplo do trabalho de Sampaio et al. (2014). Diante disso, objetivou-se com o presente estudo avaliar as respostas fisiológicas e bioquímicas da laranjeira 'Valência' enxertada em três diferentes porta enxertos híbridos submetida ao secamento parcial do sistema radicular.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e condições de cultivo

Os experimentos foram realizados em telado, no período de março de 2017 a novembro de 2017, na Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia, Brasil (Latitude: 12°40'39"S, Longitude; 39°06' 23"W, Altitude; 225m). Durante a condução do experimento, os dados de temperatura e umidade relativa do ar (UR) foram obtidos em estação meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), localizado na Embrapa Mandioca e Fruticultura. Os valores médios de temperatura do ar de 24,9 °C e a UR média de 79,8 %.

Foram avaliadas mudas de laranjeira 'Valência' (*Citrus sinensis* L. Osb.) com um ano e seis meses de idade, enxertada em três porta-enxertos híbridos de citros: 'LCR x TR - 001', 'TSKC x CTSW - 041', 'TSKC x (LCR x TR) - 059', com potencial para tolerância à seca, selecionados pelo Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Rodrigues et al., 2015; Ramos et al., 2015). O sistema radicular de cada muda foi dividido em dois tubos adjacentes de PVC de 0,2 m de diâmetro e 0,5 m de comprimento, unidos por arame (Fig. 1). Cada tubo foi preenchido com 20,4 dm³ de solo a uma densidade de 1,3 dm³. As mudas foram irrigadas diariamente até a capacidade de campo do substrato, por 10 dias, antes do início dos tratamentos.

O solo utilizado foi coletado na profundidade de 0-50 cm em uma área experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura e classificado como Lalossolo Amarelo distrocoeso (SANTOS et al., 2013). Foi realizada análise

química do solo (Tabela 1) e com base nos resultados se realizou a calagem, com uso de calcário dolomítico, visando elevar a saturação por bases para 70%. Em dose única, via sólida, foram misturados ao solo 100 mg dm^{-3} de P_2O_5 e 50 mg dm^{-3} de K_2O .

Tabela 1. Análise química e granulométrica de amostra de um Latossolo Amarelo distrocoeso coletado na área experimental II da Embrapa Mandioca e Fruticultura na camada de 0-50 cm

pH	Na	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V	P	K	M.O	Areia	Silte	Argila
H_2O	----- $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ -----				-----				%	-- mg dm^{-3} --	-----	g Kg^{-1} -----		
5,2	0,03	0,76	0,53	0,3	3,19	1,45	4,64	31	2,0	0,13	8,0	647	79	274

Cinco mudas de cada variedade porta enxerto foram distribuídas ao acaso ao longo da área experimental e submetidas aos seguintes manejos de irrigação: (i) controle, irrigação plena e lâmina de água calculada aplicada em ambos os tubos de PVC, (ii) PRD, irrigado com 50% da lâmina água calculada em um dos tubos de PVC, alternando-se os lados de irrigação (em média a cada quatro dias) e (iii) déficit fixo, irrigado com 25% da lâmina água calculada aplicada em apenas um dos tubos de PVC. A lâmina de água a ser aplicada em cada planta foi calculada em função dos dados obtidos pelas leituras da TDR, de acordo com a equação (1).

$$V_i = [\theta_{cc} - \theta_d] \times V_v \quad \text{Eq. (1)}$$

Sendo:

V_i – Volume de água de irrigação (L)

θ_{cc} – Umidade média na capacidade de máxima retenção de água

θ_d – Umidade média da TDR na profundidade de 0,15m (cm cm^{-3})

V_v – Volume do vaso até a profundidade de 0,5 m (L)



Fig 1. Disposição das raízes no tudo de PVC da laranjeira 'Valência' enxertada no híbrido 'TSKC x (LCR x TR) - 059', submetida ao PRD após 120 dias de imposição dos tratamentos.

2.2. Umidade do solo

A umidade do solo foi determinada a partir de valores de constante dielétrica do solo obtidas com uso de sondas de TDR (*Reflectometry Domain Time*). Cada lado do tubo de PVC recebeu uma sonda TDR inserida a 0,10 m do caule na profundidade de 0,15 m e os dados de umidade foram coletados em dias alternados.

2.3. Partição o de biomassa

No final do experimento o material vegetal foi armazenado em estufa até secagem total e foram mensuradas em balança de precisão, a massa seca de raízes (MSR), caules (MSC), folhas (MSF) e total (MST), área foliar total (AF). A partir dos dados foram calculadas as razões MSPA/MSR, de massa seca de raízes ($RMR = MSR/MST$), de caules ($RMC = MSC/MST$) e de folhas ($RMF = MSF/MST$).

2.4. Avaliação morfológica do sistema radicular

Ao final do experimento, as raízes dos diferentes tratamentos foram coletadas e submersas em álcool 30% diluído em água destilada. Posteriormente foram armazenadas em geladeira. As raízes foram cuidadosamente separadas numa placa com água e levadas a um scanner de

raiz. O comprimento total de raiz (cm), diâmetro médio de raiz (mm) e comprimento de raiz em diferentes classes de diâmetro (cm) foram obtidos ao escanear o sistema radicular e analisar as amostras digitalizadas software WinRizho, versão 2013d.

2.5. Trocas gasosas foliares

As trocas gasosas foliares foram avaliadas por meio de um medidor portátil LCpro-SD IRGA (ADC biotech-scientific Limited, UK), sob luz saturante artificial de $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração de CO_2 ambiente. Foram estimadas as taxas de fotossíntese líquida por unidade de área foliar (A), a condutância estomática ao vapor de água (g_s), a taxa transpiratória foliar (E), tendo como base os valores da variação de CO_2 e da umidade do ar no interior da câmara, determinados pelo analisador de gases por infravermelho do aparelho utilizado. Também foram estimadas as eficiências instantânea de carboxilação (A/C_i), intrínsecas (A/g_s) e instantâneas (A/E) do uso de água.

2.6. Fluorescência da Clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi medida em folhas maduras entre 8 e 9 h, que foram submetidas a um período de adaptação ao escuro por 20 minutos, por meio de uma presilha, para a oxidação completa dos centros de reação. As medidas foram tomadas através de um medidor portátil de luz modulada (opti-Sciences, modelo OS5p, Hudson, USA). Os sinais de fluorescência foram registrados no aparelho e as fluorescências mínima (F_o), máxima (F_m) e o rendimento quântico potencial máximo do fotossistema II (F_v/F_m) foram calculadas automaticamente no sistema de aquisição de dados do aparelho.

2.7. Relações hídricas

O potencial hídrico foliar (Ψ_L) foi determinado por meio de uma câmara de pressão do tipo Câmara de Scholander (M670, PMS Instrument Co., Albany, OR, EUA), segundo a metodologia descrita por Scholander et al. (1965), realizando-se as medidas na terceira folha expandida dos ramos externos de cada planta, entre 3 e 4h da manhã.

O teor relativo de água na folha (TRA) foi determinado a partir da retirada de discos no limbo foliar no período de antemanhã (5h), através de um

furador de rolhas, sendo utilizadas 3 folhas por planta e 20 discos foliares. Os discos foram pesados logo em seguida em balança analítica, para avaliar o peso da biomassa fresca (MF). Após esse procedimento, os discos foram colocados em água para saturação completa, sendo pesados novamente depois de 24 h, após remoção do excesso de água, em que a biomassa túrgida (MT) foi obtida. Em seguida, os discos foram armazenados de forma isolada em sacos de papel e encaminhados para uma estufa com circulação forçada de ar a 70°C até atingir uma massa constante, obtendo-se dessa forma, a biomassa seca (MS). Por fim, calculou-se os valores de TRA por meio da seguinte equação (2):

$$RWC (\%) = \frac{MF-MS}{MT-MS} * 100 \quad \text{Eq.(2)}$$

2.8. Atividade de enzimas antioxidantes

As folhas das plantas submetidas aos diferentes tratamentos foram coletadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e posteriormente liofilizadas.

Foi utilizado 20 mg de tecido vegetal para realizar as análises de atividade enzimática, utilizando-se 400 µL de tampão de extração, específico para cada ensaio enzimático, agitando por 10' em vórtex. Em seguida, as amostras foram sonicadas em ultrassonicador de sonda (Ultrasonic processor Gex 130, 130 W), em gelo, até o rompimento total dos tecidos, sob amplitude de 70%, realizando 8 pulsos de 5 s, com intervalos de 10 s. Logo após, as amostras foram submetidas a centrifugação a 12500 x g por 10 min à 4°C. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo e armazenado, em gelo, para obtenção do extrato bruto. As atividades enzimáticas foram avaliadas em quadruplicata. A atividade da SOD foi avaliada seguindo metodologia descrita por Gianopolitis e Ries (1977). Para determinação da atividade da APX, adaptou-se a metodologia por Nakano e Asada (1981). Para determinação da atividade da peroxidase do guaiacol (GPX), os dados foram convertidos conforme metodologia de Rehem et al. (2011).

2.9. Determinação do teor de ácido abscísico (ABA)

Para quantificação do ABA, foram retiradas alíquotas do extrato como descrito em Rigui et al. (2015). Em seguida, as amostras foram submetidas a secagem em fluxo de N₂ gasoso e solubilizadas com 30 µL de acetato de etila, por fim, analisadas em cromatógrafo a gás (CG) Hewlett-Packard modelo 6890 acoplado a um espectômetro de massa modelo 5973, com monitoramento seletivo de íons (CG-EM-MSI). A concentração endógena de ABA foi obtida pela comparação entre as áreas dos picos nos cromatogramas extraídos em m/z 190 e 194.

2.10. Determinação do teor de prolina

A quantificação do teor de prolina foi feita segundo metodologia de Carillo et al. (2008). Para a extração a quente do extrato etanólico, pesou-se 20 mg da amostra liofilizada, em seguida foi adicionado 1 mL de etanol absoluto. As amostras foram aquecidas a 81°C durante 20 min a 300 rpm e depois resfriadas em gelo. Depois foram centrifugadas a 12500 x g durante 5 minutos e o sobrenadante transferido para um tubo novo. Foi pipetado em um tubo eppendorf, 50 uL de extrato e 100 uL de ninhidrina ácida, em seguida, os tubos foram fechados e aquecidos a 95°C durante 20 minutos. Logo após, resfriados em temperatura ambiente e centrifugados durante 1 minuto a 1700 x g e, finalmente, transferiu-se 100 uL da mistura para a microplaca. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro de microplacas Espectramax Paradigm (Molecular Devices, Waltham, EUA), em comprimento de onda de 520 nm.

2.11. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram separadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) e regressão. Foi utilizado o programa estatístico R.

3. Resultados

3.1. Status hídrico do solo e da planta

A Fig. 2 apresenta a variação da umidade volumétrica do solo nos diferentes tratamentos durante a condução do experimento. A umidade volumétrica do solo variou em função do regime hídrico adotado, sendo que no tratamento controle as umidades se mantiveram entre $0,18$ e $0,20 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ (Fig. 2A), no PRD entre $0,14 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ em situação de solo seco e $0,19 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ com solo irrigado (Fig. 2B) e no déficit fixo entre $0,13 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ e $0,15 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ no lado irrigado (B) e $0,13 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ no lado não irrigado (A) (Fig. 2C).

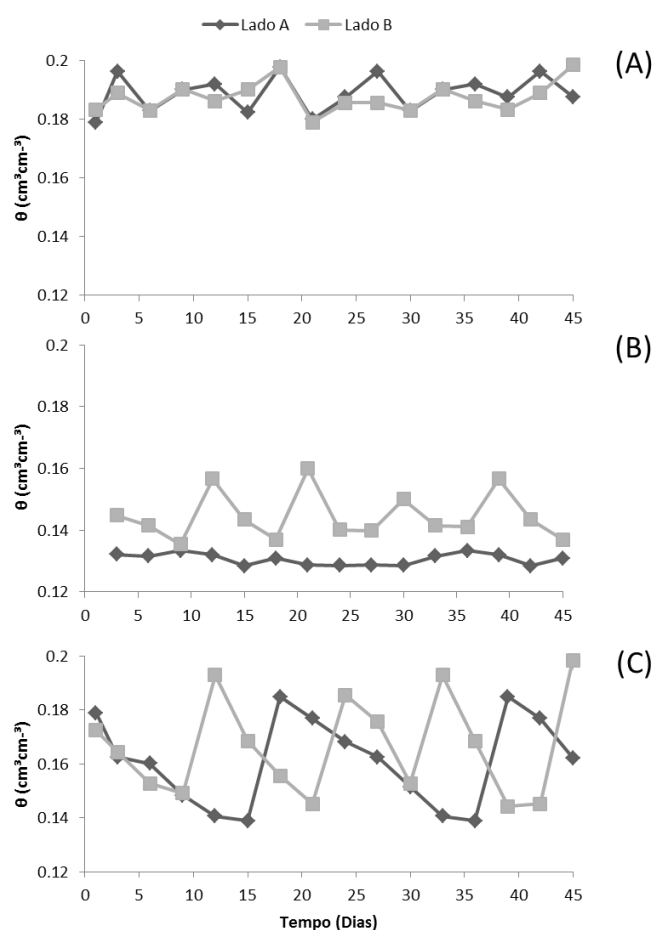


Fig. 2. Umidade volumétrica do solo (θ) da laranjeira 'valência' nos diferentes lados e regimes hídricos: Controle (A), Déficit Fixo (B), PRD (C).

A umidade volumétrica do solo foi significativamente superior no tratamento controle e o menor valor médio de umidade foi registrado no déficit fixo. A umidade volumétrica não diferiu estatisticamente entre os diferentes porta enxertos híbridos (Tabela 2).

O status hídrico da planta não diferiu significativamente entre os tratamentos controle e o PRD, em que as plantas submetidas a esses tratamentos apresentaram maior potencial hídrico foliar (ψ_L), enquanto as plantas do déficit fixo tiveram o menor potencial, aproximadamente 80% menor (Tabela 2). O teor relativo de água (RWC) também apresentou comportamento semelhante, decrescendo significativamente em plantas submetidas ao déficit fixo, com valores 10,48% e 7,4% menores que o controle e o PRD, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios e resultado da ANOVA comparando os efeitos do regime hídrico e de híbridos sobre as variáveis de umidade volumétrica do solo (θ), potencial hídrico foliar (Ψ_L) e teor relativo de água na folha (RWC) em mudas de laranjeira Valência aos 150 dias após aplicação dos tratamentos

Variáveis	Regime hídrico (R)			Híbridos (H)			Anova		
	Controle	PRD	DF	001	041	059	R	H	R*H
θ (cm ³ cm ³)	0.1908±0.007a	0.1656±0.006b	0.1400±0.008c	0.1644±0.003	0.1666±0.002	0.1645±0.004	***	ns	ns
RWC (%)	78,10±1,74a	75,60±2,38a	70,64±2,43b	74,18±1,96	75,06±1,63	75,1±1,80	**	ns	ns
Ψ_L (MPa)	0,58±0,003a	0,64±0,008a	-3,3±0,01b	-1,56±-0,44	-1,52±-0,44	1,53±0,46	***	ns	ns

P > 0,05 (não significativo); p < 0,05(*); p < 0,01(**); p < 0,001(***)

3.2. Trocas gasosas foliares e fluorescência da clorofila a

Os diferentes regimes hídricos influenciariam as respostas fisiológicas e da laranjeira 'Valência' nos diferentes híbridos avaliados. Contudo, não houve a interação significativa entre os regimes e os híbridos (Tabela 3), sendo os efeitos induzidos pelo fator isolado disponibilidade hídrica.

Tabela 3. Valores médios e resultado da ANOVA comparando os efeitos do regime hídrico e de híbridos sobre a fotossíntese (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), concentração de carbono intercelular (Ci), eficiência intrínseca do uso da água (A/gs), eficiência instantânea de uso da água (A/E), eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) e rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm) em mudas de laranja Valência aos 150 dias após aplicação dos tratamentos.

Variáveis	Regime hídrico (R)			Híbridos (H)			Anova		
	Controle	PRD	DF	001	041	059	R	H	R*H
A ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	7,55±0,53a	3,49±0,42b	0,66±0,04c	3,85±0,96	4,23±1,19	3,62±1,05	***	ns	ns
gs ($\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	0,10±0,01a	0,04±0,04b	0,02±0,03b	0,5±0,01	0,6±0,01	0,5±0,01	***	ns	ns
E ($\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	1,58±0,17a	0,76±0,074b	0,65±0,04b	0,94±0,13	1,21±0,19	0,93±0,22	***	ns	ns
Ci (μmolmol^{-1})	228,77±1,91b	238,88±2,88b	270,66±5,40a	243,55±6,28	241,33±6,10	253,44±9,90	***	ns	ns
A/gs ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	79,89±4,66b	91,22±4,99a	45,83±7,60c	69,49±9,05	70,05±10,04	77,39±7,31	***	ns	ns
A/E ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$)	4,94±0,36a	4,59±0,23a	1,05±0,07b	3,73±0,74	3,33±0,68	3,51±0,58	***	ns	ns
A/Ci ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}$)	0,03±0,002a	0,01±0,001b	0,002±0,0001c	0,02±0,004	0,02±0,005	0,01±0,004	***	ns	ns
Fv/Fm	0,77±0,009a	0,76±0,006a	0,65±0,013b	0,72±0,02ab	0,75±0,05a	0,71±0,03b	***	*	*

P > 0,05 (não significativo); p < 0,05(*); p < 0,01(**); p < 0,001(***)

Foram observadas diferenças significativas entre os diferentes regimes hídricos para a taxa líquida da fotossíntese (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E), concentração de carbono intracelular (C_i). As plantas submetidas ao PRD e déficit fixo apresentaram redução de 53,77 e 91,22% da A , 61,11 e 82,22% da g_s e 51,92 e 58,64% da E , respectivamente, em comparação as plantas controle (Fig. 4), indicando que a redução da água disponível no solo tem influência direta nas trocas gasosas foliares.

A eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s), instantânea de uso da água (A/E) e de carboxilação (A/C_i) também foram influenciadas significativamente pelos regimes hídricos adotados. As plantas submetidas ao PRD apresentaram maior A/g_s e não foram observadas diferenças entre o PRD e o controle para A/E . Esses resultados indicam que as plantas submetidas ao PRD aumentaram a eficiência no uso da água para suportar a limitação hídrica no solo. O déficit fixo reduziu drasticamente todas as relações avaliadas, registrando valores médios de 45,8 e 1,0 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para a A/g_s e A/E , respectivamente (Tabela 3).

Os regimes hídricos adotados também influenciaram significativamente a fluorescência da clorofila a . Houve efeito do porta enxerto e regime hídrico para as variáveis rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m), observando que essa variável foi maior no híbrido 041. Para todos os híbridos avaliados, o PRD não reduziu a F_v/F_m , quando comparado ao tratamento controle. Por outro lado, os valores encontrados no déficit fixo indicam dano fotoquímico.

Nota-se uma relação diretamente proporcional entre A e A/C_i sobre a g_s . Nos tratamentos PRD e controle, quanto maior g_s , maior A e A/C_i . Os resultados observados no déficit fixo indicam que a restrição hídrica nas plantas submetidas a esse tratamento promoveu uma drástica redução na condutância estomática e, conseqüentemente, fotossíntese e eficiência de carboxilação (A/C_i) (Fig. 3).

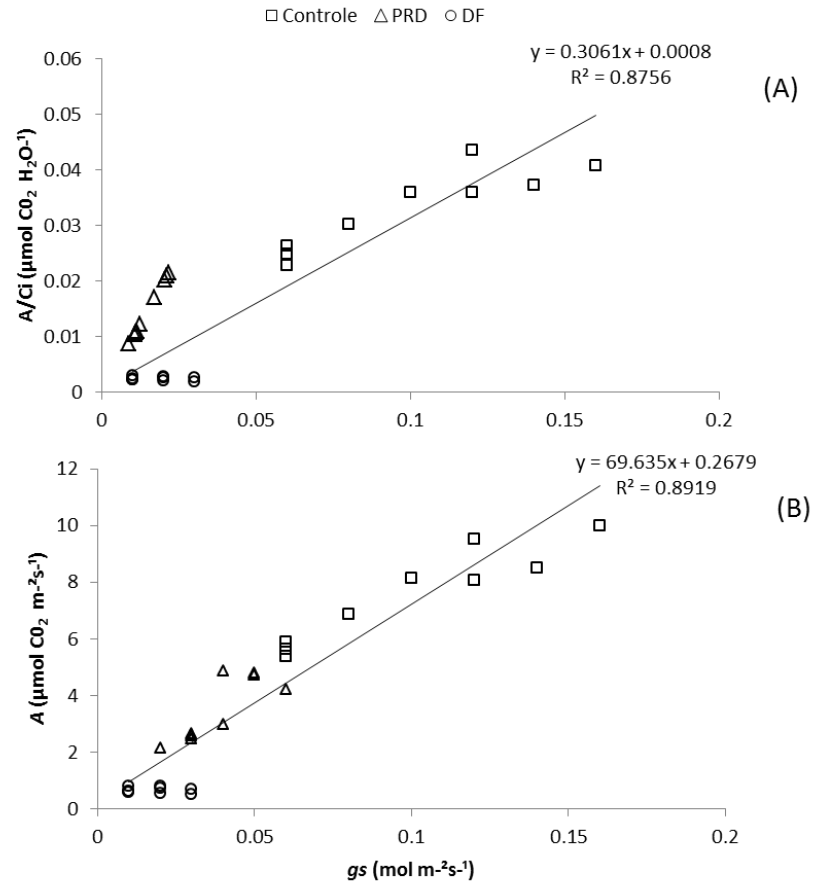


Fig. 3. Relação entre A e g_s (A) e A/C_i e g_s (B) em laranjeira 'Valência' enxertada em diferentes porta enxertos híbridos submetidos a diferentes regimes hídricos.

3.3. Biomassa seca e morfologia do sistema radicular

As variáveis morfofisiológicas apresentaram diferença significativa entre os tratamentos hídricos, sem, contudo, ser verificado interação entre os fatores regime hídrico e híbrido (Tabela 4). Para os híbridos, diferenças morfológicas foram verificadas para os atributos foliares (AF, NF, MSF, MSPA), que por sua vez impactaram a partição para MSPA/MSR, RMR, RMF, sem contudo afetar a RMC (Tabela 4). Também foram observadas diferenças significativas nos aspectos da arquitetura radicular (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios e resultado da ANOVA comparando os efeitos do regime hídrico e de híbridos sobre área foliar (AF), número de folhas (NF), altura (AL), diâmetro de caule (DC), massa seca de folha (MSF), caule (MSC), parte área (MSPA), raiz (MSR), total (MST), razão entre massa seca de parte aérea e massa seca de raiz (MSPA/MSR), de massa seca de raízes (RMR = MSR/MST), de caules (RMC = MSC/MST) e de folhas (RMF = MSF/MST), comprimento total de raiz (CTR) e diâmetro médio de raiz (DMR) de mudas de laranjeira Valência aos 150 dias após aplicação dos tratamentos.

Variáveis	Regime hídrico (R)			Híbridos (H)			Anova		
	Controle	PRD	DF	001	041	059	R	H	R*H
AF (cm²)	2.544,89±146,12a	2.136,98±71,71b	1.243,66±47,19c	1.735,04±191,85b	2.047,09±182,94ab	2143,41±210,61a	***	*	ns
NF	97,66±2,58a	80,66±5,01b	51,55±2,05c	64,55±6,45b	89,66±9,91a	75,66±6,63b	***	***	ns
AL (cm)	62,44±2,28a	57,88±2,11ab	51,11±1,06b	53,55±3,14	59,88±1,89	58,55±2,26	***	ns	ns
DC (cm)	12,31±1,27a	11,18±1,35ab	10,00±1,64b	11,15±0,38	11,36±0,26	10,98±0,22	***	ns	ns
MSF (g)	26,98±0,82a	22,02±0,65b	15,89±0,55c	20,10±4,79b	23,75±5,08a	21,74±5,96ab	***	**	ns
MSC (g)	14,99±0,81a	14,41±0,49a	9,65±0,41b	13,04±1,04	14,23±1,23	12,68±1,57	***	ns	ns
MSPA (g)	41,97±1,61a	36,48±0,67b	25,54±0,83c	33,15±2,59b	34,86±2,86ab	37,98±3,34a	***	*	ns
MSR (g)	33,09±0,73a	27,24±0,54b	22,59±0,45c	27,5±1,82	28,11±1,79	28,31±2,17	***	ns	ns
MST (g)	79,06±2,31a	61,73±1,03b	48,13±1,24c	60,65±4,35	63,18±4,47	66,10±5,47	***	ns	ns
MSPA/MSR	1,26±0,02b	1,34±0,03a	1,12±0,02c	1,20±0,04a	1,34±0,06b	1,22±0,04a	***	***	ns
RMR	0,41±0,004c	0,43±0,005b	0,47±0,005a	0,46±0,008a	0,44±0,01a	0,42±0,007b	***	***	ns
RMF	0,36±0,003a	0,35±0,004a	0,33±0,002b	0,33±0,006	0,36±0,004	0,36±0,01	***	***	ns
RMC	0,23±0,004	0,22±0,007	0,20±0,003	0,21±0,004	0,20±0,007	0,21±0,01	ns	ns	ns
CTR (cm)	214000±52a	169000±60b	136000±58b	147000±46b	163000±39b	236000±42a	***	***	ns
DMR (cm)	0,63±0,2	0,64±0,1	0,65±0,1	0,64±0,4b	0,72±0,2a	0,55±0,3c	ns	***	ns
CTR (0,0 < d < 0,5 mm)	130000±251a	87100±254b	79300±325b	70300±285b	51200±236b	165000±310a	**	***	ns
CTR (0,5 < d < 1,0 mm)	92900±25a	67800±19b	55300±27b	65000±28b	92700±55a	58400±33b	**	**	ns
CTR (1,0 < d < 1,5 mm)	10600±50	8120±90	6550±55	6370±44b	12200±37a	6650±44b	ns	**	ns
CTR (d > 1,5 mm)	8030±37a	5880±44ab	4430±89b	5036±22	6930±35	6060±59	*	ns	ns

P > 0,05 (não significativo); p < 0,05(*); p < 0,01(**); p < 0,001(***)

Os diferentes regimes hídricos adotados influenciaram significativamente todas as variáveis biométricas analisadas. As variáveis de crescimento analisadas não foram drasticamente reduzidas com o uso do PRD, apesar da restrição hídrica no solo. Em contrapartida, o déficit fixo, limitou o crescimento das plantas, comprometendo a expansão da AF, NF, AL e DC. A MST reduziu 21,92% e 39,12%; a MSF 18,38% e 41,10%; a MSPA 13,08% e 39,11% e a MSR 17,67 e 31,73% no PRD e déficit fixo, respectivamente, em comparação ao tratamento controle (Tabela 4). Como esperado, a biomassa de folha, caule e raiz foi reduzida drasticamente no déficit fixo e moderadamente no PRD quando comparado ao controle (Tabela 4). Foi observado maior NF e MSF no porta enxerto 041 e menor no porta enxerto 001. O híbrido 059 apresentou maior AF, embora tenha apresentado menor NF que o híbrido 041 (Tabela 4).

A relação MSPA/MSR aumentou significativamente sob o tratamento com PRD, sendo observado menor valor dessa variável no híbrido 041 (Tabela 4). Os tratamentos PRD e déficit fixo tiveram maior RMR, indicando maior concentração de carbono nas raízes, devido à restrição hídrica no solo. O tratamento controle teve maior alocação de biomassa nas folhas, indicando que a redução da água disponível limitou o crescimento foliar nos tratamentos submetidos ao PRD e déficit fixo. O híbrido 059 apresentou menor RMR (Tabela 4).

Foram observadas diferenças entre os regimes hídricos e porta-enxertos para o CTR e DMR em diferentes classes de diâmetro. O tratamento controle resultou em maior CTR e maior CTR nas classes de diâmetro de $0,0 < d < 0,5$ mm, $0,5 < d < 1,0$ mm e $d > 1,5$ mm (Tabela 4). O híbrido 059 apresentou maior CTR e CTR no diâmetro ($0,0 < d < 0,5$ mm), enquanto o 041 apresentou maior CTR nas classes $0,5 < d < 1,0$ mm e $1,0 < d < 1,5$ mm. A maior parte das raízes se concentrou no diâmetro $0,0 < d < 0,5$ mm, que representa raízes mais finas, sendo a classe mais importante para absorção de água (Tabela 4).

3.4. Atividade enzimática e teores de ácido abscísico (ABA) e prolina

A atividade das enzimas SOD e GPX foi significativamente maior nos tratamentos PRD e déficit fixo (Fig. 4 A;B). A atividade enzimática da APX foi maior no tratamento controle, indicando que em condições normais, a atividade dessa enzima é importante para os processos de crescimento e desenvolvimento (Fig. 4C)

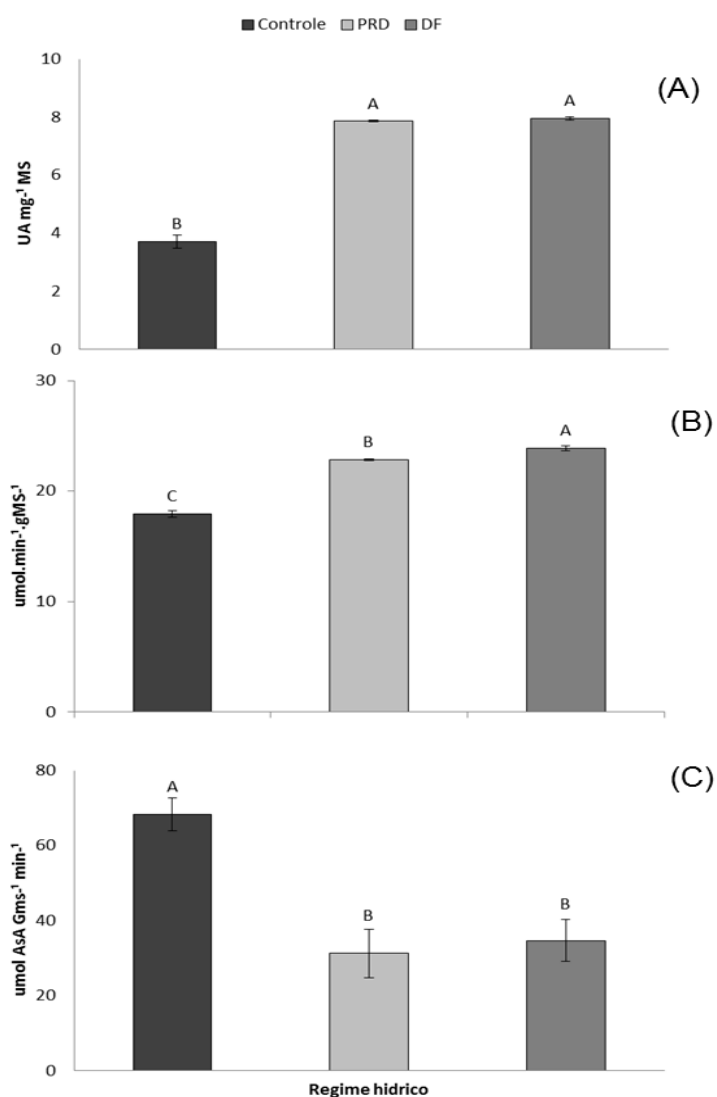


Fig. 4. Atividade enzimática da SOD (A), GPX (B) e APX (C) em folhas de laranja 'Valencia' enxertada em 'TSKC x (LCR x TR) - 059' sob diferentes regimes hídricos. Letras distintas indicam diferença estatística entre os regimes hídricos. (PRD: secamento parcial de raiz. DF: déficit fixo).

O teor de ABA variou entre os tratamentos, sendo maior nos tratamentos com menor disponibilidade hídrica (Fig. 5A). O déficit fixo apresentou o maior teor de ABA, apresentando cerca de 70% a mais de ABA do que o controle, e 40% a mais do que o PRD, evidenciando que esse hormônio está diretamente relacionando com o nível de estresse hídrico aplicado. De modo similar, a prolina, que também é um indicador de estresse, apareceu em maior quantidade nos tratamentos que receberam menor quantidade de água. As plantas submetidas ao déficit fixo e PRD apresentaram valores, respectivamente, 56 e 38% a mais do aminoácido que o tratamento controle (Fig. 5B).

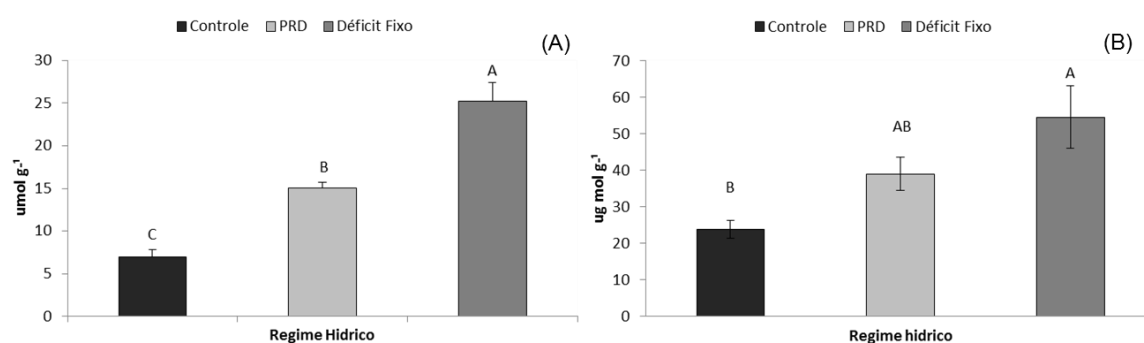


Fig. 5. Teores de ácido abscísico (A) e prolina (B) em folhas de laranja 'Valência' enxertada em 'TSKC x (LCR x TR) - 059' sob diferentes regimes hídricos. Letras distintas indicam diferença estatística entre os regimes hídricos.

4. Discussão

O status hídrico do solo pode representar um fator limitante para as plantas cítricas. O déficit hídrico é dos principais fatores que prejudicam a cultura, além de fatores do clima (DPV, temperatura do ambiente e radiação) que também exercem influência na disponibilidade de água no solo (REUTHER, 1973). Nesse sentido, os menores valores de umidade do solo nas plantas submetidas ao déficit fixo (Fig. 2) contribuíram para prejudicar o desempenho horticultural dessas plantas. Por outro lado, embora tenham

apresentado valores de umidade do solo menores do que o tratamento controle, plantas submetidas ao PRD não tiveram limitações no seu desempenho, evidenciando que a alternância entre os lados da irrigação foi eficiente para garantir o bom desempenho das plantas, apesar da restrição hídrica.

O potencial hídrico foliar indica o fluxo da água no sistema solo-planta-atmosfera, sendo um parâmetro utilizado para medir a intensidade do estresse hídrico em plantas (BERGONCI et al., 2000, FLEXAS et al., 2004). Não foram observadas diferenças de Ψ_L entre os tratamentos controle e PRD (Tabela 2), embora tenham sido observadas diferença significativas na umidade do solo (Tabela 2). As plantas submetidas ao PRD não apresentaram grandes reduções no potencial hídrico foliar, por causa do ajuste estomático, evitando perda de água para atmosfera (DZIKITI, 2008; COTRIM et al., 2017). Também não foram observadas diferenças de RWC nas plantas submetidas aos tratamentos controle e PRD, indicando que o PRD não alterou o status hídrico na folha, estando de acordo com os resultados encontrados para o Ψ_L . Foi observado menor Ψ_L e RWC no déficit fixo, indicando que a limitação hídrica imposta por esse tratamento, alterou significativamente o estado hídrico da planta (Tabela 2).

O ajuste estomático é uma resposta fisiológica ao estresse hídrico, estando relacionando ao aumento do teor de ABA, que tem maior produção em condições de déficit hídrico (ROMERO et al., 2012). O ABA é produzido nas raízes e translocado para a parte aérea da planta, induzindo o fechamento estomático e limitando a assimilação de CO_2 (MEDINA et al., 1999; ROMERO et al., 2012). A redução da difusão de CO_2 atmosférico ao sítio de carboxilação é o fator primordial para a redução das taxas fotossintéticas durante a restrição hídrica (FLEXAS et al., 2006). Diante disso, observou-se no presente estudo que g_s e eficiência de carboxilação (Tabela 3) foram significativamente reduzidas nas plantas submetidas ao PRD e déficit fixo. Também foram observadas redução significativa da taxa líquida fotossíntese e transpiração nesses tratamentos (Tabela 3).

Em situações de déficit hídrico, a planta recebe sinais para fechamento dos estômatos, evitando, assim, reduzir drasticamente a fotossíntese líquida, aumentando a eficiência no uso da água (FLEXAS et al., 2006). As plantas

submetidas ao PRD apresentaram maior eficiência intrínseca do uso água (Tabela 3), estando de acordo com o que a técnica do PRD preconiza, que é o aumento da EUA (ROMERO-CONDE et al., 2014; SAMPAIO et al., 2014). Embora o fechamento estomático resulte em menor decréscimo de transpiração do que fotossíntese (KOZLOWSKI; PALLARDY, 1997), a eficiência instantânea do uso da água não diferiu significativamente entre os tratamentos controle e PRD (Tabela 3).

O fechamento parcial dos estômatos em condições de deficiência hídrica pode ocasionar decréscimos da fotossíntese, pois reduz a transpiração e tem como consequência menor suprimento de CO_2 (MEDINA et al., 1999; DAMOUR et al., 2008; MAGALHÃES FILHO et al., 2009). Diante disso, foram observadas alterações na fluorescência da clorofila *a* nas plantas submetidas ao déficit fixo, indicando que houve um comprometimento do sistema fotossintético (Tabela 3). O estresse hídrico também pode comprometer os eventos fotoquímicos nos tilacóides, provocando redução na fotossíntese (FLEXAS et al., 2002; GARCÍA SANCHÉZ et al., 2007). Por conseguinte, a relação F_v/F_m reduziu significativamente no tratamento com déficit fixo (Tabela 3). Apesar de apresentar reduções significativas nas trocas gasosas foliares, no caso do PRD, a restrição hídrica não comprometeu os eventos fotoquímicos (Tabela 3).

A fotossíntese é um processo imprescindível para as plantas que transforma a energia luminosa em energia química para os compostos orgânicos e o déficit hídrico é um dos fatores que influencia no processo fotossintético e este na produção vegetal. Se ocorrer restrição hídrica, a expansão celular é reduzida e consequentemente, há redução do crescimento (SUASSUNA et al., 2012). Por conseguinte, a biomassa foi reduzida drasticamente no déficit fixo e moderadamente no PRD quando comparados ao controle. Em condições de déficit hídrico, essas alterações morfofisiológicas são efeitos causados pela restrição hídrica (PEIXOTO et al., 2006). O acúmulo de biomassa seca é um critério importante para escolha de uma cultura quanto a tolerância ao estresse hídrico, já que a disponibilidade de água afeta significativamente vários índices fisiológicos, como por exemplo a massa seca da folha e parte aérea (PEIXOTO et al., 2006; NASCIMENTO et al., 2012; ROMERO et al., 2014). Um desequilíbrio no balanço de carbono, induzido pelo

estresse, limita o desenvolvimento das plantas. A maior parte do total de CO₂ assimilado é utilizada durante a respiração e esse equilíbrio é comprometido em condições de deficiência hídrica (FLEXAS et al., 2006). Nesse sentido, foi observada redução significativa da biomassa das plantas submetidas ao déficit fixo (Tabela 4).

Compreender a partição da biomassa permite entender as respostas das plantas aos estresses impostos pelo ambiente. O padrão de partição de carbono está diretamente relacionado com a captação de recursos mais limitados. Por exemplo, em ambientes com baixa disponibilidade hídrica, as plantas investem em raízes para explorar um maior volume de solo em busca de água (LAMBERS et al., 2008). Nesse contexto, observou-se maior RMR nos tratamentos PRD e déficit fixo (Tabela 4). É importante ressaltar que maior crescimento radicular permite que a planta explore um maior volume de solo e favorece a absorção de água, evitando grandes limitações no crescimento, sendo um importante mecanismo de retardo ao déficit hídrico, observando-se maior razão raiz/parte aérea nessas condições (PEIXOTO et al., 2006; GARCÍA-SÁNCHEZ et al., 2007; GARCÍA-TEJERO et al., 2010; SUASSUNA et al., 2012), conforme observado os maiores valores de MSPA/MSR nas plantas submetidas ao PRD (Tabela 4). Com relação à arquitetura do sistema radicular, Souza et al. (2008) relataram que as raízes de citros com diâmetros entre 0,5 e 1 mm são mais eficientes na extração de água e nutrientes para as plantas cítricas, reforçando os resultados observados no presente estudo, onde as raízes se concentraram no diâmetro entre 0.0 e 0.5 mm (Tabela 4).

Os sistemas antioxidantes são as principais linhas de defesa que atuam para minimizar os danos causados pelo estresse oxidativo (PERL-TREVES; PERL; 2002; SHARMA et al., 2012). Na medida em que o déficit hídrico é acentuado, há maior acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), consequentemente, ocorre maior atividade dessas enzimas, o que está correlacionado com a capacidade das plantas de evitar danos oxidativos e tolerar a limitação hídrica (GONÇALVES et al., 2016; ZANDALINAS et al., 2017). Dessa forma, observou-se no presente estudo que a atividade das enzimas SOD e GPX foi maior nos tratamentos PRD e déficit fixo, indicando que esses tratamentos aumentaram a atividade dessas enzimas para evitar o estresse oxidativo provocado pelo déficit hídrico. Observou-se que a atividade

da APX foi maior no tratamento controle (Fig. 4C), resultado semelhante ao encontrado por Gonçalves (2014), indicando que em condições normais, há maior atividade dessa enzima, implicando a sua atuação em processos de crescimento e desenvolvimento.

A alteração da concentração de ABA na planta tem relação com a umidade do solo, em que sob situação de déficit hídrico ocorrem sinais para que haja aumento da produção desse hormônio, havendo associação com a redução do crescimento vegetativo e condutância estomática (DAVIES; ZHANG, 1991; LOVEYS et al., 1997; DAVIES et al., 2002; ROMERO et al., 2012). Assim, nota-se no presente estudo que as plantas submetidas aos tratamentos PRD e déficit fixo apresentaram maiores teores de ABA (Fig. 5A), menor *gs* (Tabela 3) e menor crescimento vegetativo (Tabela 4) em comparação ao tratamento controle. Em paralelo, também foram observados maiores teores de prolina nesses tratamentos (Fig. 5B). O aumento desse aminoácido é observado durante estresses ambientais, em que nessas condições pode atuar mediando o ajuste osmótico, minimizando os efeitos do déficit hídrico (VAN RENSBURG et al., 1993) Prolina também contribui para remover as EROs, participando da sinalização molecular do estresse, contribuindo para a adaptação das plantas, sobretudo, diante da sua propriedade osmoprotetora (KAVI KISHOR et al., 2005).

5. Conclusões

As plantas submetidas ao tratamento PRD conseguiram se aclimatar ao déficit hídrico temporário, por meio de respostas morfofisiológicas, reduzindo as trocas gasosas foliares e biomassa seca, além de apresentar maior eficiência no uso da água, evidenciando que essas plantas tiveram maior controle de perda de água. A restrição de água no solo também promoveu o aumento na atividade das enzimas SOD e GPX e nos teores de prolina e ABA. Não houve diferenças nos padrões de respostas fisiológicas ao déficit hídrico entre os diferentes porta enxertos híbridos avaliados. O PRD representa uma alternativa viável, pois promove aclimação das plantas à limitação hídrica, sendo uma técnica recomendada para regiões com recursos hídricos limitados.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001; pela concessão da bolsa; à Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo fornecimento dos materiais vegetais e apoio financeiro, à Universidade Estadual de Santa Cruz e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, pela oportunidade de doutoramento.

Referências

ARBONA, V. et al. Physiological, metabolic, and molecular responses of plants to abiotic stress. **Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective**. v. 2, p 1-35, 2017.

BERGONCI, J.I. et al. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35(8), p. 1531-1540, 2000.

CARILLO et al. PROTOCOL: Extraction and determination of proline. PrometheusWiki. 5p, 2008.

COTRIM, C. et al. Irrigação com déficit controlado e produtividade de mangueira ‘tommy atkins’ sob gotejamento. **Rev. Bras. Agric. Irr.** v. 11. nº 8, p. 2229 – 2238, 2017.

DAMOUR, G. et al. Long-term drought modifies the fundamental relationships between light exposure, leaf nitrogen content and photosynthetic capacity in leaves of the lychee tree (*Litchi chinensis*). **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.165, p. 1370-1378, 2008.

DAVIES, W. J.; ZHANG, J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. **Rev. Plant Physiol.** v. 42, p. 55-76, 1991.

DAVIES, W. J. et al. Stomatal control by chemical signalling and the exploitation of this mechanism to increase water use efficiency in agriculture. **New Phytol**, v. 153, p. 449-460, 2002.

DZIKITI, S. et al. 2008. Partial Rootzone Drying of Drip Irrigated 'Navel' Orange Trees [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] under Semi-Arid Tropical Conditions, **Acta Hort**, n. 792. p.562-574.

FABER, B.A., LOVATT, C.J. Effects of applying less water by Partial root zone drying versus conventional irrigation on navel orange yield. **Acta Horticulturae**. V. 1038, p. 523-530, 2014.

FLEXAS, J; MEDRANO, H. Drought-Inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitation revisited. *Annals of Botany*, Oxford, v.89, p. 183-189, 2002.

FLEXAS, J. et al. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. **Plant Biology**, v.6, p.269-279, 2004.

FLEXAS, J. et al. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, v. 127, p. 343–352, 2006.

GARCÍA-SÁNCHEZ, F. et al. Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.130, p. 532-542, 2007.

GARCÍA-TEJERO et al. Response of citrus trees to deficit irrigation during different phenological periods in relation to yield, fruit quality, and water productivity. **Agricultural Water Management** 97, p. 689-699, 2010.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.

GONÇALVES, L.P. Respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares de laranja doce em interação com três variedades porta-enxertos contrastantes para tolerância à seca. **(Dissertação de mestrado)**. Universidade Estadual de Santa Cruz, 95p.. 2014.

GONÇALVES L.P. et al. Rootstock-induced physiological and biochemical mechanisms of drought tolerance in sweet orange. **Acta physiologiae plantarum**. v. 38, n. 174, p. 1-12, 2016.

HUTTON. R. J., LOVEYS. B.R. A partial root zone drying irrigation strategy for citrus - Effects on water use efficiency and fruit characteristics. *Agricultural Water Management*, v. 97, p.1485– 1496, 2011.

KATAGIRI, F. A global view of defense gene expression regulation – a highly interconnected signaling network. **Current Opinion in Plant Biology**, p. 506-511, 2004.

KAVI KISHOR, P. B. et al. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v. 88, n. 3, p. 424-438, 2005.

KOZLOWSKI, T.T; PALLARDY, G.S. **Physiology of woody plants**. California: Academic, 1997.

KRIEDEMANN, P. E.; GOODWIN, I. Regulated Deficit Irrigation and Partial Rootzone Drying. **Irrigation Insights**, n. 4, p. 102, 2003.

LAMBERS, et al. **Plant physiological ecology**. Springer, New York. 2008.

LOVEYS, B.; GRANT, J.; DRY, P.; MCCARTHY, M. 1997. Progress in the development of Partial Rootzone Drying. In 'The Australian Grapegrower & Winemaker', p. 18-20.

MAGALHÃES FILHO et al. Variação da temperatura do substrato e fotossíntese em mudas de laranja 'Valência'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, p. 1118-1126, 2009.

MEDINA, C.L et al. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranja 'Valência' sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, p. 29-34, 1999.

NASCIMENTO, A. K. S et al. Tolerância de genótipos de citros ao estresse hídrico na fase de porta-enxerto. **Irriga**, Botucatu, Edição Especial, p. 438 – 452, 2012.

OLIVEIRA, R.P. et al. Melhoramento genético de plantas cítricas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.35, n.281, p.22-29, 2014.

PANIGRAHI, P. et al. Economic Analysis of drip-irrigated kinnow mandarin orchard under deficit irrigation and partial rootzone drying. **Irrigation and Drainage**, v.62, p.67–73, 2013.

PEIXOTO, C.P et al. Análise de crescimento de diferentes genótipos de citros cultivados sob déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 439-443, 2006.

PERL-TREVES, R., PERL, A. **Oxidative stress: an introduction**. Oxidative Stress in Plants, 2002.

RAMOS, Y. C et al. Dwarfing rootstocks for 'Valencia' sweet orange. *Acta Horticulturae*, v.1065, p.351-354, 2015.

REUTHER, W. Climate and citrus behavior. In: REUTHER, W. (Ed.) **The citrus industry**. Riverside: University of California. v.3, p.280-337, 1973.

RIGUI et al. Endogenous hormone concentrations correlate with fructan metabolism throughout the phenological cycle in *Chrysolaena obovata*, **Annals of Botany**, V 115, p. 1163–1175, 2015.

RODRIGUES, M. J. DA S et al. Caracterização de frutos e propagação de porta-enxertos híbridos de citros em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.37, n. 2, p.457-470, 2015.

ROMERO P. et al. Deficit irrigation and rootstock: their effects on water relations, vegetative development, yield, fruit quality and mineral nutrition of *Clemenules mandarin*. **Tree Physiology**. p.1537–1548, 2006.

ROMERO, P. et al. Contrasting physiological effects of partial root zone drying in field-grown grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Monastrell) according to total soil water availability. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n. 11, p. 1 – 13, 2012.

ROMERO-CONDE, A. et al. Physiological responses of citrus to partial rootzone drying irrigation. **Scientia Horticulturae**, 169, 234–238, 2014.

SAMPAIO, A.H.R. et al. Indicadores fisiológicos da lima ácida ‘tahiti’ submetida à irrigação deficitária com secamento parcial de raiz. **Irriga**, Botucatu, 2014.

SANTOS, M.R. et al. Yield, water use efficiency and physiological characteristics of “Tommy Atkins” mango under partial rootzone drying irrigation system. **J. Water Resour. Prot.** V.7, p.1029-1037, 2015.

SCHOLANDER, P.F. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potenciales in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of the National Academy Science**, v.51, p.119-125, 1965.

SHARMA, P. et al. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**. V. 26, 2012

SOARES-FILHO, W.S. et al. Potencial de obtenção de novos porta-enxertos em cruzamentos envolvendo limoeiro 'cravo', laranjeira 'Azeda', tangerineira 'Sunki' e híbridos de *Poncirus trifoliata*. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 223- 228, 2008.

SUASSUNA, J. F. et al. Produção de fitomassa em genótipos de citros submetidos a estresse hídrico na formação do porta-enxerto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, p. 1305-1313, 2012.

SUASSUNA, JF et al. Trocas gasosas e componentes de crescimento em porta-enxerto de citros submetidos à restrição hídrica. **Irriga**, v.19, p.464-477, 2014.

VAN RENSBURG et al. Proline accumulation as drought-tolerance selection criterious: its relationship to membrane integrity and chloroplast ultraestructure in *Nicotiana tabacum*. **Journal Plant Physiology**, v.141, p.188-194, 1993

ZANDALINAS, S. I. et al. Modulation of antioxidant defense system is associated with combined drought and heat stress tolerance in citrus. **Frontiers in Plant Science**, p 110-118, 2017.

3. CONCLUSÕES GERAIS

- Em clima tropical, as técnicas de PRD e RDI são manejos viáveis para economia dos recursos hídricos, quando aplicadas no período mais adequado, no caso do PRD em ciclos de alternância mais curtos (15 dias) e RDI durante a fase de maturação. Essas estratégias podem aumentar a eficiência no uso da água pelas plantas, sem perdas significativas na produção e qualidade de frutos.
- Quando avaliado em ambiente protegido, o PRD apresenta resultados semelhantes ao campo, induzindo adaptação ao déficit hídrico temporário por meio de respostas morfofisiológicas, como redução do desenvolvimento vegetativo e condutância estomática e aumento da eficiência no uso da água.
- O presente estudo também contribui para a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na resposta aos diferentes manejos de irrigação, trazendo informações sobre a expressão dos genes envolvidos na biossíntese de carotenoides e metabolismo do citrato em função da disponibilidade hídrica.

4. REFERENCIAS

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

ANJUM, S. A. et al . Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**. v. 6, p. 2026–2032, 2011

BLUMER, S., POMPEU JUNIOR, J. Avaliação de citrandarins e outros híbridos de trifoliata como porta-enxertos para citros em São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, p.264-267, 2005.

CAMERON, J. W.; FROST, H. B. Genetics, breeding and nucellar embryony. **The citrus industry**. Berkeley: University of California, v.2, p.325-370, 1968

CERQUEIRA, E.C. et al. Resposta de porta-enxertos de citros ao déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**. V. 26, n.3, p. 515-519, 2004.

CLAEYS H, INZÉ D. The Agony of Choice: How Plants Balance Growth and Survival under Water-Limiting Conditions. **Plant Physiology**. v. 162, n. 4, p. 1768–79, 2013.

COELHO, E. F. et al. Irrigação em citros nas condições do nordeste do Brasil. **Laranja**, v.27, p.297-320, 2006.

COLLINS, M.J et al. Partial rootzone drying and deficit irrigation increase stomatal sensitivity to vapour pressure deficit in anisohydric grapevines. **Functional Plant Biology**. Camberra. v. 37. n. 2, p.128-138, 2010.

COTRIM, C. E. et al. Regulated deficit irrigation and Tommy Atkins mango orchard productivity under microsprinkling in brazilian semi arid. **Eng. Agrícola**, vol. 31, p1052-1063, 2011.

COTRIM, C. et al. Irrigação com déficit controlado e produtividade de mangueira 'tommy atkins' sob gotejamento. **Rev. Bras. Agric. Irr.** v. 11. nº 8, p.2229 – 2238, 2017.

DRY, P. et al. Strategic management in Australian vineyards. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, v. 35, p.129-139, 2001.

ETIENNE, A. et al. What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. **J. Exp. Bot.** v. 64, p.1451-1469, 2013.

FABEIRO, C. et al. Production of muskmelon (*Cucumis melo* L.) under controlled deficit irrigation in a semi-arid climate. **Agricultural water management**. v.54, p.93 – 105, 2002.

FAO, 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/citrus-fruit/en/>. (accessed 30 January 2019).

FRASER, P.D., BRAMLEY, P.M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Prog. Lipid Res.** v.43, p.228-265, 2004.

FERREYRA, R. et al. Efecto Del água aplicada em las relaciones hídricas y productividad de la vid 'Crimson Seedles'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. v.41. n. 7, p.1109-1118, 2006.

FLEXAS, J. et al. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, v. 127, p. 343–352, 2006.

GARCÍA-SÁNCHEZ, F. et al. Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.130, p. 532-542, 2007.

GARCÍA-TEJERO, I. et al. Response of citrus trees to deficit irrigation during different phenological periods in relation to yield. fruit quality. and water productivity. **Agricultural Water Management**, v. 97, p. 689-699, 2010.

GARCÍA-TEJERO, I. et al. Positive impact of regulated deficit irrigation on yield and fruit quality in a commercial citrus orchard [Citrus sinensis (L.) Osbeck. cv. salustiano]. **Agricultural Water Management**, v.97, p.614–622, 2009.

GASQUE, M. et al. Effects of long-term summer deficit irrigation on ‘Navelina’ citrus trees. **Agric Water Manag**, v. 169, p.140–147, 2016.

GILBERT, M. E.; MEDINA, V. Drought adaptation mechanisms should guide experimental design. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 8, p. 639-47, 2016.

GONZÁLEZ, A. M. et al. Regulated deficit irrigation in green bean and watermelon greenhouse crops. **Scientia Horticulturae**, v.122, p. 527–531, 2009.

GOODWING, I., BOLAND. A.M. Scheduling deficit irrigation of fruit trees for optimizing water use efficiency. In: **Deficit irrigation practices**. Rome: FAO. 67-77, 2002.

GRIMES, D. W. et al. Alternate-furrow irrigation. **California Agriculture**, p.4–6., 1968.

HALLIWELL B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, p. 312–322, 2006.

HUTTON. R. J., LOVEYS. B.R. A partial root zone drying irrigation strategy for citrus - Effects on water use efficiency and fruit characteristics. **Agricultural Water Management**, v. 97, p.1485– 1496, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2018. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - LSPA.

JONES, H. G. Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology. 3. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2014.

KATO, M et al. 2014. Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiol.* v.134, p. 824-837, 2014.

KATZ, E. et al. The citrus fruit proteome: insights into citrus fruit metabolism. **Planta**, v.226, p.989-1005, 2007.

KIRDA, C. et al. Mandarin Yield Response to Partial Root Drying and Conventional Deficit Irrigation. **Turk J Agric For**, v. 31, p. 1-10, 2007.

KRIEDEMANN, P. E.; GOODWIN, I. Regulated deficit irrigation and partial rootzone drying. **Irrigation Insights**, n.4, 107 p., 2003.

LIN, Q. et al.. Transcriptome and metabolome analyses of sugar and organic acid metabolism in Ponkan (*Citrus reticulata*) fruit during fruit maturation. **Gene**. v.554, p.64-74, 2015.

LOVEYS, B.R. et al. Physiological approaches to enhance water use efficiency in agriculture: exploiting plant signalling in novel irrigation practice. In: BACON. M. A. (Ed.) **Water use efficiency in plant biology**. Boca Raton: CRC Press, 113-138, 1998.

LOVEYS, B.R. et al. Physiological approaches to enhance water use efficiency in agriculture: exploiting plant signaling in novel irrigation practice. In: Bacon, M.A. (Ed.), **Water use efficiency in plant biology**. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 113-142, 2004.

MARSAL, J. et al. Pear fruit growth under regulated deficit irrigation in container-grown trees. **Scientia Horticulturae**, v.85, p. 243-259, 2008.

McCARTHY. Regulated deficit irrigation and partial rootzone drying as irrigation management techniques for grapevines. In. **Deficit Irrigation Practices, Water Reports**, n. 22, p. 79-87, 2000. Roma, FAO, 2000.

MEDINA, C.L. et al. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranjeira 'Valência' sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, p. 29-34, 1999.

MEDINA, C. L. et al. Fisiologia dos citros. In: MATTOS JÚNIOR, D.; NEGRI, J. D.; Pio, R. M.; POMPEU JÚNIOR, J (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico; Fundag, p.148-195, 2005.

MOSSAD, A. et al. Growth and water relations of field-grown 'Valencia' orange trees under long-term partial rootzone drying. **Irrigation Science**, v. 36, p. 9–24, 2017.

NEVES, M.F., TROMBIN, V.G. Anuário da citricultura. São Paulo. Markestrat. 60 p., 2017.

OLIVEIRA, R.P. et al. Melhoramento genético de plantas cítricas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.35, n.281, p.22-29, 2014.

PANIGRAHI, P. et al. Economic Analysis of drip-irrigated kinnow mandarin orchard under deficit irrigation and partial root zone drying. **Irrig and Drain**. v.62, 67–73, 2013.

PASSOS, O.S. et al. Produção de citros de mesa e industrial no nordeste brasileiro – avanços tecnológicos. Embrapa. Circular técnica, 2012.

PEIXOTO, C. P. et al. Análise de crescimento de diferentes genótipos de citros cultivados sob déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, p.439-443.

PIO, R. M. et al. Variedades copas. In: MATTOS JÚNIOR, D.; NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JR., J. (Ed.). Citros. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, p. 37-60, 2005.

PIRES, R. C. de M. et al. **Irrigação**. In: JUNIOR, D. de M.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; JUNIOR, J. P. (Ed.). Citros. Campinas, SP: FAPESP; Centro APTA; Instituto Agrônômico; FUNDAP, p. 370 – 408, 2005.

POMPEU JUNIOR, J. **Porta-enxertos**. In: Mattos Junior, D.; Negri, J. D.; Pio, R.M., Pompeu junior, J. Citros. Campinas:FUNDAG, p. 63 -104, 2005.

POMPEU JUNIOR, J.; BLUMER, S. Laranjeiras e seus porta-enxertos nos viveiros de mudas cítricas do Estado de São Paulo em 2004-2007. **Revista Laranja**. Cordeirópolis, v. 29, n. 1, p. 35-50, 2008.

RAMOS, Y. C et al. Dwarfing rootstocks for 'Valencia' sweet orange. **Acta Horticulturae**, v.1065, p.351-354, 2015.

REUTHER, W. Climate and citrus behavior. In: REUTHER, W. (Ed.) **The citrus industry**. Riverside: University of California. v.3, p.280-337, 1973.

REZENDE, J. O. Um olhar sobre a citricultura do Estado da Bahia. **Revista Bahia Agrícola**, v.9, n.1, P.72-83, 2011.

RODRIGO, M.J. et al. Biochemical and molecular analysis of carotenoid biosynthesis in flavedo of orange (*Citrus sinensis* L.) during fruit development and maturation. **J. Agric. Food Chem.** V.52, p.6724-6731, 2004.

RODRIGUEZ, O. et al. Citricultura Brasileira, 2ª Ed. Campinas: Fundação Cargill. P.265-280, 1991.

RODRIGUES, M. J. DA S et al. Caracterização de frutos e propagação de porta-enxertos híbridos de citros em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.37, n. 2, p.457-470, 2015.

ROMERO P. et al. Deficit irrigation and rootstock: their effects on water relations, vegetative development, yield, fruit quality and mineral nutrition of *Clemenules* mandarin. **Tree Physiology**. p.1537–1548, 2006.

ROMERO P. et al. Contrasting physiological effects of partial root zone drying in field grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Monastrell) according to total soil water availability. **Journal of Experimental Botany**, V.63, P. 4071–4083, 2012.

ROMERO-CONDE, A. et al. Physiological responses of citrus to partial rootzone drying irrigation. **Scientia Horticulturae**. v. 169, 234–238, 2014.

SAMPAIO, A. H. R. Avaliação de combinações copa-porta-enxerto de citros sob déficit hídrico no solo: estudo de mecanismo de prevenção ao déficit hídrico (**Tese de Doutorado**). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas-BA, 145f, 2014.

SAMPAIO, A.H.R. et al. Indicadores fisiológicos da lima ácida ‘tahiti’ submetida à irrigação deficitária com secamento parcial de raiz. **Irriga**. v. 19, n. 2, p.292-301, 2014.

SAMPAIO. A.H.R. et al. Déficit hídrico e secamento parcial do sistema radicular em pomar de lima ácida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.45. n.10, 1141-1148, 2010.

SANTOS, M.R. et al. 'Tommy Atkins' mango yield and photosynthesis under water deficit in semiarid region of Bahia. **Rev. Bras. Eng. Agric. Ambient.** v.18, p.899-907, 2014.

SANTOS, M.R. et al. Yield, water use efficiency and physiological characteristics of "Tommy Atkins" mango under partial rootzone drying irrigation system. **J. Water Resour. Prot.** V.7, p.1029-1037, 2015.

SHARMA, P. et al. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**. p. 26, 2012.

SOARES FILHO, W.S. et al. Potential of obtaining new rootstocks in crosses among 'Rangpur' lime, 'Sour' orange, 'Sunki' mandarin and *Poncirus trifoliata*. **Rev. Bras. Frutic.** v30, p.215-218, 2008.

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

SOUZA, G.M. et al. Changes in network connectance and temporal dynamics of gas exchange in *Citrus sinensis* under different evaporative demands. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 16, n. 3, p. 119-130, 2004.

SOUZA, L. S. et al. Distribuição do sistema radicular de citros em uma toposequência de solos de tabuleiro costeiro do estado da Bahia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.2, p.503-513, 2008.

SOUZA, E.L.S. et al. Indicações técnicas para a citricultura do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: FEPAGRO. p. 31-43, 2010.

SPREER, W. et al. Yield and fruit development in mango (*Mangifera indica* L. cv. Chok Anan) under different irrigation regimes. **Agric. Water Manag.** V.96, p.574-584, 2009.

TREEBY, M.T.et al. Irrigation management and rootstock effects on navel orange [*citrus sinensis* (L.) Osbeck] fruit quality. **Agric. Water Manag.** V.91, p.24-32, 2007.

VERSLUES, P. E. et al. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **The Plant Journal**, v. 45, p. 523-539, 2006.

XIONG, L. et al. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. **The Plant Cell**, p. 165-183, 2002.