

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**MÉTODO DE BOUCHÉ-THOMAS PARA CONTROLE DO
TAMANHO DE PLANTAS DE CITROS EM CLIMA
SUBTROPICAL**

Francisca Carla Santana da Silva

Bióloga

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**MÉTODO DE BOUCHÉ-THOMAS PARA CONTROLE DO
TAMANHO DE PLANTAS DE CITROS EM CLIMA
SUBTROPICAL**

Francisca Carla Santana da Silva

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Augusto Girardi

Coorientador: Dr. Alécio Souza Moreira

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

S586m

Silva, Francisca Carla Santana da

Método de Bouché-Thomas para controle do tamanho de plantas de citros em clima subtropical / Francisca Carla Santana da Silva. --

Jaboticabal, 2026

95 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Eduardo Augusto Girardi

Coorientador: Alécio Souza Moreira

1. Laranja. 2. Análise fatorial. 3. Expressão gênica. 4. Plantio. I. Título.

Impacto potencial desta pesquisa

Esta dissertação apresenta um estudo aprofundado sobre método de Bouché-Thomas, que demonstra potencial para reduzir o tamanho de plantas de citros, proposto como uma alternativa frente aos métodos utilizados atualmente na citricultura. A pesquisa visa contribuir para o avanço do conhecimento científico, além de propor soluções práticas, viáveis e sustentáveis para o manejo de pomares. Espera-se que, no futuro, a adoção do método de Bouché-Thomas possa ampliar as opções de manejo disponíveis, promover maior autonomia ao citricultor e contribuir para sistemas de produção mais eficientes e sustentáveis.

Potential impact of this research

This dissertation presents an in-depth study of the Bouché-Thomas method, which shows potential to reduce the size of citrus trees and is proposed as an alternative to the methods currently used in citriculture. The research aims to contribute to the advancement of scientific knowledge, as well as to propose practical, viable, and sustainable solutions for orchard management. It is expected that, in the future, the adoption of the Bouché-Thomas method may expand the range of available management options, promote greater autonomy for citrus growers, and contribute to more efficient and sustainable production systems.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MÉTODO DE BOUCHÉ-THOMAS PARA CONTROLE DO TAMANHO DE PLANTAS DE CITROS EM CLIMA SUBTROPICAL

AUTORA: FRANCISCA CARLA SANTANA DA SILVA

ORIENTADOR: EDUARDO AUGUSTO GIRARDI

COORDINADOR: ALÉCIO SOUZA MOREIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Agronomia (Produção Vegetal), pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **EDUARDO AUGUSTO GIRARDI**
Data: 27/11/2025 09:56:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. EDUARDO AUGUSTO GIRARDI (Participação Virtual)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) / Cruz das Almas/BA



Pesquisador Dr. FRANCISCO JOSÉ ARENAS ARENAS (Participação Virtual)
Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria (IFPA) / Sevilha/Espanha

Documento assinado digitalmente
 **FRANCISCO JOSE DOMINGUES NETO**
Data: 27/11/2025 08:51:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. FRANCISCO JOSÉ DOMINGUES NETO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Vegetal / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 24 de novembro de 2025.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

FRANCISCA CARLA SANTANA DA SILVA – nascida em 12 de outubro de 1996 em Irituia, Pará, Brasil. Filha de Francisco de Assis Lima da Silva e Cosma Assis Santana. Formou-se em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), campus de Capitão Poço, Pará. Durante a graduação, participou de projetos voltados para o melhoramento do jambu, finalizando com o trabalho de conclusão de curso. Em agosto de 2023, ingressou na pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) na Unesp – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Eduardo Augusto Girardi e coorientação do Dr. Alécio Souza Moreira, sendo bolsista CAPES. Desenvolveu sua pesquisa de mestrado na Fundação Coopercitrus Credicitrus (FCC), em Bebedouro, São Paulo, na área de citricultura.

*“e por mil estradas onde andarmos nós,
qual semente nos levará?”*

Eliana Ribeiro

“Dattebayo”

Naruto Uzumaki

À Fundação Coopercitrus Credicitrus,
ao professor Eduardo Sanches Stuchi (in
memoriam) e a todos que contribuíram
para a realização deste trabalho,
EU DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser sempre minha força e meu refúgio nos momentos bons e ruins da vida.

Ao meu orientador, Dr. Eduardo Augusto Girardi, por confiar a mim a missão de dar continuidade e concluir um trabalho tão importante e desafiador quanto o Bouché-Thomas, pelo conhecimento compartilhado, pelas conversas e pelos conselhos.

Aos meus coorientadores, Dr. Alécio Souza Moreira, pelo apoio e ensinamentos, e ao professor Dr. Eduardo Sanches Stuchi (in memoriam), pelos ensinamentos e pelas conversas.

À professora Dra. Renata Aparecida de Andrade, Dra. Josiane Cecília Darout e Dra. Mariana Ferreira da Vitória, membros da banca de qualificação, e ao Dr. Francisco José Arenas e ao Prof. Dr. Francisco José Domingues, membros da banca de defesa pelas excelentes contribuições que aprimoraram esta dissertação.

À Fundação Coopercitrus Credicitrus, pelo apoio e suporte técnico. A toda equipe: diretor Oscar Franco Filho, Ana Lúcia, Leandro, Gustavo (Guru), Reginaldo, Élio, Ana Paula, Laiza (Lala), Val e as meninas da limpeza; à equipe de campo da FCC, em especial ao Lucas, pela prontidão em ajudar; ao pessoal do laboratório de solos, Léo, Vinicius, Marcos e Fabrício pela colaboração, e aos estagiários, pelo apoio à pesquisa.

Aos bolsistas que conheci durante essa trajetória acadêmica e que contribuíram com a pesquisa: Tati, Mauro, José, Mateus, Batata, Felipe, Caio, João Puliani, Igor, Julia, João Egídio, Livia, Natasha, Fidelis, Ana Laura, Clarice, Brendon, Laura, Vanessa e Carla Dourado.

Às minhas companheiras de pesquisa Marina, Mariana, Sabrina, Laiane e Lola, por todo incentivo, conselhos, risadas e companheirismo durante esse ciclo. Em especial à Marina, que sempre foi uma parceira e esteve ao meu lado em cada momento desde o início da pós-graduação.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo apoio técnico e fornecimento de materiais.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp de Jaboticabal, pela oportunidade de realizar o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa

Ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto. O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Universal - Brasil - Código de Financiamento 409456/2023-3.

A todos os pesquisadores e técnicos envolvidos: Professor Dr. Rinaldo, técnica Agda da UNESP, professor Dr. Luciano Fresch, Dra Débora e Ms Laurindo, e a todos do Laboratório do Instituto de Biociências da USP; professora Dra Juliana, do Instituto Biológico; Dra. Berta e professor Dr. Leandro Peña, do Laboratório do Instituto de Biologia Molecular e Celular de Plantas (IBMCP) da Universidade Politécnica de Valência (Espanha); Dr. Juan Cifuentes-Arenas e Dra Mônica, do Fundecitrus.

Ao Ery e a todo o grupo de pesquisa do Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento de Plantas, bem como à Thalia e a toda a equipe do Laboratório de Produtos Hortícolas, pelo empréstimo de equipamentos.

Aos meus pais, Francisco e Cosma, e aos meus irmãos, Laura Santana, Luis Miguel e João Levy, por serem minha base, meu refúgio e meu lar. Em especial à minha mãe, detentora de palavras doces e gentis, que sempre me ofereceu apoio, incentivo e motivação.

Ao meu namorado e companheiro de vida, Jairo Neves, por todo amor, incentivo, paciência, apoio emocional e por aguentar meus momentos de estresse e desânimo.

A toda a minha família, em especial à minha tia Francisca, que sempre me incentivou a estudar e a seguir a carreira acadêmica.

A todos que, de alguma forma, contribuíram com apoio e incentivo, meu sincero agradecimento.

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

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Aspectos botânicos e importância socioeconômica dos citros.....	3
2.2. Propagação e principais variedades de citros no Brasil.....	4
2.3. Adensamento de plantio	6
2.4. Huanglongbing dos citros (HLB)	7
2.5. Fisiologia do crescimento dos citros	9
2.6. Controle de tamanho de plantas de citros.....	11
2.7. Métodos de condução de plantas perenes	14
2.8. Método de Bouché-Thomas.....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Instalação e manejo da área experimental	17
3.2. Plantio e tratos culturais.....	17
3.3. Delineamento experimental e tratamentos.....	18
3.4. Variáveis analisadas	18
3.4.1. Crescimento vegetativo	18
3.4.2. Produção, eficiência produtiva e índice de alternância de safra	19
3.4.3. Qualidade físico-química de frutos.....	20
3.4.4. Tolerância ao déficit hídrico	20
3.4.5. Incidência e severidade de HLB, incidência de gomose e mortalidade de plantas	21
3.4.6. Dinâmica de brotação	21
3.4.7. Concentração de nutrientes em folhas	22
3.4.8. Velocidade de fluxo de seiva	23
3.4.9. Condutividade hidráulica real da raiz ($K_{R,RM}$) de mudas de tangerineira 'Sunki'	25
3.4.10. Avaliações hormonais e expressão relativa	26
3.5. Análise estatística	29
4. RESULTADOS	30

4.1.	Dados meteorológicos	30
4.2.	Crescimento vegetativo.....	30
4.3.	Produção, eficiência produtiva e índice de alternância de safra	32
4.4.	Qualidade dos frutos	35
4.5.	Tolerância ao déficit hídrico	38
4.6.	Incidência e severidade do HLB, incidência de gomose e mortalidade de plantas	40
4.7.	Dinâmica de brotação	41
4.8.	Concentração de nutrientes em folhas.....	44
4.9.	Velocidade do fluxo de seiva	46
4.10.	Condutividade hidráulica de mudas de tangerineira ‘Sunki’	47
4.11.	Concentração de hormônios vegetais.....	51
4.12.	Expressão relativa.....	53
5.	DISCUSSÃO.....	57
6.	CONCLUSÃO	68
7.	REFERÊNCIAS	68

MÉTODO DE BOUCHÉ-THOMAS PARA CONTROLE DO TAMANHO DE PLANTAS DE CITROS EM CLIMA SUBTROPICAL

RESUMO - A maioria dos porta-enxertos comerciais induz alto vigor à copa e, quanto mais altas são as plantas, maiores são os custos de colheita e outros tratos culturais. Algumas técnicas de manejo são utilizadas objetivando-se diminuir o tamanho das plantas, citando-se a poda e a adoção de porta-enxertos menos vigorosos. Uma alternativa promissora é o método de Bouché-Thomas (BT), que consiste na inclinação do tronco no ângulo de 30° em relação ao nível do solo no momento do plantio. Objetivou-se avaliar o potencial do método BT para controle do vigor de plantas de citros em condições de campo a longo prazo, além de investigar os fatores fisiológicos e morfoanatômicos associados. O experimento foi instalado em 2016 na Fundação Coopercitrus Credicitrus em Bebedouro - São Paulo. A área experimental permaneceu sem irrigação até o ano de 2023. Utilizou-se a laranjeira 'Pera' enxertada em tangerineira 'Sunki' no espaçamento de plantio 5,0 m x 2,0 m. Os tratamentos corresponderam ao plantio das árvores em ângulo reto (sistema convencional, SC) e de 30° (BT), utilizando-se mudas palito podadas em duas alturas, 45 cm e 90 cm. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial 2x2 (ângulo de plantio x altura da muda), totalizando quatro tratamentos, cinco repetições e dez árvores na parcela. Foram avaliadas variáveis biométricas, fisiológicas, fitopatológicas e moleculares entre 2018 e 2025, com os dados analisados pelo teste t de Student ($p < 0,05$). Após 9 anos de plantio, as plantas do sistema BT apresentaram volume de copa 43% menor. Apesar da menor produção média de frutos por planta, observou-se maior eficiência produtiva por volume de copa. Além disso, as plantas do sistema BT produziram, em média, frutos maiores, mais pesados e com menores teores de açúcar, independente da altura da perna. Independente da condução, houve tolerância à seca e composição mineral de folhas similares e alta incidência de HLB, sem diferença para a quantidade de brotos entre os tratamentos. A concentração hormonal foi semelhante entre os dois sistemas de plantio, exceto para a citocinina isopenteniladenina (IP) que foi inferior no BT. De modo geral, a expressão relativa dos genes avaliados não alterou significativamente em meristemas apicais, mas se observou uma tendência de regulação negativa na via biossintética das giberelinas para os genes KS e KO, e regulação positiva para os genes GA20OX e GA3OX em plantas conduzidas no sistema BT. Ademais, houve regulação negativa para o gene NCED2 e ausência de diferenças significativas em todos os alvos avaliados para a via biossintética do AIA (TAR, YUCCAs e GH3.10 e GH3.9). Em viveiro usando mudas do porta-enxerto 'Sunki tropical', o sistema BT também reduziu o vigor das plantas, além de menor condutividade hidráulica em relação ao controle reto. Em campo, a velocidade e fluxo de seiva foram menores em plantas do sistema BT. Com base no conjunto de resultados, conclui-se que o sistema Bouché-Thomas controlou o tamanho de uma combinação vigorosa de copa/porta-enxerto de citros em clima subtropical principalmente devido à redução do fluxo de seiva, sendo mais eficaz associado às mudas palito de 90 cm. Maior necessidade de desbrotas e incidência de gomose são limitações à técnica.

Palavras-chave: laranja; análise fatorial; expressão gênica; plantio.

BOUCHÉ-THOMAS METHOD FOR CONTROLLING THE TREE SIZE OF CITRUS IN A SUBTROPICAL CLIMATE

ABSTRACT - Most commercial rootstocks induce large size to the canopy, and the taller the plants, the higher the costs of harvesting and other cultural treatments. For this, cultural practices are used to reduce the tree size, such as pruning and less vigorous rootstocks. Aiming at viable alternatives for the producer, angle planting systems such as the Bouché-Thomas (BT) method can be used. BT consists of training the trunk at an angle of 30° in relation to the ground level at planting. The objective was to evaluate the potential of the BT method for controlling citrus tree vigor under long-term field conditions, as well as to investigate the associated physiological and morpho-anatomical factors. The experiment was established in 2016 at the Coopercitrus Credicitrus Foundation in Bebedouro, São Paulo, Brazil, in 2016, without irrigation until 2023, using 'Pera' sweet orange grafted on 'Sunki' mandarin at the tree spacing of 5.0 m x 2.0 m. The treatments corresponded to the planting of trees at right angle (conventional system, SC) and at 30° (Bouché-Thomas method, BT) using nursery trees pruned at 45 cm and 90 cm height at planting. The experimental design was randomized blocks in a 2x2 factorial scheme (planting angle x nursery tree height), with four treatments, five replications and ten trees in the plot. The variables evaluated included biometric, physiological, phytopathological, and molecular variables from 2018 to 2025, and data were analyzed by Student's t-test ($p < 0.05$). Nine years after planting, BT system showed trees 43% smaller, in addition to lower mean fruit production per tree, but higher production efficiency per canopy volume. In addition, in average it produced larger and heavier fruits with lower sugar levels regardless of the nursery tree height. Both planting systems showed intermediate tolerance to drought and similar mineral leaf nutrient contents, besides overall high incidence of HLB, no difference in the number of shoots among treatments. The hormone concentration was similar between the two systems with the lowest content of the cytokinin isopenteniladenin (PI) found in the BT system. As for relative expression, in general, the expression for the evaluated genes was low for apices tissues under study with a tendency for reduction of the gibberellin KS and KO genes, and an increase in GA20OX and GA3OX in the BT treatment, in addition to a reduction of more than two times for NCED2 and with a tendency to reduce in BT treatment in all targets evaluated for IAA (TAR, YUCCAs and GH3.10 and GH3.9). In a nursery using seedlings of the 'Sunki Tropical' rootstock, the BT system resulted in smaller seedlings with lower hydraulic conductivity in relation to the control (90° planting). In the field, sap velocity and flow were lower in plants under the Bouché-Thomas system. In conclusion, the Bouché-Thomas system controls the size of a vigorous scion/rootstock of citrus under subtropical climate primarily due to a reduced sap flow, being more efficient with the use of 90 cm-high nursery trees. Higher need of sprouting and incidence of gummosis may limit BT method.

Keywords: orange; factorial analysis; gene expression; planting.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de laranjas-doces [*Citrus ×sinensis* (L.) Osbeck] do mundo (FAO, 2023), sendo o Estado de São Paulo responsável por 77% de toda produção nacional (IBGE, 2023). Em 2023, a produção de laranja-doce, no estado, foi de mais de 17,6 milhões de toneladas (IBGE, 2023), sendo o suco de laranja o principal produto da cadeia, destinado majoritariamente à exportação agrícola, com 70% da produção destinada ao processamento e 30% ao mercado interno de fruta fresca (USDA, 2023).

Apesar da grande produção, a citricultura enfrenta problemas fitossanitários que ameaçam a cadeia produtiva, como é o caso de doenças como o huanglongbing (HLB). Essa doença é associada a bactérias do gênero *Liberibacter*, sendo *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas) predominante no Brasil (Bové, 2014; Costa et al., 2021; Alves et al., 2025). HLB não possui cura, não há variedades comerciais resistentes e o controle preventivo depende do uso de mudas sadias, controle do inseto vetor (o psílídeo *Diaphorina citri* Kuwayama) e eliminação das plantas infectadas em uma escala de manejo regional. O HLB compromete a produção de frutos e sua qualidade, reduzindo a longevidade das plantas (Bassanezi et al., 2020).

Até o momento, não se conhecem genótipos de *Citrus* resistentes ao HLB, apesar de algumas cultivares terem susceptibilidade diferenciada (Ramadugu et al., 2016; Gao et al., 2023), sendo que a doença afeta todas as combinações copa e porta-enxerto comerciais (Rodrigues et al., 2020; Albrecht et al., 2020). No entanto, plantas com menor vigor vegetativo apresentam menor incidência acumulada da doença em pomares com controle do vetor (Rodrigues et al., 2020), possivelmente devido à dinâmica de brotação nessas combinações (Carvalho et al., 2021).

A maioria dos porta-enxertos comerciais utilizados no cinturão induzem grande porte às copas e, quanto mais altas são as plantas, maiores são os custos de colheita e tratos culturais, pois demandam o uso de escadas e aumentam o tempo de trabalho dos colhedores. Além disso, o tamanho, o formato e a arquitetura das árvores exercem papel determinante na produtividade, influenciando desde a eficiência fotossintética até aspectos de manejo da cultura como o arranjo de plantio (Teichmann e Muhr, 2015). A poda é uma prática de manejo utilizada para regular o crescimento e o porte

das plantas, mas pode causar queda de produção se for intensa ou frequente, além de estimular brotações que favorecem a disseminação de doenças como o HLB (Fonte et al., 2023). Uma alternativa à poda seria o uso de porta-enxertos ananizantes, porém seu uso em larga escala ainda é limitado pela pequena oferta de material de propagação e, principalmente, pelo desconhecimento sobre sua resposta em diferentes ambientes e copas (Castelo, 2010; Gonzatto; Griebeler; Schwarz, 2022). Entre os porta-enxertos ananizantes, o trifoliata Flying Dragon é o mais conhecido, porém é muito intolerante à seca (Girardi et al., 2021).

Diante dessa problemática, técnicas culturais que controlem o tamanho das plantas de citros com menor necessidade de podas ou sem a troca por porta-enxertos ananizantes são demandadas. Desta forma, o método Bouché-Thomas de condução de plantas pode ser uma alternativa de manejo viável, pois visa eliminar ou reduzir a necessidade de poda e favorecer a produção em detrimento do crescimento vegetativo (Bouché-Thomas, 1953). Esse método consiste na condução dos ramos das plantas em ângulos de 30° em relação ao nível do solo, conforme a morfologia de cada espécie (Inglez de Souza, 1983). Essa inclinação inibe o crescimento meristemático apical e induz a brotação de ramos laterais, que são responsáveis pelo desenvolvimento e frutificação, resultando em precocidade de produção em diversas frutíferas (Moretti, 1950; Höpfl et al., 2021; Musacchi et al., 2021).

No entanto, não há informações sobre o uso dessa técnica para citros em condições subtropicais como do cinturão citrícola brasileiro, nem se conhecem os mecanismos fisiológicos, bioquímicos e genéticos envolvidos na regulação do tamanho das plantas de citros condicionados pela mudança de inclinação do tronco. Portanto, o objetivo com o presente trabalho foi avaliar o potencial do método Bouché-Thomas para controlar o vigor de uma combinação vigorosa de copa/porta-enxerto de citros em condições de campo em longo prazo e esclarecer os fatores fisiológicos e genéticos que o determinam. Acredita-se que essa técnica de condução de citros em plantio com ângulo de 30° reduza o tamanho da planta sem maiores danos ao potencial produtivo e qualidade de frutos da copa.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos botânicos e importância socioeconômica dos citros

O gênero *Citrus* integra a família Rutaceae e a subfamília Aurantioideae, sendo subdividido em duas tribos: Clauseneae e Citreae, esta última responsável por abrigar as espécies conhecidas como citros verdadeiros (Swingle e Reece, 1967). Sua origem ainda é bastante estudada, porém, evidências filogenéticas mais recentes indicam que a origem do gênero se localiza na região sudoeste da China, particularmente em Yunnan, e no nordeste da Índia, na província de Assam (Wu et al., 2018). As espécies pertencentes ao gênero *Citrus* são, em sua maioria, arbóreas, perenes, apresentando folhas tipicamente unifoliadas, com pecíolos de dimensões grandes, médias ou pequenas e podendo apresentar espinhos situados nas axilas. As flores são pentâmeras, geralmente hermafroditas, de coloração branca com odor adocicado, podendo ser solitárias ou em corimbos. Os frutos são bagas modificadas, conhecidas como hesperídios, e se caracterizam pela diversidade morfológica, podendo assumir formas esferoidais, oblatadas ou prolatadas. Quanto às sementes, estas, quando presentes, são geralmente poliembriônicas, contendo múltiplos pares de cotilédones, entre os quais se distinguem um embrião zigótico e diversos embriões nucelares (Deng et al., 2020).

A cultura dos citros possui importância socioeconômica mundial devido ao alto consumo das frutas e seus derivados. O Brasil é o maior produtor de laranjas-doces [*Citrus × sinensis* (L.) Osbeck] do mundo, seguido pela China, Índia, México e Estados Unidos (USDA, 2025). A grande parte da produção de laranjas-doces do Brasil está concentrada no Estado de São Paulo, que representou 77% de toda produção no ano de 2023, com mais de 17,6 milhões de toneladas (IBGE, 2023). Somando o Estado de São Paulo com as regiões do Triângulo Mineiro e Sudoeste de Minas Gerais, forma-se o cinturão citrícola brasileiro, que foi responsável por uma produção estimada de 232,38 milhões de caixas de laranja na safra 2024/2025. Apesar disso, comparando a safra 2024/2025 com a safra anterior, houve uma redução de 36,2 % (Fundecitrus, 2025a). Essa redução foi atribuída principalmente ao clima desfavorável com altas temperaturas e menos chuvas, além do aumento da incidência do HLB, o que contribuiu para o menor número de frutos por árvore (Fundecitrus, 2025b).

O suco de laranja é o principal produto de exportação agrícola desta cadeia, em que o país é líder mundial, com 70% da produção destinada ao processamento e 30% ao mercado interno de fruta fresca (USDA, 2023). Além do suco e da fruta fresca para consumo in natura, outros produtos como óleo essencial da casca, polpa e bagaço para ração e compostos orgânicos, e produtos processados como geleias e doces, também são usados demonstrando o aproveitamento integral da fruta e agregando valor à cadeia produtiva (Andrade et al., 2022). A citricultura é um dos setores do agronegócio brasileiro que mais geram empregos no país. Nos primeiros seis meses de 2024, este setor foi responsável pela criação de 33.913 empregos, representando um aumento de 10% em relação ao mesmo período de 2023, quando foram geradas 30.786 vagas. O estado de São Paulo concentrou a maior parte dessas contratações, com 78% do total, o que corresponde a 45.112 novos postos de trabalho (Revista Cultivar, 2025). Assim, o cenário atual da citricultura brasileira é caracterizado pela busca de meios de frear o avanço do HLB, especialmente no estado de São Paulo, visando manter o Brasil como protagonista no cenário mundial de produção de citros, contribuindo com a economia e com a empregabilidade.

2.2. Propagação e principais variedades de citros no Brasil

A propagação dos citros é uma etapa fundamental na citricultura, onde são utilizadas técnicas que visam garantir a perpetuação das características genéticas, a uniformidade das plantas e a sanidade fitossanitária (Hartmann et al., 2011; Castle, 2020). Exemplos dessas técnicas são os métodos sexuais, pela utilização de sementes, e assexuais, por meio da alporquia, estaquia e enxertia, sendo esta última a técnica predominante no cultivo comercial (Sobrinho et al., 2017). O uso de sementes poliembriônicas, contendo embriões nucelares que originam plântulas geneticamente idênticas à planta-mãe, é comum na multiplicação de porta-enxertos (Albrecht et al., 2017). A facilidade da propagação, transporte e viabilidade das sementes ao longo do tempo foram primordiais na disseminação dos citros pelo mundo. O uso da estaquia e da alporquia pode ser uma alternativa rápida para a obtenção de porta-enxertos de variedades cujas sementes apresentam baixa viabilidade ou originam poucas plântulas nucelares; contudo, as plantas originadas tendem a ser mais vulneráveis à seca e ao tombamento (Pompeu Junior, 2005).

A muda comercial de citros é resultante da união de duas variedades distintas, enxerto e porta-enxerto, sendo que essa combinação visa à obtenção de produtividade mais precoce, frutos de excelente qualidade, menor incidência de doenças e pragas de solo, maior tolerância à seca, maior eficiência de absorção de nutrientes, entre outras características. Embora o cultivo dos citros seja uma prática bem antiga, sua propagação por enxertia é relativamente recente. Trata-se de um método de propagação que consiste na união de tecidos de duas plantas, promovendo sua fusão para originar um único e novo indivíduo. O porta-enxerto fornece o sistema radicular, enquanto o enxerto ou copa, que vem da borbulhia, resulta na parte aérea (Sobrinho et al., 2017).

A produção de mudas de citros é realizada em estufas fechadas, com laterais revestidas por telas antiafídeos e cobertura plástica, garantindo a proteção contra vetores e contaminações (Oliveira et al., 2016). A semeadura é feita em tubetes plásticos, contendo substratos geralmente composto por casca de *Pinus*, fibra de coco, vermiculita e carvão vegetal, com boa capacidade de retenção e drenagem de água, favorecendo o desenvolvimento radicular, onde são semeadas de uma a quatro sementes por recipiente. A emergência ocorre entre 15 e 45 dias após a semeadura e, cerca de três a quatro meses depois, selecionam-se as plântulas mais vigorosas, momento em que é realizado o transplântio para recipientes maiores, com volume aproximado de 4,5 L (Bremer Neto et al., 2015).

A enxertia é realizada quando o caule do porta-enxerto atinge diâmetro entre 0,5 e 0,8 cm, normalmente de três a cinco meses após o transplântio. As borbulhas utilizadas nesse processo são provenientes de plantas matrizes cultivadas exclusivamente para essa finalidade. Após a enxertia, a brotação é conduzida em haste única, com o auxílio de tutores, até a completa maturação da muda, o que ocorre aproximadamente entre três e cinco meses depois. Ao final, é realizado o desponde da haste da copa a 45 cm do colo. Nesse estágio, a muda é denominada “palito”, apresentando cerca de 10 a 12 meses e encontra-se pronta para comercialização e plantio (Bremer Neto et al., 2015; Oliveira et al., 2023).

Atualmente, as principais variedades de copa presentes nos pomares são ‘Hamlin’, ‘Pera’, ‘Valencia’, ‘Natal’ e ‘Folha Murcha’, sendo que a ‘Pera’ se destaca como uma das mais cultivadas, correspondendo a 36% das laranjas-doces produzidas

no cinturão citrícola (Fundecitrus, 2023). Essa variedade apresenta bom desempenho hortícola, o que inclui boa qualidade dos frutos para processamento e mesa (Cruz et al., 2023). Já os porta-enxertos apresentam baixa diversidade no Brasil, mesmo apresentando diversos genótipos com grande potencial de uso. Atualmente, os mais utilizados são o citrumelo ‘Swingle’ ($\times$ *Citroncirus* spp.), o limoeiro ‘Cravo’ [*Citrus* $\times$ *limonia* (L.) Osbeck], a tangerineira ‘Sunki’ [*Citrus* $\times$ *aurantium* L. var. *chrysocarpa* (Hassk.) ined.] e o trifoliata ‘Flying dragon’ (*Poncirus trifoliata* var. *monstrosa*) (Girardi et al., 2021). A tangerineira ‘Sunki’ é um porta-enxerto bastante vigoroso e vem se destacando por induzir boa produtividade e alta qualidade aos frutos das copas de laranjas, ser compatível para enxertia com a laranjeira ‘Pera’, apresentar boa tolerância à seca, além de ser tolerante a doenças como a tristeza dos citros, a morte súbita (MSC) e o declínio (Girardi et al., 2017).

2.3. Adensamento de plantio

O adensamento de plantio é uma estratégia que vem sendo utilizada desde o final da década de 1970, com crescente expansão nas décadas seguintes, visando otimizar a produtividade e eficiência dos pomares cítricos (Sobrinho et al., 2002). Atualmente, o uso de pomares mais adensadas vem ganhando força em função da constante pressão do HLB sobre os pomares citrícolas (Moreira et al., 2019). Para se implementar um plantio adensado, é necessário levar em consideração alguns fatores importantes, como escolha adequada das variedades copa e porta-enxerto, demanda nutricional, condições de solo e clima, além de tratos culturais como a poda, que exercem influência sobre o vigor e crescimento vegetativo (De Negri, Stuchi e Blasco, 2005). Caso o planejamento de plantio não seja bem-feito, diversos problemas podem ocorrer, principalmente quando as plantas estão adultas, como a competição por luz, que causa a redução da capacidade reprodutiva na parte inferior e ocasiona maior desfolhamento das plantas sombreadas (De Negri, Stuchi e Blasco, 2005). Além disso, a competição por água e nutrientes no solo também é um fator que limita a produção individual das plantas. A escolha de porta-enxertos menos vigorosos é uma estratégia eficiente para redução do vigor da planta e maior eficiência produtiva (Stuchi et al., 2012).

Na Índia, em um experimento com tangerina ‘Nagpur’ (*Citrus reticulata* Blanco) enxertada em porta-enxerto de limão ‘Cravo’, observou-se que a produtividade de frutos em área total, com base no espaçamento de 2 × 2 m, foi 26, 7,1 e 4,6 vezes maior em comparação ao plantio convencional durante o primeiro, segundo e terceiro ano, respectivamente (Ladaniya et al., 2021). Em um pomar de laranja Valência em São Paulo, Brasil, nas sete primeiras safras (2014 – 2020), foi observado que o adensamento de 1000 plantas por hectare reduziu em 35% a produção por planta, mas proporcionou aumento de 27% na produção acumulada por hectare em relação à densidade convencional de 513 plantas por hectare (Girardi et al., 2021).

As variedades Hamlin, Natal e Valência, todas enxertadas em porta-enxerto trifoliata ‘Flying Dragon’, no espaçamento de 4 m x 2 m (1250 plantas por hectare), também apresentaram bons resultados de produção e qualidade dos frutos, com destaque para a ‘Hamlin’ que apresentou produção acumulada (2004-2011) de 316,02 kg por planta, concentração de sólidos solúveis de 12,67°Brix, *ratio* de 15,14 e 55,03 % de conteúdo de suco (Stuchi et al., 2012). Em estudo conduzido com laranja ‘Valência’ enxertada em trifoliata, avaliando diferentes densidades de plantio, verificou-se que o maior adensamento, com 833 plantas por hectare, resultou na maior produtividade média de frutos (47 t ha⁻¹), enquanto as densidades intermediárias (555 e 416 plantas por hectare) apresentaram produtividades de 36 e 33 t ha⁻¹, respectivamente, e os menores adensamentos (333 e 277 plantas por hectare), produziram de 27 a 25 t ha⁻¹ (Teófilo Sobrinho et al. 2012). Dessa forma, os resultados de estudos anteriores sugerem que maiores densidades de plantio favorecem a produtividade por hectare, evidenciando o potencial do adensamento como alternativa para aumentar a eficiência produtiva em pomares cítricos.

2.4. Huanglongbing dos citros (HLB)

Uma das principais doenças que afetam a citricultura mundial atualmente é o huanglongbing (HLB). O primeiro relato ocorreu na China por Reinking em 1919 e, sete décadas depois, já havia sido encontrado em 27 países da Ásia e na África do Sul (Graça, 1991). Atualmente, o HLB está presente em praticamente todas as principais regiões citrícolas do mundo, incluindo Américas, Ásia e partes da África, sendo relatado em países como China, Índia, Estados Unidos, México e Brasil (EPPO,

2025). No Brasil, a doença foi relatada no ano de 2004 na região de Araraquara (Coletta Filho et al., 2004), estado de São Paulo e atualmente pode ser encontrada também nos estados de Minas Gerais (Castro et al., 2010), Paraná (Belasque Junior et al., 2009), Mato Grosso do Sul, Santa Catarina (Mapa, 2021) e Goiás (Agrodefesa, 2024). O HLB está associado a bactérias do gênero *Candidatus Liberibacter* spp., que pertencem à classe Alphaproteobacteria e são inculturáveis, restritas ao floema e transmitidas por insetos vetores, podendo causar infecções sintomáticas ou assintomáticas em plantas (Hosseinzadeh e Heck, 2023). Entre elas, *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas) é a espécie predominante no Brasil (Bové, 2014).

O psílídeo *Diaphorina citri* Kuwayama, vetor das bactérias associadas ao HLB no Brasil, é um inseto que mede cerca de 2 a 3 mm. Seus ovos, de coloração amarela, são depositados em gemas recém-brotadas, e as ninfas desenvolvem-se de forma sincronizada com o crescimento dos ramos, em todos os citros e em especial em hospedeiros da família Rutaceae como a murta-de-cheiro (*Murraya paniculata* (L.) Jack), frequentemente utilizada como cerca-viva ou planta ornamental no Brasil. As fêmeas podem colocar entre 200 e 800 ovos, geralmente em pequenos grupos nas brotações jovens das plantas (Venção Neto, Carvalho e Furlanetti, 2025).

O HLB compromete o funcionamento do floema, resultando em enfraquecimento do sistema radicular e alterações nas relações fonte-dreno da planta, o que leva à deficiência nutricional, queda de produtividade e, por fim, à morte da árvore. As plantas doentes apresentam sintomas característicos, como frutos de menor tamanho, formato irregular, sabor amargo e coloração anormal, além de folhas com manchas irregulares e mosqueadas (Castro et al., 2010; Bassanezi et al., 2020). Embora sintomas semelhantes possam ocorrer em casos de deficiência nutricional, no HLB os frutos geralmente possuem coloração verde na região do estilete e amarelo-alaranjada na extremidade peduncular (Bové, 2014), variando conforme a cultivar e o estágio de desenvolvimento, além da presença de sementes abortadas. De modo geral, a planta apresenta nas folhas estreitas e eretas dos brotos, veias amareladas bem como sintomas de amarelecimento geral, crescimento lento, morte de ramos e queda prematura de frutos, além do comprometimento das raízes, uma vez que o patógeno *Candidatus Liberibacter* spp. causa a destruição do sistema radicular, agravando o enfraquecimento da planta (Limayem, Martin e Shankar, 2024).

Até o momento, não se conhecem genótipos de *Citrus* resistentes ao HLB (Ramadugu et al., 2016), que afeta todas as combinações copa e porta-enxerto comerciais (Rodrigues et al., 2020; Albrecht et al., 2020). No entanto, observou-se que a combinação de copas com porta-enxertos menos vigorosos, ou seja, que reduzem o tamanho da copa, apresentaram menor incidência acumulada da doença do que porta-enxertos vigorosos em um pomar sob manejo do vetor (Rodrigues et al., 2020). Acredita-se que essa redução esteja associada também à dinâmica de brotação, que é menos frequente e com menor comprimento nas combinações nanicas (Carvalho et al., 2021). Como o psíldeo se alimenta e reproduz em brotações jovens, a sua presença favorece a rápida disseminação do HLB em pomares cítricos (Li et al., 2025), sendo necessário prever e se possível controlar os ciclos de brotações das plantas que influenciam na dinâmica populacional do vetor e da disseminação do patógeno (Cifuentes-Arenas et al. 2022).

2.5. Fisiologia do crescimento dos citros

O crescimento das plantas de citros é fortemente influenciado pelas condições ambientais, com mudanças no tamanho da copa, área foliar e sistema radicular, assim como alterações no sistema vascular (Santana-Vieira et al., 2016). A arquitetura arredondada da copa está associada ao crescimento dos ramos e é a disposição das gemas no caule que determina o ângulo e o tipo de ramificação que os ramos terão, se esses não sofrerem a interferência da poda (Castro Neto, 2017). O tamanho, o formato e a arquitetura da árvore têm, em conjunto, um papel determinante para a produtividade, porque influenciam em diversos componentes da produção, desde a fotossíntese até o manejo da cultura, como arranjo de plantio (Teichmann e Muhr, 2015). Os citros apresentam, de modo geral, crescimento do tipo simpodial, com dois a cinco fluxos de crescimento por ano conforme o ambiente (Rey, 2000).

Os fitormônios ou hormônios vegetais também são elementos que contribuem fortemente para o desenvolvimento dos citros, pois são compostos químicos produzidos pelas plantas que desempenham papel essencial na regulação do crescimento e da produção e nas respostas aos fatores ambientais, atuando em diferentes processos fisiológicos, desde a germinação até a senescência (Vera et al., 2024).

Entre os fitormônios, as giberelinas (GAs) constituem uma família de grande relevância. Embora muitas GAs tenham sido identificadas, apenas uma pequena fração apresenta atividade biológica efetiva, destacando-se a GA₃, também conhecida como ácido giberélico (Lavagnini et al., 2014). As demais GAs (GA₁, GA₄ e GA₇), além do ent-kaureno oxidase (KO) e ent-kaureno sintase (KS), atuam principalmente como precursores ou intermediários na biossíntese da giberelina, podendo ainda constituir compostos inativos (Hedden, 2020). No nível celular, as giberelinas estão envolvidas em processos como germinação de sementes, expansão foliar, florescimento, desenvolvimento de frutos e estímulo ao alongamento e divisão celular (Almeida e Rodrigues, 2016).

As auxinas, como o ácido indol-3-acético (AIA), promovem o alongamento celular, a diferenciação dos tecidos e a formação de raízes, além de controlarem processos como dominância apical, fototropismo e geotropismo (Vera et al., 2024). Já o ácido abscísico (ABA) está associado a respostas de estresse, especialmente no fechamento estomático sob déficit hídrico, além de atuar na dormência de sementes e gemas e na maturação dos frutos (Zhang et al., 2021). O ABA é um derivado oxigenado de carotenoides, cujo nível nas plantas é regulado pelo equilíbrio entre biossíntese e catabolismo. Na via biossintética, as enzimas 9-cis-epoxicarotenoide dioxigenases (NCEDs) realizam a clivagem da xantofila (Tan et al., 2003), enquanto a Aldeído Oxidase Abscísico 3 (AAO3) catalisa a etapa final (Taiz e Zeiger, 2007). O catabolismo, então é mediado pela ABA 8'-hidroxilase (CYP707A), que oxida o ABA ativo (Kushiro et al., 2004). De modo geral, ABA reduz o crescimento vegetal.

As citocininas (CK), por sua vez, regulam a senescência foliar, a mobilização de nutrientes, a dominância apical, a formação e atividade dos meristemas, o desenvolvimento floral, a germinação de sementes e a quebra da dormência de gemas. A sua ação ocorre principalmente pela regulação da expressão gênica, sendo que os genes mais conhecidos na via de biossíntese codificam as enzimas Transferase de Isopentenil (IPT) e "Lonely Guy" (LOG) (Wu et al., 2021). Tanto fatores internos, como mutações genéticas e níveis hormonais, quanto fatores externos, como luz, disponibilidade hídrica e temperatura, podem interferir diretamente no seu funcionamento e, consequentemente, no crescimento e desenvolvimento das plantas (Almeida e Rodrigues, 2016).

O desenvolvimento vegetativo também é influenciado pelo fluxo de seiva. A coordenação entre xilema e floema permite à planta manter seu crescimento, metabolismo e respostas a estímulos ambientais (Stanfield e Bartlett, 2022). De modo geral, maiores fluxos de seiva estão relacionados a um crescimento mais intenso da planta. Métodos de medição do fluxo de seiva permitem monitorar o funcionamento hídrico das plantas em escala temporal em curtos intervalos de tempo em seu ambiente natural e em condições não perturbadas, em períodos de longa duração (Vellame, Coelho Filho e Tolentino, 2012). A maioria dos trabalhos que visam estudar o fluxo de seiva, principalmente de plantas lenhosas, utilizam métodos de dissipação de calor, como é o caso do método da Sonda de Dissipação Térmica (SDT), desenvolvido por Granier (1985). Esse método determina a densidade de transporte de fluxo de seiva no caule a partir da taxa de dissipação de calor ocasionada pelo transporte (Delgado-Rojas et al., 2003), sendo muito utilizado para estimar o fluxo de seiva em plantas lenhosas. Para esse método, a determinação da área efetiva do xilema é necessária, pois a sonda de dissipação térmica determina a densidade de fluxo de seiva no local de inserção da sonda (Vellame, Coelho Filho e Paz, 2009). Já o método do pulso de calor (HRM) mede a proporção do aumento de temperatura, em pontos equidistantes, posicionados acima e abaixo de um aquecedor de linha, após a liberação de um pulso de calor (Bledy, Burgess e Adams, 2004). A capacidade de medir taxas baixas de fluxos de seiva é fundamental para avaliar o uso de água por toda a planta. Medições precisas durante a noite ou em períodos de baixa transpiração são essenciais para estudos de balanço hídrico, especialmente em ambientes secos (Burguess et al., 2001)

2.6. Controle de tamanho de plantas de citros

O controle do tamanho das plantas cítricas é uma prática cultural essencial para o avanço e modernização da citricultura, pois contribui para o aumento da eficiência no manejo do pomar e possibilita plantios mais adensados, produtivos e funcionais (Donadio et al., 2019; Stuchi et al., 2011). Os sistemas de plantios de alta densidade trazem vários benefícios, dentre eles, a precocidade de produção, baixo custo por unidade de produção e o potencial para maior mecanização com melhor eficiência no uso de insumos, além de facilitar as operações de colheita e pulverizações (Hayat et

al., 2022). Porém, a implantação de um pomar adensado deve ser bem planejado, levando em consideração fatores como a escolha da copa e porta-enxertos, espaçamento de plantio, além de métodos para o controle do tamanho das plantas que pode ser obtido por meio de diferentes estratégias, como o uso de porta-enxertos menos vigorosos, a poda, o uso de viroides indutores de nanismo, interenxertia e o uso de reguladores de crescimento (Stuchi, 2017, Hayat et al., 2022).

Castle e Phillips (1977) classificaram o porte das plantas de citros de acordo com sua altura ou volume de copa, considerando uma planta anã quando apresenta menos de 40% do tamanho da variedade padrão, o limão 'Rugoso'; semi-anã, de 40 a 60%; semi-padrão, 60 a 80%, e padrão, 80 a >100%. Já Bitters, Cole e McCarty (1979), classificaram o tamanho das plantas levando em consideração a árvore padrão como tendo mais de 6,0 m de altura, uma subpadrão, com 25% de redução, uma semi-anã, com redução de 50% e uma anã, com redução de 75%. Segundo Stuchi (2017), o padrão adotado para cada região deve ser baseado sempre nos porta-enxertos que apresentem o maior desenvolvimento vegetativo nas condições dadas.

O porta-enxerto possui grande influência sobre o vigor da planta, sendo responsável por modular o crescimento da copa, a arquitetura da planta e sua resposta a estresses (Castle, 1995). O porta-enxerto 'Flying Dragon' vem se destacando por induzir, na maioria das variedades de copa, de 2 a 3 m de altura (Stuchi et al., 2012). Outros genótipos de citros podem ser ananizantes, como híbridos do tipo citrandarin (tangerinas x *Poncirus trifoliata*) que reduziram o volume de copa de laranja 'Valência' no Brasil, facilitando a penetração de luz, o que pode ser considerado uma forma indireta de condução do pomar (Devite et al., 2025). Dessa forma, a utilização de porta-enxertos de menor vigor influencia o manejo do pomar, facilitando a colheita e a aplicação de defensivos agrícolas, podendo contribuir também para a redução do crescimento excessivo das brotações e favorecendo o controle e o monitoramento mais eficiente dos sintomas de HLB no campo (Stuchi e Girardi, 2010).

A técnica de interenxertia tem sido aplicada em diversas frutíferas, incluindo os citros, como uma estratégia sustentável para evitar a incompatibilidade entre a copa e o porta-enxerto, além de poder controlar o porte das plantas e influenciar a qualidade

dos frutos. O uso do trifoliata 'Flying Dragon' como interenxerto, promoveu redução significativa no vigor da copa quando combinado com porta-enxertos como o citrange 'Troyer' ou o *Poncirus trifoliata*. Essa redução de crescimento está associada à redução do fluxo de seiva, que pode resultar tanto em frutos menores quanto em aumento no teor de sólidos solúveis, especialmente sob condições de elevada carga produtiva (Yonemoto et al., 2004).

A poda é uma técnica de manejo bastante empregada em citros para controlar o tamanho das plantas. Suas vantagens incluem além do controle do vigor vegetativo, maior luminosidade e aeração no interior da copa, controle de pragas e doenças, melhor eficiência de aplicação de defensivos, facilidade na colheita, promove melhoria na qualidade dos frutos, e melhora a relação entre a raiz e a parte aérea (Mendonça et al., 2006; Azevedo et al., 2017). Porém, se a poda for feita de forma inadequada pode levar a grandes prejuízos, como redução ou perda da produtividade, se for intensa ou frequente demais, crescimento lento da planta, redução na área foliar, diminuição na produção de carboidratos de reserva, além de queimaduras dos ramos e excesso de brotações que favorecem a disseminação de doenças como o HLB (Azevedo et al., 2017; Fonte et al., 2023). Além desses fatores, a poda também é uma técnica que apresenta um elevado custo, devido à necessidade de mão de obra especializada, e ao tempo demandado para sua execução (Azevedo et al., 2017).

As podas são realizadas em pomares cítricos de acordo com o objetivo e idade da planta. A poda de formação, que geralmente é feita nos três primeiros anos após o plantio, tem o objetivo de estruturar os ramos principais que formarão a copa. A poda de limpeza, contribui para a sanidade do pomar, pois remove galhos secos, doentes ou improdutivos, sendo mais indicada no inverno. Já a poda de manutenção ou frutificação, é realizada geralmente após a colheita em plantas a partir do quarto ano, estimulando novos ramos produtivos. Contudo, a escolha da época ideal para a poda de frutificação depende da cultivar, do tipo de corte e da região, sendo geralmente recomendada logo após a colheita. E a poda de rejuvenescimento, que é indicada para árvores velhas ou debilitadas, removendo grande parte da copa e mantendo apenas o tronco e as pernadas principais. (Azevedo et al., 2017; Matias e Duarte, 2021; Matias et al., 2023).

Pesquisas recentes têm mostrado os benefícios da poda em pomares cítricos. Um estudo realizado por Al-Saif et al. (2023), mostrou que em plantas de laranjeiras ‘Valência’ conduzidas por meio de diferentes intensidades de poda, houve melhoria na arquitetura da copa, aumento da interceptação de luz e os frutos apresentaram melhor qualidade em relação às plantas controles sem poda. De forma semelhante, Chaturvedi et al. (2024), em estudo sobre diferentes intensidades de poda em plantas de tangerineira ‘Khasi’, relataram que a poda de intensidade média foi mais eficiente para maximizar a produção, enquanto a poda severa favoreceu a qualidade dos frutos destinados ao mercado de mesa. Martin-Gorriz, Martínez-Barba e Torregrossa (2021), em pesquisa realizada na Espanha com plantas de limão ‘Fino 95’, avaliaram os efeitos de podas mecânicas e manuais sobre a produtividade e os custos de operação, concluindo que a poda mecânica contínua e a poda mecânica alternada anualmente com poda manual reduziram o tempo e os custos de execução, além de promoverem aumento na produtividade da cultura.

Outro fator importante que vem se destacando é o uso de reguladores de crescimento e controle hormonal, notadamente por giberelinas e auxinas, que por sua vez está diretamente relacionado à regulação da alongação celular, divisão celular e, conseqüentemente, ao tamanho final da planta (Zhao, 2010). Os reguladores de crescimento vegetal modulam ativamente o crescimento e o desenvolvimento, controlando processos endógenos e alterando a resposta do crescimento (Griebeler et al., 2025).

2.7. Métodos de condução de plantas perenes

Na fruticultura, são usados alguns métodos de condução de plantas que visam facilitar a colheita e tratos culturais, como a poda, a empa e o tutoramento, além de obter um manejo do dossel posicionando adequadamente troncos, ramos, cordões e varas para a absorção mais eficiente da radiação solar e, conseqüentemente, melhor produção da cultura (Woldegebriel, 2025).

Plantas perenes como a videira (*Vitis* spp.), que naturalmente possui hábito trepador, necessitam de suportes para sustentação de sua copa e, nesse caso, é necessário que métodos de condução de seus ramos sejam aplicados (Leão e Chaves 2020). Um dos métodos de condução mais utilizados na viticultura é a espaldeira, que

consiste na condução vertical das plantas, dispostas em fileiras paralelas, e sustentadas por arames seguindo a linha de plantio (Miele e Mandelli, 2016). A principal vantagem desse método, além do baixo custo de implantação, é a melhor aeração e redução da umidade no interior do vinhedo, além de permitir a mecanização de podas e colheitas (Leão e Chaves, 2020).

As macieiras (*Malus domestica* (Suckow) Borkh.) e pereiras (*Pyrus communis* L.), também são espécies perenes que necessitam de métodos de condução dos ramos, como treinamento em vaso, palmetas ou fuste central, que é amplamente utilizado, promovendo equilíbrio entre frutificação e crescimento vegetativo, além de melhorar a qualidade dos frutos, favorecida pelo aproveitamento mais eficiente da radiação solar (Amarante et al., 2007). Além disso, culturas como manga (*Mangifera indica* L.) podem se beneficiar de condução em fuste central ou condução em pirâmide para otimizar o dossel e reduzir o sombreamento interno (Ibell et al., 2024).

Assim como as culturas citadas, os citros são favoravelmente beneficiados pelo manejo de poda e condução das plantas, pois estes manejos são fundamentais para a penetração de luz e aeração interna da copa, embora não seja tão difundido. Segundo Vashisth et al. (2017), práticas de condução como *topping* (redução da altura das plantas) e *hedging* (ajuste das laterais da copa), por exemplo, são indispensáveis para o equilíbrio no cultivo de citros, garantindo, assim, a penetração de luz até o interior do pomar e reduzindo a alternância de produção, ou seja, uma homogeneidade maior da produção em diferentes safras.

Apesar do uso tradicional de condução, como em videiras por exemplo, não ser aplicado em citros, a condução das plantas tem forte relação com o manejo de poda. Assim, fica evidente que estudos voltados para a modificação da morfologia das plantas, como é o caso do sistema Bouché-Thomas, pode ser uma alternativa a manejos convencionais, mas que ainda precisam ser elucidados quanto ao verdadeiro impacto a ser causado no desempenho dos pomares citrícolas.

2.8. Método de Bouché-Thomas

O plantio em ângulo de Bouché-Thomas foi desenvolvido pelo arborista francês Edmond Bouche-Thomas em Angers, na Bretanha - França em 1920 (Höpfl et al., 2021). Foi inicialmente desenvolvido para frutíferas de clima temperado visando

eliminar ou reduzir a necessidade de poda e favorecer a frutificação e produção em detrimento do crescimento vegetativo (Bouché-Thomas, 1953). Esse método consiste na condução dos ramos das plantas em ângulos de 30° em relação ao nível do solo, desde o plantio até ramificações sucessivas da copa, conforme a biologia de cada espécie (Inglez de Souza, 1983). Essa inclinação inibe o crescimento meristemático apical e induz a brotação de ramos laterais, que são responsáveis pelo desenvolvimento e frutificação, induzindo a planta à precocidade de produção em diversas frutíferas (Moretti, 1950; Höpfl et al., 2021; Musacchi et al., 2021). Bouché-Thomas utilizou a macieira como planta modelo em seu experimento. Além do tronco principal, os ramos subjacentes também foram inclinados em ângulo de 30° quando atingiram entre 1,0 e 1,5 m de crescimento, com espaçamento de 0,30 m entre eles. Ao final, esse arranjo resultou em uma espécie de cerca viva formada por ramos entrelaçados (Cuxac e Bernardin, 1962).

O plantio em ângulo é uma prática onde as árvores são plantadas em ângulos que variam de 30° a 45° na horizontal, com a copa das árvores voltadas sempre para a mesma direção, norte ou sul, em espaçamento reduzido (Piner, 1988). Essa prática tem sido apontada como capaz de influenciar o desenvolvimento das plantas, contribuindo para o controle do vigor. Burns et al. (1981), em estudos com toranjas e limões em plantio de 45°, relataram que as árvores mantiveram crescimento vigoroso, sendo necessário a poda para controlar seu tamanho. Um estudo similar ao de Bouché-Thomas foi conduzido na África do Sul, em 1977, com o plantio em ângulo de laranjas e toranjas obtendo altos rendimentos de produção por hectare (Piner, 1988). O estudo utilizou vários porta-enxertos tendo como destaque o citrange 'Yuma'. No entanto, o autor concluiu que o plantio em ângulo não atribuiu o efeito de nanismo desejado (Piner, 1988). O autor observou que, quando as árvores eram plantadas em ângulo, elas tendiam a retornar ao seu hábito de crescimento ereto devido às respostas geotrópicas. Isso foi facilitado pelo comprimento menor do tronco da planta, fazendo necessária atenção constante nos primeiros anos para evitar que elas voltem ao ângulo reto. Além disso, apresentaram numerosos brotos verticais que cresciam na parte superior do tronco principal, sendo necessária a retirada constante para que não se tornassem dominantes (Piner, 1988). Apesar do interesse na técnica e seus potenciais benefícios, na cultura dos citros são poucos os estudos voltados para o

plantio em ângulo e, atualmente, pouco se sabe sobre as metodologias e combinações de copa e porta-enxertos que podem ser adaptadas para plantios mais adensados, nem sobre os mecanismos fisiológicos envolvidos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Instalação e manejo da área experimental

O experimento foi instalado em março de 2016 em área da Fundação Coopercitrus Credicitrus (FCC) localizada no município de Bebedouro, norte do estado de São Paulo, Brasil (20° 53' 16" S, 48° 28' 11" W, 680 m de altitude). O clima da localidade é do tipo Cwa (subtropical de montanha com inverno seco e verão quente e chuvoso) segundo classificação de Köppen (Rolim et al., 2007). O solo é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média a moderada e hipoférrico (Embrapa, 2006). A adubação média anual foi de 195,5 g N, 22,6 g P e 154,8 g K por planta. Dados climatológicos foram obtidos diariamente por estação meteorológica automatizada (Campbell Scientific Ltd., modelo CR-10) para o período em estudo (2016 a 2025).

3.2. Plantio e tratos culturais

As mudas com aproximadamente um ano de idade foram produzidas em sacolas plásticas de 5 L contendo substrato à base de casca de pinus decomposta em viveiro protegido por telado antiafídeos. Utilizou-se a laranjeira 'Pera' IAC como variedade copa e a tangerineira 'Sunki' como porta-enxerto, porque essa combinação é considerada vigorosa e tolerante à seca. O espaçamento utilizado foi de 5,0 m entre linhas de plantio e 2,0 m entre plantas, em regime de sequeiro até 2023, quando o experimento passou a ser irrigado por gotejamento suplementar no período seco. Os tratos culturais usuais para cultivo de citros na região foram adotados (Mattos Junior et al., 2014). O controle do psíldeo foi realizado pela aplicação de inseticidas sistêmicos via *drench* até 3 anos de idade e aplicações foliares a cada 10 a 20 dias com inseticidas de diferentes grupos químicos em rotação desde o plantio.

3.3. Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental foi de blocos casualizados em esquema fatorial 2x2 (ângulo de plantio x altura da muda), com quatro tratamentos, cinco repetições e dez árvores na parcela.

Os tratamentos em avaliação corresponderam ao uso do método de Bouché-Thomas (BT) de condução de plantas em comparação ao sistema convencional (SC, controle). No BT, as mudas foram plantadas em ângulo de 30° em relação ao nível do solo, enquanto no SC as mudas foram plantadas em ângulo reto. Além disso, as mudas foram plantadas com haste única, sendo que metade das mudas foram podadas antes do transplântio a uma altura de 45 cm (SC, muda palito) e 90 cm (BT, muda vara). A poda a 45 cm é realizada em rotina nos viveiros antes do transplântio para estabelecimento das pernadas no campo, mas, no caso de altura a 90 cm, foi realizado apenas um desponete, sem nenhuma outra alteração na produção da muda.

Todas as mudas com ângulo de 30° foram plantadas com a inclinação no mesmo sentido da linha (inclinadas em direção ao poente). Utilizou-se protetor de tronco de Tetra Pak® com cerca de 30 cm de comprimento para evitar a brotação lateral após o plantio em campo, utilizando um protetor por muda de 45 cm de altura e dois protetores (um acima do outro) em mudas de 90 cm. Até três anos após o plantio, empregou-se empa com um cabo fino de aço amarrado a uma escora e ao terço superior das plantas mantidas em BT, protegendo-se o tronco com uma borracha, a fim de evitar o efeito do geotropismo. Mesmo assim, ao longo do estudo, foram excluídas das análises algumas plantas do tratamento BT que apresentaram maior perda do ângulo, tornando-se muito vigorosas e fora do padrão da parcela, para evitar influências nos resultados.

3.4. Variáveis analisadas

3.4.1. Crescimento vegetativo

As plantas foram medidas anualmente no período de 2017 a 2025, logo após a colheita da safra principal. A biometria das plantas considerou a altura (A, em metros), medida do colo da planta ao ápice da copa, e o diâmetro (D, em metros), medido no plano equatorial da copa nos sentidos paralelo e perpendicular à linha de plantio,

utilizando régua graduada do tipo topográfica. Em seguida, foi calculado o volume (V) de copa de acordo com a seguinte equação (Cantuarias-Avilés et al., 2011):

$$V = 2/3 \times \pi \times (D^2 / 4) \times A$$

Sendo, V = volume (m³), D = diâmetro médio da copa (m) e A = altura da planta (m).

Em 2023, foram medidos os ângulos dos troncos de todas as plantas em relação ao nível do solo com auxílio de um transferidor de madeira e, em seguida, contado o número de cicatrizes de brotos podados e de brotos ladrões presentes no colo da planta.

3.4.2. Produção, eficiência produtiva e índice de alternância de safra

A produção por planta foi avaliada nas safras de 2019 a 2025, exceto 2021 que não foi incluído devido aos efeitos de seca severa. Em 2022, uma poda leve precisou ser realizada nas plantas do tratamento convencional para permitir o tráfego de maquinário na entrelinha de 5 m, o que pode ter influenciado na safra seguinte. Anualmente, frutos maduros foram colhidos manualmente de cada planta na parcela, colocados em sacolas e pesados com uso de balança eletrônica, calculando-se a produção média por planta da parcela. A colheita da laranja 'Pera' na região do estudo em geral ocorre entre julho e setembro, com produção eventual de frutos extemporâneos entre janeiro e março. A produção acumulada por planta foi calculada para o período de 2019 a 2025. A produtividade média foi calculada pelo espaçamento de plantio utilizado, além de se estimar a produtividade para o espaçamento teórico de plantio ajustado ao tamanho final das plantas conforme proposto por De Negri et al. (2005). O índice de alternância de safras (IA) foi calculado pela fórmula:

$$IA = 1 / (n - 1) * [(a_2 - a_1) / (a_2 + a_1) + (a_3 - a_2) / (a_3 + a_2) + \dots + (a_n - a_{(n-1)}) / (a_n + a_{(n-1)})]$$

Sendo n = número total de safras avaliadas, a = produção correspondente no respectivo ano (Pearce e Dobersek-Urbanc, 1967).

A precocidade de produção foi avaliada pela percentagem de frutos colhidos nas duas primeiras safras em relação ao total de safras avaliadas no experimento (sete safras) (Cantuarias-Avilés et al., 2011). A eficiência produtiva anual foi calculada

pela razão entre a produção e o volume de copa no ano correspondente, calculando-se a eficiência média para o período do estudo.

3.4.3. Qualidade físico-química de frutos

As avaliações de qualidade dos frutos foram realizadas de 2019 a 2025, sempre que se realizou uma colheita. Foram coletadas amostras de 15 a 20 frutos maduros típicos e sem defeitos visuais, coletados aleatoriamente nas sacolas colhidas das plantas de cada parcela. Os frutos foram caracterizados e processados no laboratório de pós-colheita da FCC, conforme descrito por Cantuarias-Avilés et al. (2011). A massa foi obtida pelo peso dos frutos em balança digital (Filizola, MF-6) e expresso em kg, enquanto a altura e diâmetro dos frutos foram medidos com auxílio de uma régua tipo calha, em centímetros. Posteriormente, os frutos foram processados em extratora semicomercial (Otto 1800, OIC, Limeira, São Paulo, Brasil). O suco extraído foi pesado em balança digital para o cálculo do rendimento de suco (RS), obtido pela razão entre a massa do suco e a massa do fruto e expressa em porcentagem (%). A concentração de sólidos solúveis totais (SST) foi determinada usando refratômetro digital (Milwaukee Instruments, MA871, Rocky Mount, EUA). A acidez total titulável (AT) foi adquirida por titulação com hidróxido de sódio (0,3125 N) e os valores foram expressos em porcentagem de ácido cítrico. O índice de maturação (ratio) foi calculado pela razão entre SST e acidez e o índice tecnológico (IT) calculado pela seguinte fórmula:

$$IT = RS \times SST \times 40,8 \text{ kg (caixa padrão industrial)} / 10000$$

Sendo 40,8 kg o peso da caixa comercial de laranja.

3.4.4. Tolerância ao déficit hídrico

A tolerância à deficiência hídrica foi avaliada em todas as plantas nos anos de 2020, 2021, 2023 e 2024, sempre nos meses mais secos do ano (setembro e outubro). Atribuiu-se uma escala de notas visuais para a planta inteira de acordo com o grau de murchamento das folhas em condições de campo, conforme Fadel et al. (2018) e Costa et al. (2020). As notas corresponderam a 1 (intolerância à deficiência hídrica, com enrolamento total do limbo foliar e generalizado na copa com desfolha), 2

(intolerância intermediária à deficiência hídrica, com murchamento parcial do limbo foliar em parte da copa sem desfolha) e 3 (tolerância à deficiência hídrica, com ausência de enrolamento do limbo foliar).

3.4.5. Incidência e severidade de HLB, incidência de gomose e mortalidade de plantas

Todas as plantas foram inspecionadas anualmente, no período de outono-inverno, para diagnóstico de sintomas visuais de HLB conforme Bassanezi et al. (2011). A incidência acumulada foi calculada pelo número acumulado de plantas sintomáticas até o final do experimento dividido pelo total de plantas da parcela. Em casos de necessidade de confirmação do diagnóstico, amostras de folhas foram coletadas para extração de DNA e detecção das bactérias associadas ao HLB via qPCR no laboratório do Fundecitrus, seguindo o protocolo de Li et al. (2016).

A severidade da doença foi avaliada de 2022 a 2025 em todas as plantas no momento da inspeção, dividindo-se a copa da planta em quatro quadrantes nas duas faces paralelas à linha de plantio e, em seguida, atribuindo-se notas em escala de 0, 1, 2, 3, 4 e 5 que correspondem a 0, 20, 40, 60, 80 e 100%, respectivamente, da área de cada quadrante com sintomas visuais de HLB. O índice de severidade foi obtido através da média das notas dos oito quadrantes por planta, conforme Bassanezi et al. (2011). Com esses valores, calculou-se a severidade conforme descrito por Cifuentes-Arenas et al. (2022).

A incidência de gomose foi avaliada em 2025, observando-se sintomas típicos da doença como machucados no tronco com exsudação de goma, além de amarelecimento da planta. A incidência de gomose e a mortalidade de plantas foi obtida pelo número acumulado de plantas sintomáticas/mortas no experimento dividido pelo total de plantas da parcela.

3.4.6. Dinâmica de brotação

Inicialmente, a dinâmica de brotação foi avaliada em quatro plantas assintomáticas por parcela, em delineamento em blocos casualizados, no período de 28 de fevereiro a 17 de julho de 2024, com as coletas sendo realizadas a cada 20 dias, totalizando nove coletas. Porém, com o avanço do HLB no pomar e, não tendo a quantidade de no mínimo três plantas assintomáticas por parcela, adotou-se um

delineamento inteiramente casualizado, escolhendo-se oito plantas assintomáticas e oito plantas sintomáticas por tratamento, estas últimas com nota inicial de severidade menor que 1, no período de 15 de agosto de 2024 a 9 de janeiro de 2025, totalizando nove coletas. Foi contado o número de brotos nos estágios V1 (brotos emergentes) até V4 (brotos com desdobramento de todas as folhas e a definição do número final de folhas), conforme classificado por Cifuentes Arenas et al. (2018). Os brotos foram contados a cada 20 dias na superfície da copa delimitada por uma moldura de tubos de PVC, com 0,5 m x 0,5 m (0,25 m²), colocada na região central da copa nos dois lados da planta (Carvalho et al., 2020). A frequência de brotação foi calculada pela razão entre o número de dias de avaliação com presença de brotações V1-V4 e o número total de avaliações no período do estudo (Rodrigues et al., 2020).

A contagem de brotos foi usada para calcular a área abaixo da curva, considerando o número total de brotos por m² de copa (AACB) para cada repetição, empregando-se a fórmula para cálculo da área do trapézio, sendo a base do trapézio a média da soma de brotos (por planta e por data de avaliação), em dois lados da copa, e a altura o número de dias entre as avaliações, pela fórmula:

$$AACB = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{NB_{i+1} + NB_i}{2} \right) * (T_{i+1} - T_i)$$

onde NB_i é o número de brotos entre os estágios V1 e V4 na i ésima observação e $T_i + 1 - T_i$ é o número de dias entre as observações (Campbell e Madden, 1990).

3.4.7. Concentração de nutrientes em folhas

A concentração de nutrientes em folhas da copa foi determinada com o objetivo de comparar a composição nutricional das plantas nos tratamentos em estudo e relacioná-la ao efeito de redução de tamanho das plantas. As coletas foram realizadas em 2024 e 2025, entre os meses de fevereiro e março, período recomendado para a análise química de folhas da cultura dos citros (Mattos Junior et al., 2014). Para isso, foram coletadas 20 a 30 folhas recém-maduras por parcela, uniformes e sem danos ou sintomas de doenças/estresses por parcela, sendo coletadas a terceira ou quarta folha do ramo abaixo do fruto terminal com 2-4 cm de diâmetro, ao redor da copa, conforme recomendado por Mattos Junior et al. (2014). Em laboratório, as folhas foram lavadas, secadas e moídas. Os nutrientes P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn,

foram analisados por digestão nítrico-perclórica, sendo utilizado 500mg do material moído. A concentração de N foi obtida pelo método de Kjeldahl, e a extração foi feita por ácido sulfúrico, utilizando-se 100mg do material moído. P, S e B foram quantificados utilizando-se o método de colorimetria, sendo o Boro, por colorimetria da azometina H. Os demais nutrientes foram quantificados por espectrofotometria de absorção atômica, seguindo descrito por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997) no laboratório de solos da FCC.

3.4.8. Velocidade de fluxo de seiva

A velocidade de fluxo de seiva ou densidade do fluxo de seiva no xilema foi avaliada como variável de fisiologia vegetal relacionada às relações hídricas das plantas, podendo ser correlacionada com a capacidade de transporte de água do solo para a atmosfera pelas plantas, por sua vez relacionada ao vigor vegetativo de plantas de citros (Delgado-Rojas et al., 2007; Vellame et al., 2012). Para essa avaliação, foram selecionadas quatro plantas assintomáticas do sistema convencional (controle) na altura de 90 cm e Bouché-Thomas na altura de 90 cm, constituindo as repetições biológicas. A escolha desses tratamentos se justifica pelo melhor efeito do método de Bouché-Thomas na altura de 90 cm.

Os procedimentos de avaliação seguiram a metodologia descrita por Burguess et al. (2001). Os registros do fluxo de seiva se deram por um período de sete dias, iniciando em 26 de outubro e finalizando em 01 de novembro de 2024, logo após precipitações que somaram 175,4 mm após o período de seca, com as plantas iniciando um novo fluxo vegetativo indicativo de retomada do crescimento. Para cada planta estudada, sensores para determinação da velocidade de fluxo de seiva ($\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, logo, $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$) e fluxo de seiva ($\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) foram inseridos a 15 cm medidos a partir do início das pernadas em direção ao solo. Dois sensores termopares foram inseridos no tronco de plantas cítricas, dispostos paralelamente acima e abaixo a uma distância de -0,6, 0, 0,6 cm de um aquecedor.

Os sensores utilizados na determinação da temperatura simultânea do tronco nas duas posições foram termopares de cobre-constantan, de 0,5 mm de diâmetro, inseridos em agulhas hipodérmicas de 1 mm de diâmetro interno e 2 cm de comprimento. O aquecimento por meio de pulsos elétricos a cada 10 min com base

em um resistor construído com fios resistivos de constantan 0,5 mm revestindo uma agulha hipodérmica de 0,8 mm de diâmetro interno, com tamanho idêntico aos sensores termopares acima e abaixo, 2 cm. As sondas foram instaladas usando brocas de 1,8 mm de diâmetro externo guiadas por uma placa metálica com furos pré-perfurados. Os sensores foram conectados a um *datalogger* (CR-1000X, Campbell Scientific Inc., North Logan, UT, USA) para acionamento do pulso de calor e registro dos dados de temperaturas em intervalos de 10 min.

Após cada pulso realizado, os aumentos de temperatura acima e abaixo do aquecedor foram medidos com o método de compensação de pulso de calor, e as relações v_1/v_2 foram registradas entre 60 e 90 s após a liberação do pulso de calor de acordo com a equação:

$$V_h = \frac{k}{x} \ln\left(\frac{v_1}{v_2}\right) 3600$$

Onde, k é a difusividade térmica da madeira verde (fresca), x é a distância (cm) entre o aquecedor e qualquer sonda de temperatura, e v_1 e v_2 são aumentos de temperatura (em relação às temperaturas iniciais) em pontos equidistantes a jusante e a montante, respectivamente, x cm do aquecedor.

A velocidade do fluxo de seiva foi determinada em uma base real medindo as frações de seiva e madeira no xilema e levando em consideração suas diferentes densidades e capacidades térmicas específicas de acordo com a equação de Barrett et al. (1995):

$$V_s = \frac{V_c p_b (c_w + m_c c_s)}{P_s c_s},$$

Sendo, V_s a velocidade do fluxo de seiva ($\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$); V_c a velocidade do pulso de calor corrigida ($\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$); p_b : densidade da madeira ($\text{kg}\cdot\text{cm}^{-3}$); c_w o calor específico da matriz da madeira ($1200 \text{ J}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot^\circ\text{C}^{-1}$); c_s o calor específico da seiva ($4182 \text{ J}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot^\circ\text{C}^{-1}$); m_c o teor de água no alburno; e p_s a densidade da água ($\text{kg}\cdot\text{cm}^{-3}$). A correção da velocidade de pulso (V_c) foi seguida pela equação: $V_c = bV_h + cV_h^2 + dV_h^3$

3.4.9. Condutividade hidráulica real da raiz ($K_{R,RM}$) de mudas de tangerineira 'Sunki'

Com o objetivo de validar os resultados obtidos em condições de campo, a condutividade hidráulica do sistema radicular foi medida através da pressão hidrostática do xilema por câmara de pressão tipo Scholander (Soil Moisture model, California, USA). Nesse caso, utilizaram-se mudas que simulassem a condição de campo, ou seja, mudas conduzidas em ângulo reto e mudas conduzidas em ângulo de 30°, pois, no caso dessa análise, foi necessário utilizar plantas com o sistema radicular inteiro dentro da câmara. De um lote composto por aproximadamente 100 mudas, foram selecionadas aleatoriamente 20 mudas para a caracterização inicial, sendo avaliadas a altura da planta, o diâmetro do caule, o número de folhas, a área foliar e a massa seca da raiz. Em seguida, metade das plantas restantes foram inclinadas com auxílio de um tutor metálico entortado a 30°, onde as mudas foram amarradas com fitilhos, sendo necessário estabelecer essa inclinação a cerca de 10 cm do colo para que as plantas pudessem ser adequadamente inseridas na câmara de Scholander. A outra metade das plantas foi mantida em ângulo de 90°. As mudas de tangerineira 'Sunki' tinham aproximadamente 6 meses após a semeadura, e foram mantidas por seis meses sob inclinação em viveiro protegido e cultivadas em tubetes de 75 mL com substrato comercial. Para a avaliação foram utilizadas 20 mudas uniformes por tratamento.

A condutância hidráulica da raiz (K_R) foi obtida através da medição do fluxo de seiva, conforme descrito por Tyree (1999). Antes do início dos tratamentos e antes da avaliação de K_R , foram obtidos os valores de altura (cm), diâmetro do caule (mm) e número de folhas das mudas. Em seguida, elas foram retiradas do tubete e cortadas a cerca de 15 cm acima do colo de forma que a parte inclinada nas mudas do sistema BT pudesse ficar para fora da câmara. Dentro do compartimento da bomba, foi colocado um recipiente plástico contendo água e a muda foi colocada dentro desse recipiente, sendo então aplicadas pressões crescentes de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 e 0,7 Mpa, permanecendo por 5 min em cada pressão. Com o auxílio de papel absorvente, todo o conteúdo de água exsudado no corte foi coletado e pesado em uma balança analítica (0,0001 g). Ao final, o diâmetro do corte também foi medido.

Após a avaliação da condutância hidráulica, a área foliar de cada muda foi determinada utilizando um analisador de área foliar (LI-COR, LI-3100C, Nebraska, EUA). Os sistemas radiculares de cada planta, assim como caule e folhas foram secos a 65 °C até massa constante, em estufa com circulação e renovação de ar (TE-394/3, Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brasil). A condutividade hidráulica real pode ser obtida através da normalização de K_R por um valor dimensional de parte da planta ou planta inteira. No presente trabalho a normalização dos dados de condutividade hidráulica foi realizada pela massa seca das raízes ($K_{R,RM}$) (Frensch e Steudle 1989, North et al., 1992).

3.4.10. Avaliações hormonais e expressão relativa

As gemas apicais e axilares (até a quarta gema axilar) foram coletadas de ramos laterais, produtivos e uniformes de plantas consideradas sadias ou com poucos sintomas visuais de HLB e outras doenças, evitando ainda coletar de ramos ladrões e secos. Para essa amostragem, foram considerados apenas dois tratamentos (sistema convencional na altura de 90 cm e Bouché-Thomas na altura de 90 cm) nos cinco blocos. A escolha de apenas dois tratamentos se justifica pelo melhor efeito do método de Bouché-Thomas na altura de 90 cm. Um dia antes da coleta, as plantas foram marcadas, excluindo qualquer planta atípica de cada tratamento. A coleta ocorreu no período de 6 a 8 de agosto de 2024. Cada amostra foi constituída de centenas de gemas apicais inchadas, em estágio de pré-brotação, coletadas de oito a cinco plantas por parcela. As gemas foram coletadas com auxílio de bisturis e colocadas em microtubos de 2 mL e, em seguida, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em -80°C.

3.4.10.1. Concentração de hormônios vegetais

Os perfis hormonais foram determinados para investigar a relação com o desenvolvimento das plantas conduzidas pelo método de Bouché-Thomas. Para isso, as amostras coletadas foram maceradas em nitrogênio líquido até se transformarem em um pó fino e depois foram liofilizadas. A quantificação para os fitormônios em estudo foi realizada de acordo com o descrito por Custódio et al. (2025). Foram utilizados 50 mg por amostra do material liofilizado para fins de determinação da concentração endógena de ácido índol-3-acético (AIA), giberelinas (GAs), ácido

abscísico (ABA), ácido jasmônico (JA), ácido salicílico (AS) e citocininas (CKs). As concentrações endógenas dos hormônios foram quantificadas por Cromatógrafo Líquido de Ultra-alta Performance UHPLC - espectrometria de massa (Q-Exactive, ThermoFisher Scientific), as concentrações endógenas de AIA e ABA foram quantificadas por cromatografia gasosa por monitoramento de íons selecionados por espectrometria de massa em tandem (GC-MS-SIM) seguindo os procedimentos descritos por Custódio et al. (2025). enquanto as concentrações de GAs foram fracionadas em Cromatografia Líquida de Ultra Desempenho (UPLC) seguidas de quantificação por GC-MS-SIM conforme os procedimentos analíticos adotados por Mesejo et al. (2016). As CKs foram separadas por Cromatógrafo Líquido de Ultra-alta Performance (UHPLC). Essa avaliação foi realizada em laboratório do Instituto de Biologia Molecular e Celular de Plantas (IBMCP) da Universidade Politécnica de Valência na Espanha.

3.4.10.2. Expressão gênica relativa

Para verificar alterações de expressão nas rotas de biossínteses hormonais e correlacionar com a quantificação dos fitormônios, foi realizada a seleção de alvos e reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa quantitativa (RT-qPCR). Para a seleção de genes das vias de biossíntese de ABA, AIAs, GAs e CKs, foi conduzida uma busca no banco de dados do NCBI (National Center for Biotechnology Information) e validação através da busca dos alvos em dados de RNA-Seq para experimentos em que as amostras foram coletadas de maneira similar à metodologia amostral do presente estudo (Alves et al., 2025). Foram selecionados ao todo 47 genes envolvidos na via biossintética dos fitormônios, sendo nove pertencentes à via de ABA, 16 da via de AIAs, oito da via das GAs, 12 da via de CKs e dois normalizadores [DIM1 e ACT (Actina 2)] (Tabela suplementar 1). Os primers para RT-qPCR foram desenhados utilizando o Primer 3.0 (Primer3, 2025) e a plataforma do NCBI (NCBI, 2025) como ferramentas, sendo os parâmetros de qualidade analisados pelo Oligoanalyzer IDT (IDT, 2025).

Como o horário da coleta é um fator importante para a análise da expressão relativa de genes decorrente do ciclo circadiano das plantas, foram utilizadas as amostras de apenas três blocos coletados no período da manhã (das 7h30 às 11h30).

Em cada horário e bloco, foram coletados duas réplicas biológicas diferentes, que corresponderam a dois microtubos com aproximadamente 1 g de gemas para cada tratamento, totalizando, assim, 12 amostras (dois tratamentos, três blocos e duas réplicas por bloco, sendo 6 réplicas biológicas por tratamento). Em laboratório do Instituto de Biologia da Universidade de São Paulo, as amostras foram maceradas em nitrogênio líquido até que se obtivesse um pó fino. Em seguida, pesou-se 75 mg do macerado de cada amostra para a extração do RNA total. A extração foi feita utilizando o kit (RealiaPrep™ RNA Tissue Miniprep System – Código: Z6112) seguindo as recomendações do fabricante. A qualidade e quantidade do RNA extraído foram verificadas em espectrofotômetro (NanoDrop 1000, Thermo Fisher Scientific) e as amostras com razões 260/280 entre 1,8-2,2 foram consideradas suficientemente puras. Em seguida, as amostras selecionadas foram tratadas com DNase I (Thermo Fisher Scientific), seguindo as recomendações do fabricante para a remoção de quaisquer resíduos de material genético dupla fita. Aproximadamente 1 µg de RNA de cada amostra foi transcrito reversivamente com Random primers pela SuperScript IV reverse transcriptase (Thermo Fisher Scientific). Os cDNAs adquiridos foram testados em RT-qPCR usando oligonucleotídeos constitutivos.

A expressão relativa dos genes foi atestada por RT-qPCR no sistema QuantStudio (Applied Biosystems). As reações foram realizadas com 2 µL de cDNA (1:10); 5µL de GoTaq Master mix (Promega®); 0,3 µL dos iniciadores a 10 nM; 2,4 µL de água e 0,2 µL de ROX/20µL reação e o seguinte ciclo: 95 °C por 2 min, seguido de 40 ciclos de 95 °C por 10 s e 60 °C por 1min. Todas as reações foram realizadas em duplicata técnica e a amplificação de um único produto foi confirmada através da curva de dissociação (*melting*). Os valores do ciclo de quantificação (*Cq*) e a eficiência de amplificação de cada par de primers foram determinados utilizando o software *LinRegPCR* (Ruijter et al., 2009). Para os cálculos de expressão relativa, foi empregado o método $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ (Livak e Schmittgen, 2001) em que o tratamento controle foi usado como normalizador e os valores de *Cq offtarget* foram normalizados contra a média geométrica dos genes de referência (Vandesompele et al., 2002). Os endógenos DIM1 (DIM1 homolog / YLS8) e ACT (Actina 2) foram utilizados como normalizadores.

3.5. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste t de Student a 5% de probabilidade, usando os programas estatísticos AgroEstat – Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agronômicos (Barbosa e Maldonado Junior, 2015) e R versão 4.3.1 (R Core Team, 22, 2023). Por ser de natureza ordinal, as notas de tolerância ao déficit hídrico e a severidade de HLB foram analisadas pelo teste não-paramétrico Wilcoxon-Mann-Whitney, utilizando o programa Jamovi. As variáveis de crescimento vegetativo e número de brotos foram correlacionadas ao ângulo entre o tronco de cada planta com o nível do solo utilizando-se o coeficiente de Spearman, independentemente dos tratamentos, a fim de determinar a relação entre esses atributos.

4. RESULTADOS

4.1. Dados meteorológicos

No período de março de 2016 a julho de 2025, a precipitação anual média foi de 1171,85 mm e as temperaturas médias máximas e mínimas foram de 30,18 °C e 17,56 °C, respectivamente (Figura 1). Em todos os anos, nos meses de junho, julho e agosto, a precipitação média mensal ficou abaixo de 60 mm, indicando déficit hídrico acentuado para citros.

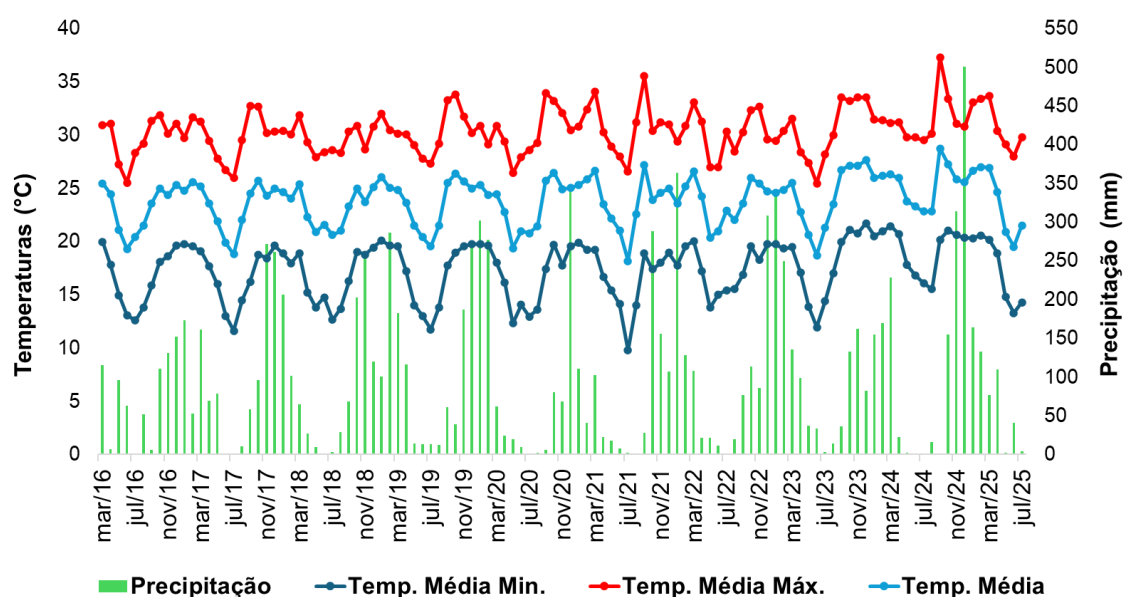


Figura 1. Médias mensais de temperatura do ar (máxima, mínima e média) e de precipitação pluviométrica na área experimental obtidas entre março de 2016 e julho de 2025 na área experimental em Bebedouro, SP, Brasil. Estação meteorológica automatizada Campbell CR-10.

4.2. Crescimento vegetativo

As plantas do sistema convencional (controle), após nove anos de plantio, atingiram a maior altura média (2,92 m), assim como diâmetro (2,98 m) e volume de copa (13,74 m³). Já o sistema de plantio Bouché-Thomas induziu plantas menores, com altura, diâmetro e volume médios de copa de 2,46 m, 2,33 m e 7,83 m³, respectivamente, apresentando uma redução de volume de copa de 43% em relação ao sistema convencional. Não houve diferença estatística nas variáveis de tamanho de planta entre as alturas 45 cm e 90 cm (Tabela 2).

Tabela 2. Altura, diâmetro e volume de copa de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada em tangerineira ‘Sunki’ em dois sistemas de plantio e duas alturas da muda depois de nove anos de plantio. Bebedouro - SP, 2025.

Ângulo	Altura (m)	Diâmetro (m)	Volume (m ³)
Controle (90°)	2,92 a	2,98 a	13,74 a
Bouché-Thomas (30°)	2,46 b	2,33 b	7,83 b
p-valor	< 0,0001	0,0006	< 0,0001
Altura da muda			
45 cm	2,72 a	2,69 a	11,29 a
90 cm	2,66 a	2,63 a	10,28 a
p-valor	0,2333	0,6949	0,0986
Ângulo x Altura	3,85 ns	0,08 ns	0,18 ns
p-valor	0,0735	0,7881	0,6803
CV %	4,24	11,93	11,63

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

As análises de correlação revelaram associação positiva entre os ângulos dos troncos e as variáveis de crescimento vegetativo, indicando que o aumento do ângulo está relacionado a um maior crescimento das plantas. Porém, houve correlação inversa entre o ângulo do tronco e o número de brotos ladrões, indicando aumento do número de brotos em função dos menores ângulos em plantas do tratamento BT (Figura 2). Enquanto os tratamentos controle sempre apresentaram troncos com ângulos próximos de 90°, as mudas com 45 cm e 90 cm em BT apresentaram, respectivamente, 57° e 33° de ângulo médio e 3,40 e 8,60 brotos ladrões.

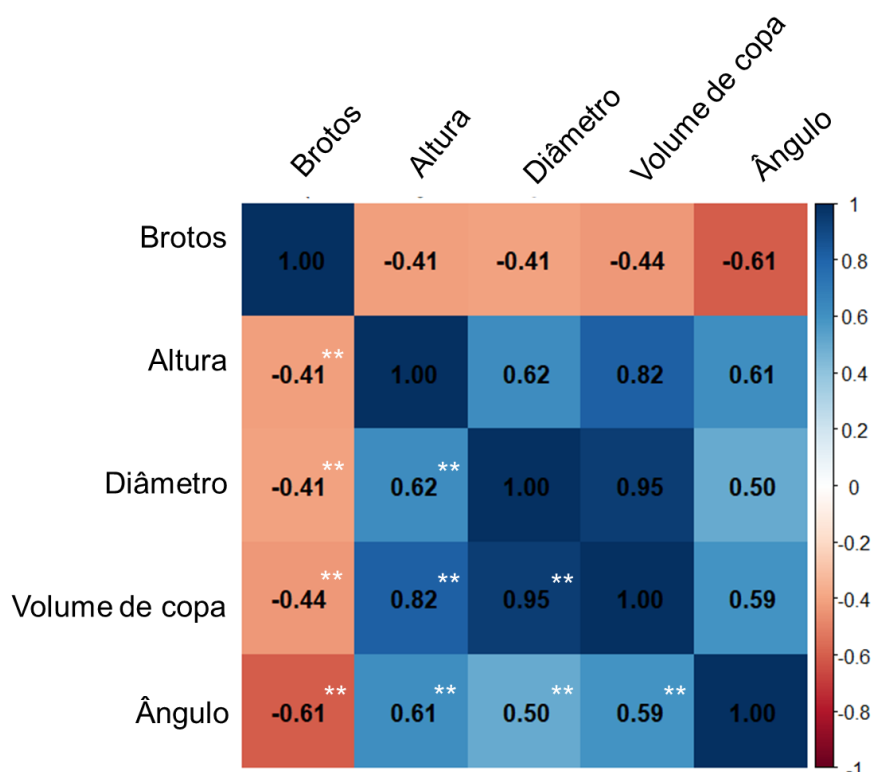


Figura 2. Coeficiente de Correlação de Spearman de brotos do tronco, ângulo do tronco, altura da planta, diâmetro médio de copa e volume de copa de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada em tangerineira ‘Sunki’ em dois sistemas de plantio e duas alturas do tronco em Bebedouro-SP, **: $p < 0,0001$

4.3. Produção, eficiência produtiva e índice de alternância de safra

As plantas do sistema de plantio convencional (controle) foram as que apresentaram as maiores produções nos anos de 2019, 2020, 2022, 2024 e 2025 (Tabela 3). Em 2019, a maior produção foi encontrada para o sistema de plantio convencional, com 21,97 kg/planta. Embora tenha mantido as maiores produções, observou-se uma oscilação, com 9,81 kg em 2020, um pico de 46,58 kg em 2022, seguido por uma queda para 13,52 kg em 2024 e nova elevação para 33,57 kg no ciclo 2024/2025, refletindo as condições climáticas em cada safra. Em contrapartida, o sistema de Bouché-Thomas foi o que proporcionou as menores produções, com a menor produção sendo encontrada no ano de 2020 com 7,59 kg/planta. Apenas no ano de 2023 não houve diferença na produção entre os dois sistemas ($p=0,2311$). Para o fator altura da muda, apenas nos anos de 2019 e 2025 houve diferença entre a produção.

Para a produção média ao longo dos anos, o sistema de plantio convencional foi o que proporcionou maior média, com 29,46 kg/planta, e maior produção acumulada, com 176,80 kg/planta, diferindo do sistema de plantio Bouché-Thomas, que proporcionou menor média de produção, com 20,67 kg/planta, e produção acumulada, com 123,94 kg/planta. Para o fator altura da muda, não houve diferença entre as alturas de 45 cm e 90 cm. Com relação ao índice de alternância de safra, não foram encontradas diferenças entre os sistemas de plantio e as alturas das mudas, que obtiveram valores entre 0,47 e 0,53. Já para a precocidade de produção, houve diferença tanto para o fator ângulo como para o fator altura. O sistema convencional apresentou maior precocidade de produção, com 17,99 % nas primeiras duas safras e o sistema de Bouché-Thomas com 12,78 %. Para as alturas, 90 cm obteve maior precocidade, com 17,91%, e a de 45 cm a menor, com 12,85%. Isso evidencia que o sistema convencional de plantio associado à altura de 90 cm pode apresentar produção mais precoce do que os demais tratamentos.

Tabela 3. Produção média e acumulada ao longo dos anos, índice de alternância e precocidade de produção de laranjeira-doce 'Pera' enxertada em tangerineira 'Sunki' em dois sistemas de plantio e duas alturas da muda nos anos de 2019, 2020, 2022, 2023, 2024 e 2025, em Bebedouro – SP.

Ângulo	Produção (kg/ planta)						Média	Acumulada	Índice de alternância	Precocidade de produção (%)
	2019	2020	2022	2023	2024	2025				
Controle (90°)	21,97 a	9,81 a	46,58 a	51,34 a	13,52 a	33,57 a	29,46 a	176,80 a	0,53 a	17,99 a
Bouché-Thomas (30°)	8,40 b	7,59 b	36,18 b	46,24 a	9,63 b	15,91 b	20,67 b	123,94 b	0,47 a	12,78 b
p-valor	< 0,0001	0,0364	0,0058	0,2311	0,0451	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,2267	0,0011
Altura										
45 cm	11,66 b	8,31 a	41,66 a	49,39 a	12,10 a	27,84 a	25,16 a	150,96 a	0,49 a	12,85 b
90 cm	18,70 a	9,10 a	41,11 a	48,19 a	11,05 a	21,63 b	24,96 a	149,78 a	0,50 a	17,91 a
p-valor	0,0038	0,4220	0,8624	0,7726	0,5550	0,0281	0,8764	0,8754	0,8406	0,0014
Ângulo x Altura	1,06 ns	0,45 ns	0,60 ns	0,00 ns	0,26 ns	0,70 ns	0,14 ns	0,14 ns	0,17 ns	1,29 ns
p-valor	0,3240	0,5166	0,4529	0,9894	0,6220	0,4207	0,7138	0,7141	0,6883	0,2784
CV %	28,97	24,25	16,79	18,56	33,55	22,48	10,95	10,95	21,85	17,84

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

Em 2019, o sistema de plantio que apresentou a maior eficiência produtiva foi o sistema convencional (controle), com 6,11 kg/m³, enquanto o sistema de Bouché-Thomas apresentou a menor, com 3,88 kg/m³ (Tabela 4). Já nos anos de 2020, 2022, 2023 e 2024, as maiores eficiências produtivas foram encontradas para o sistema de Bouché-Thomas. Para o fator altura da muda, houve diferença apenas no ano de 2019, com a altura de 90 cm apresentando maior eficiência, com 6,04 kg/m³, e a altura de 45 cm, a menor eficiência, com 3,95 kg/m³.

Tabela 4. Eficiência produtiva de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada em tangerineira ‘Sunki’ em dois sistemas de plantio e duas alturas de mudas no período de 2019, 2020, 2022, 2023, 2024 e 2025, em Bebedouro – SP.

Ângulo	Eficiência produtiva (kg/m ³ de planta)						
	2019	2020	2022	2023	2024	2025	Média
Controle (90°)	6,11 a	1,97 b	5,54 b	7,71 b	1,24 b	2,59 a	4,19 a
Bouché-Thomas (30°)	3,88 b	2,48 a	6,49 a	11,22 a	1,86 a	2,42 a	4,73 a
p-valor	0,0033	0,0293	0,0414	0,0061	0,0492	0,6280	0,0538
Altura							
45 cm	3,95 b	2,13 a	5,69 a	9,54 a	1,48 a	2,47 a	4,21 a
90 cm	6,04 a	2,32 a	6,34 a	9,39 a	1,62 a	2,55 a	4,71 a
p-valor	0,0052	0,3881	0,1412	0,8965	0,614	0,8171	0,0675
Ângulo x Altura	0,03 ns	0,03 ns	3,70 ns	1,83 ns	0,51 ns	1,58 ns	0,06 ns
p-valor	0,8754	0,8608	0,7860	0,2010	0,4883	0,2333	0,9560
CV %	27,39	20,74	15,40	25,06	41,00	29,41	12,50

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

4.4. Qualidade dos frutos

A acidez, o índice de maturação (*ratio*), o rendimento do suco e o índice tecnológico não diferiram em termos médios entre os ângulos controle e Bouché-Thomas, nem entre as alturas das mudas 45 cm e 90 cm (Tabela 5). Já para massa, diâmetro e comprimento do fruto, foi observado que as plantas do sistema de plantio Bouché-Thomas proporcionou as maiores médias, favorecendo a produção de frutos

maiores e mais pesados, com 175,93 g, 6,79 cm e 7,42 cm, respectivamente, diferindo do controle, que induziu frutos menores e com menor peso, com 164,70 g, 6,63 cm e 7,23 cm. Foram observadas também diferenças entre os ângulos para o teor de sólidos solúveis, com o sistema convencional (controle) apresentando frutos com maior teor (12,33 °Brix), enquanto o sistema de Bouché-Thomas apresentou valor estatisticamente menor, embora muito próximo (12,01 °Brix). Para a altura da muda, foi observada diferença significativa apenas para a variável massa do fruto, com a altura de 90 cm, apresentando a maior média (174,98 g), enquanto a de 45 cm apresentou a menor (167,62 g). Para o diâmetro e comprimento do fruto, assim como o teor de sólidos solúveis (°Brix), não houve diferença entre as alturas. Para a variável comprimento do fruto, foi observada interação significativa e o desdobramento da interação pode ser observado na Tabela 6. O controle apresentou diferença significativa entre as alturas de 45 cm (7,18 cm) e 90 cm (7,27 cm), evidenciando que a variável foi superior na maior altura da muda. Já no sistema Bouché-Thomas, não se observou diferença significativa entre as alturas (7,46 cm e 7,38 cm, respectivamente). Comparando o comprimento do fruto entre os ângulos para cada altura, na de 45 cm o Bouché-Thomas apresentou valor significativamente superior ao controle. Contudo, na altura de 90 cm, não houve diferença significativa entre os ângulos.

Tabela 5. Massa, diâmetro e comprimento do fruto, sólidos solúveis totais (°Brix), acidez, índice de maturação (ratio), rendimento do suco e índice tecnológico de laranja-doce ‘Pera’ enxertada em tangerineira ‘Sunki’ em dois sistemas de plantio e duas alturas de muda em termos médios no período de 2019 a 2024, em Bebedouro – SP.

Ângulo	Massa (g)	Diâmetro (cm)	Comprimento (cm)	Sólidos solúveis (°Brix)	Acidez (%)	Ratio	Rendimento (%)	Índice Tecnológico (kg SS/cx)
Controle (90°)	164,70 b	6,63 b	7,23 b	12,33 a	0,88 a	14,30 a	45,25 a	2,20 a
Bouché-Thomas (30°)	175,93 a	6,79 a	7,42 a	12,01 b	0,85 a	14,53 a	45,83 a	2,20 a
p-valor	0,0012	0,0020	0,0003	0,0139	0,3038	0,6800	0,4270	1,0000
Altura								
45 cm	167,62 b	6,69 a	7,32 a	12,29 a	0,87 a	14,27 a	44,83 a	2,19 a
90 cm	174,98 a	6,73 a	7,33 a	12,06 a	0,85 a	14,55 a	46,25 a	2,21 a
p-valor	0,1126	0,3461	0,8964	0,0668	0,3395	0,6234	0,0636	0,4772
Ângulo x Altura	4,72 ns	1,80 ns	4,87 *	2,95 ns	0,00 ns	0,00 ns	2,45 ns	1,78 ns
p-valor	0,0507	0,2044	0,0475	0,1117	0,9689	0,9668	0,1434	0,2069
CV %	3,52	1,29	1,14	2,09	6,52	8,41	3,43	3,05

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Interação entre os fatores Ângulo e Altura para a variável comprimento do fruto (cm)

Ângulo	Altura	
	45 cm	90 cm
Controle (90°)	7,18 bA	7,27 aA
Bouché-Thomas (30°)	7,46 aA	7,38 aA

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

4.5. Tolerância ao déficit hídrico

Em 2020, houve diferença entre os ângulos para a tolerância à deficiência hídrica, com as plantas do sistema de Bouché-Thomas apresentando a maior nota (2,17), e o sistema convencional (controle) a menor nota (1,98). Para os anos de 2022, 2023 e 2024, não foi observada diferença entre os ângulos, embora sempre BT tenha sido ligeiramente superior. Não foi observada diferença nos anos avaliados para as alturas das mudas 45 cm e 90 cm. O sistema de Bouché-Thomas foi o que apresentou as maiores notas médias de tolerância ao déficit hídrico, com 2,17, diferindo estatisticamente do sistema convencional, que apresentou média 2,00. Entre as alturas, não houve diferenças (Tabela 7).

Tabela 7. Notas visuais médias de tolerância ao déficit hídrico de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada sobre tangerineira ‘Sunki’ em dois sistemas de plantio e duas alturas de mudas nos anos de 2020, 2022, 2023 e 2024 em Bebedouro – SP.

Ângulo	Tolerância ao déficit hídrico				
	2020	2021	2023	2024	Média
Controle (90°)	1,98 b	2,10 a	2,07 a	1,83 a	2,00 b
Bouché-Thomas (30°)	2,37 a	2,21 a	2,10 a	1,98 a	2,17 a
p-valor	< 0,0001	0,3980	0,7280	0,1580	0,0170
Altura					
45 cm	2,08 a	2,17 a	2,07 a	1,94 a	2,06 a
90 cm	2,27 a	2,15 a	2,11 a	1,88 a	2,10 a
p-valor	0,2710	0,9690	0,8770	0,8190	0,0170
Ângulo x Altura	2,52 ns	0,83 ns	3,43 ns	0,08 ns	0,16 ns
p-valor	0,1383	0,3803	0,0887	0,7831	0,6962
CV %	8,75	11,04	10,17	16,63	6,71

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste não-paramétrico Wilcoxon-Mann-Whitney a 5% de probabilidade.

*Nota 1: menor tolerância ao déficit hídrico, nota 2: tolerância intermediária ao déficit hídrico, nota 3: maior tolerância ao déficit hídrico com base visual no enrolamento do limbo foliar da planta e grau de desfolha.

4.6. Incidência e severidade do HLB, incidência de gomose e mortalidade de plantas

Em 2025, todas as plantas vivas de todos os tratamentos apresentaram algum sintoma visual de HLB, seja mosqueado das folhas, amarelecimento ou queda prematura e deformidade nos frutos. Para a severidade de HLB, não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos, que apresentaram notas médias que variaram de 3,23 a 3,42. Quanto à gomose, observaram-se as maiores porcentagens de plantas doentes no sistema de Bouché-Thomas, com 10,80% de incidência, e para a altura de 90 cm, com 10,90%. Já para a mortalidade de plantas, o sistema de plantio Bouché-Thomas com mudas de 90 cm apresentou o maior percentual, com 7,50%, enquanto a altura de 45 cm apresentou 5,00%. Não houve morte de plantas para o sistema convencional nas duas alturas (Tabela 8).

Tabela 8. Incidência anual e nota de severidade de HLB, porcentagem de plantas com gomose e mortalidade de plantas de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada em tangerineira ‘Sunki’ em dois sistemas de plantio e duas alturas de muda em Bebedouro – SP, 2025.

Ângulo	Incidência anual (%)				Nota de Severidade 2025	Gomose (%)	Mortalidade (%)
	2022	2023	2024	2025			
Controle (90°)	1,00 a	23,00 b	81,00 a	100,00	3,24 a	6,00 a	0,00
Bouché-Thomas (30°)	17,39 a	48,75 a	77,50 a	100,00	3,41 a	10,80 a	7,50
p-valor	0,101	0,016	0,644	–	0,4209	0,852	–
Altura							
45 cm	9,00 a	31,30 a	71,30 a	100,00	3,23 a	5,90 a	5,00
90 cm	9,39 a	40,50 a	87,30 a	100,00	3,42 a	10,90 a	2,50
p-valor	0,728	0,490	0,090	–	0,3648	0,456	–
Ângulo x Altura	0,03 ns	2,00 ns	1,84 ns	–	0,73 ns	–	–
p-valor	0,8691	0,1826	0,1997	–	0,4103	0,4664	–
CV	–	–	–	–	13,62	–	–

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste não-paramétrico Wilcoxon-Mann-Whitney a 5% de probabilidade.

*Nota 0 = 0% de severidade no quadrante, nota 1 = 1% a 20% de severidade no quadrante, nota 2 = 21% a 40% de severidade no quadrante, nota 3 = 41% a 60% de severidade no quadrante, nota 4 = 61% a 80% de severidade no quadrante e nota 5 = 81% a 100% de severidade no quadrante conforme Cifuentes-Arenas et al. (2022).

4.7. Dinâmica de brotação

A intensidade de brotação (área abaixo da curva) monitorada em plantas inicialmente assintomáticas, no período de 28 de fevereiro a 17 de julho de 2024, não apresentou diferença entre os ângulos nem entre as alturas, indicando que a intensidade de brotação se comportou de maneira similar entre os tratamentos (Tabela 9 e Figura 3). Porém, a partir do período em que foram monitoradas plantas assintomáticas e plantas sintomáticas para o HLB, foram observadas diferenças entre os ângulos e entre as alturas (Tabela 10 e Figuras 4 e 5).

Tabela 9. Intensidade de brotação (AACB) em plantas assintomáticas, tomada em área de 0,50 m² de copa de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada em tangerineira ‘Sunki’ no período de 28 de fevereiro a 17 de julho de 2024, e submetidas a diferentes sistemas de plantio e alturas de muda. Bebedouro – SP.

Ângulo	Área abaixo da curva de brotação (AACB)
Controle (90°)	39,58 a
BT (30°)	36,09 a
p-valor	0,9642
Altura	
45 cm	43,85 a
90 cm	31,82 a
p-valor	0,2681
Ângulo x Altura	0,02 ns
p-valor	0,9022
CV %	44,15

Médias seguidas de letra iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

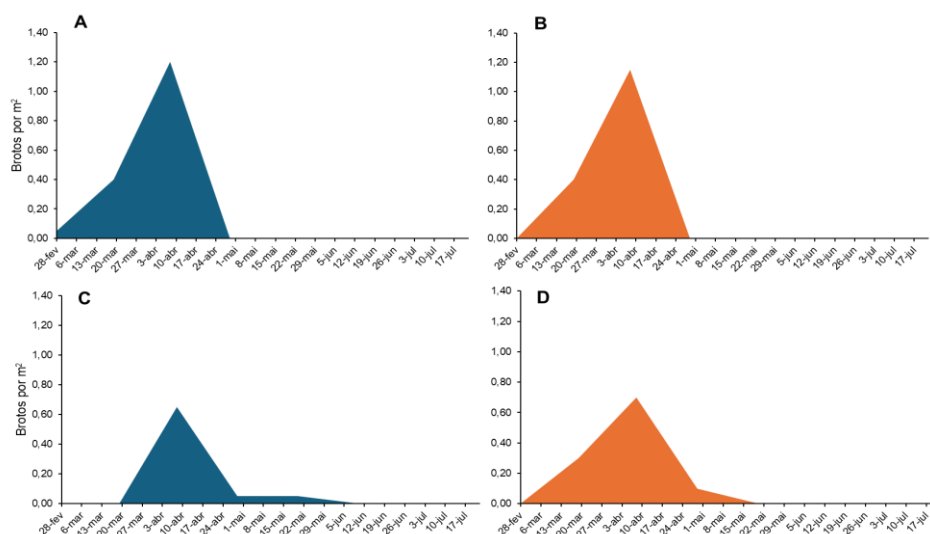


Figura 3. Intensidade de ocorrência de brotos no dossel de plantas de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada sobre tangerineira ‘Sunki’ assintomáticas para os tratamentos controle na altura de 45 cm (A); Bouché-Thomas na altura de 45 cm (B); controle na altura de 90 cm (C) e Bouché-Thomas na altura de 90 cm (D), no período de 28 de fevereiro a 17 de julho de 2024, em Bebedouro – SP.

No período de 15 de agosto de 2024 a 9 de janeiro de 2025, o Sistema de plantio Bouché-Thomas foi o que apresentou intensidade de brotação maior, com a média da soma das áreas totais apresentando o valor de 1849,59, diferindo do sistema convencional (controle), com valor de 1381,38. Para as alturas das mudas, a intensidade de brotação foi maior na altura de 45 cm (1908,69), enquanto a altura de 90 cm apresentou 1320,31. Para o fator HLB, que compara a intensidade de brotação de plantas assintomáticas e sintomáticas, não houve diferença significativa.

Tabela 10. Intensidade de brotação (AACB) em plantas assintomáticas e sintomáticas de HLB em área de 0,50 m² de copa de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada sobre tangerineira ‘Sunki’ no período de 15 de agosto de 2024 a 9 de janeiro de 2025, e submetidas a diferentes sistemas de plantio e alturas de muda. Bebedouro – SP.

Ângulo	Área abaixo da curva de brotação (AACB)	p-valor
Controle (90°)	1381,38 b	0,0199
Bouché-Thomas (30°)	1849,59 a	
Altura		0,0027
45 cm	1908,69 a	
90 cm	1320,31 b	
HLB		0,1114
Assintomática	1472,85 a	
Sintomática	1770,68 a	
Ângulo x Altura	0,20 ns	0,6517
Ângulo x HLB	0,00 ns	0,9769
Altura x HLB	1,21 ns	0,2757
Ângulo x Altura x HLB	2,84 ns	0,0976
CV %	43,85	

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

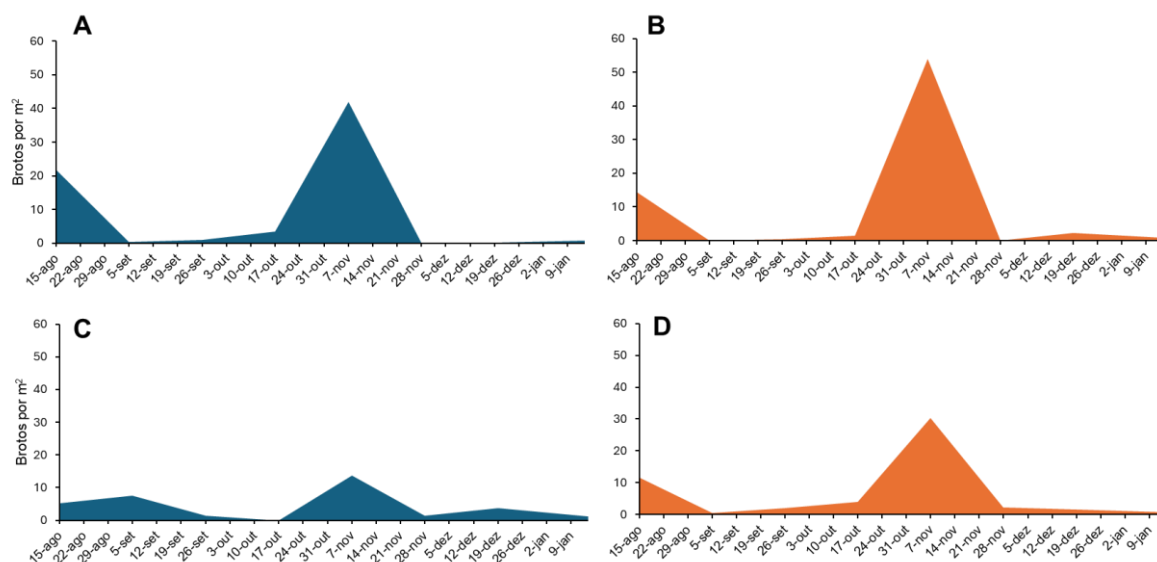


Figura 4. Intensidade de ocorrência de brotos no dossel de plantas de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada sobre tangerineira ‘Sunki’ infectadas e assintomáticas para o HLB (*Candidatus Liberibacter asiaticus*), para os tratamentos controle na altura de 45 cm (A); Bouché-Thomas na altura de 45 cm (B); controle na altura de 90 cm (C) e Bouché-Thomas na altura de 90 cm (D), no período de 15 de agosto de 2024 a 9 de janeiro de 2025, em Bebedouro – SP.

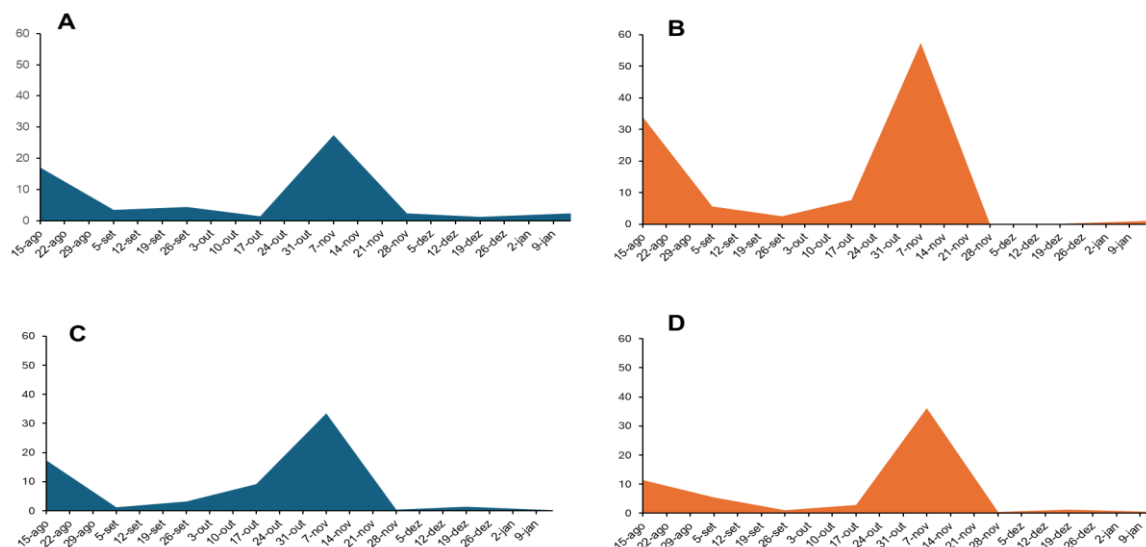


Figura 5. Intensidade de ocorrência de brotos no dossel de plantas de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada sobre tangerineira ‘Sunki’ infectadas e sintomáticas para o HLB (*Candidatus Liberibacter asiaticus*), para os tratamentos controle na altura de 45 cm (A); Bouché-Thomas na altura de 45 cm (B); controle na altura de 90 cm (C) e Bouché-Thomas na altura de 90 cm (D), no período de 15 de agosto de 2024 a 9 de janeiro de 2025, em Bebedouro – SP.

4.8. Concentração de nutrientes em folhas

Em relação a concentração de nutrientes nas folhas, não houve diferença significativa na concentração dos macros e micronutrientes analisados para os ângulos de plantio em duas safras avaliadas (dados médios apresentados). Já para as alturas de muda, apenas o cobre apresentou diferença significativa, com a altura de 90 cm apresentando $9,95 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ e a altura de 45 cm, $8,35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Tabela 11). De modo geral, a maioria dos nutrientes apresentaram teores considerados baixos para a cultura, com exceção do nitrogênio, fósforo, potássio, magnésio, cobre e ferro, que apresentaram teores considerados adequados (Mattos Junior et al., 2014).

Tabela 11. Concentração de macro e micronutrientes em folhas de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada em tangerineira ‘Sunki’ em dois sistemas de plantio e duas alturas de muda em Bebedouro – SP. Médias dos anos de 2024 e 2025.

Ângulo	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	g/Kg ⁻¹					mg/Kg ⁻¹					
Controle (90°)	26,63 a	1,46 a	15,94 a	28,90 a	4,82 a	1,87 a	23,70 a	9,35 a	83,70 a	23,10 a	15,90 a
Bouché-Thomas (30°)	25,85 a	1,47 a	16,85 a	26,82 a	4,27 a	1,88 a	23,75 a	8,95 a	76,60 a	21,00 a	15,20 a
p-valor	0,3964	0,0971	0,2901	0,0871	0,0611	0,7170	0,9776	0,5856	0,2546	0,1121	0,5456
Altura											
45 cm	26,13 a	1,43 a	16,38 a	28,45 a	4,54 a	1,85 a	24,60 a	8,35 b	77,10 a	22,10 a	14,55 a
90 cm	26,35 a	1,44 a	16,40 a	26,82 a	4,55 a	1,90 a	22,85 a	9,95 a	83,20 a	22,00 a	16,55 a
p-valor	0,8083	0,9071	0,9810	0,3114	0,9706	0,4034	0,3361	0,0447	0,3242	0,9363	0,1009
Ângulo x Altura	0,07 ns	0,00 ns	1,28 ns	1,44 ns	0,56 ns	0,29 ns	0,10 ns	0,18 ns	1,51 ns	0,54 ns	1,55 ns
p-valor	0,7913	0,9535	0,2801	0,2533	0,4669	0,6016	0,7582	0,6817	0,2422	0,4765	0,2373
CV %	7,56	5,23	11,22	8,96	13,11	5,78	16,46	17,45	16,55	12,42	16,18

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

4.9. Velocidade do fluxo de seiva

A velocidade de fluxo de seiva foi, em média, 19% maior nas plantas do sistema convencional em comparação às plantas do BT, com picos acentuados durante a noite e aumento gradual no período diurno (Figura 6A). O fluxo de seiva apresentou padrão diário característico, com valores reduzidos no período noturno, aumento gradual pela manhã e pico máximo às 12h, considerando-se que havia umidade no solo durante o período de avaliação. Em média, o fluxo de seiva foi 77% superior nas plantas do sistema convencional quando comparadas às plantas do BT (Figura 6B).

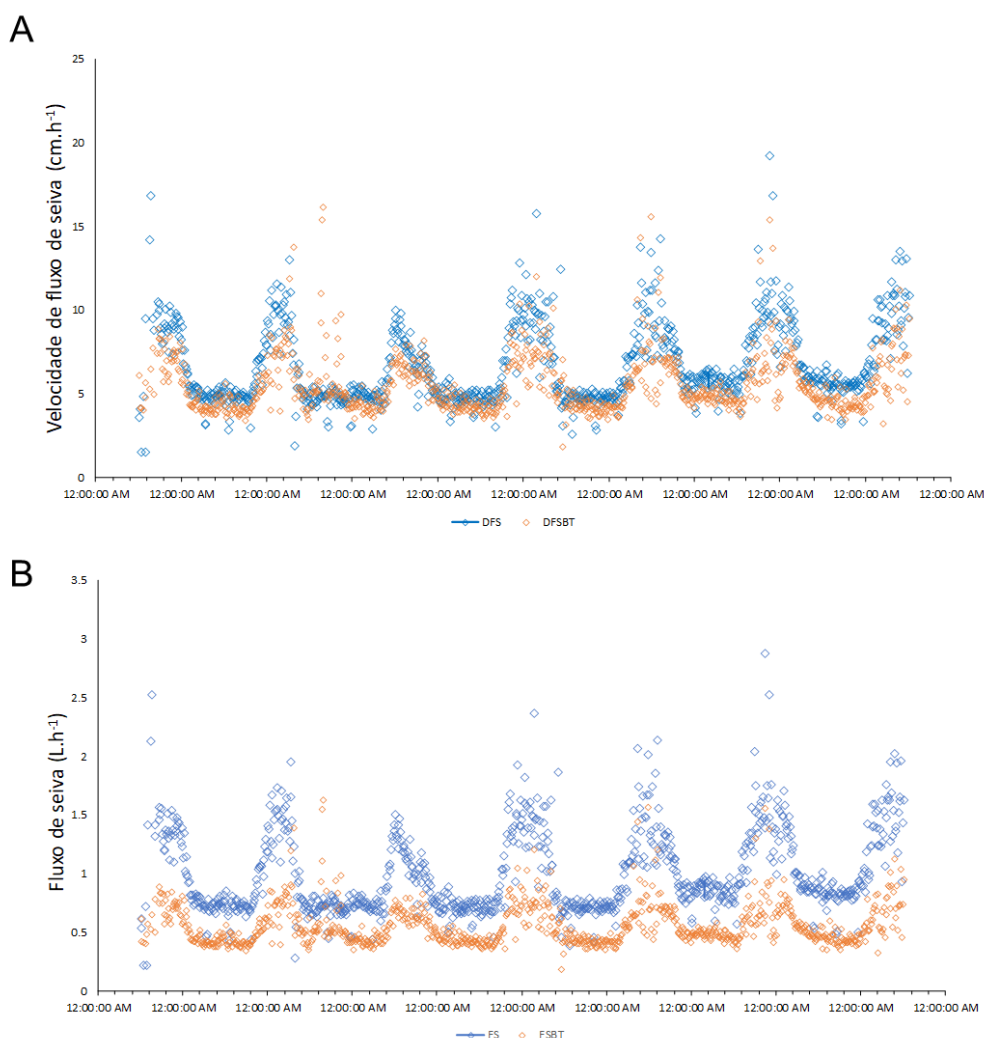


Figura 6. Velocidade de fluxo de seiva (A) e fluxo de seiva (B) pelo método de pulso de calor em plantas de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada em tangerineira ‘Sunki’ em ângulo de 90°(controle) e ângulo de 30° (Bouché-Thomas) na altura de 90 cm da

pernada, no período de 24 de outubro a 01 de novembro de 2024 em Bebedouro – SP.

4.10. Condutividade hidráulica de mudas de tangerineira ‘Sunki’

Com o aumento da pressão exercida sobre o sistema radicular, foi possível observar um aumento na quantidade de água exsudada pelo corte (Figura 7), porém, de forma diferente entre os tratamentos. Notavelmente, o tratamento em ângulo de 90° (controle) apresentou maior condutividade hidráulica das raízes, sendo possível observar a exsudação de água a partir da pressão 0,3 MPa, diferente do tratamento em ângulo de 30° (Bouché-Thomas), que apresentou menor condutância, com exsudação de água a partir da pressão 0,4 MPa. Não houve diferença na condutividade hidráulica entre os tratamentos até a pressão 0,3 MPa, sendo que para ambos os tratamentos, não houve exsudação de água pelo corte nas pressões 0,1 e 0,2 MPa (Tabela 12). Entretanto, a partir da pressão 0,4 MPa, o tratamento em ângulo de 90° apresentou maior exsudação de água ($0,0050 \text{ kg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}$), diferindo do tratamento em ângulo de 30° (Bouché-Thomas), que apresentou valor de $0,0020 \text{ kg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}$. O controle permaneceu superior nas pressões seguintes, diferindo significativamente do Bouché-Thomas até a última pressão (0,7 MPa), apresentando 0,0195 e $0,0146 \text{ kg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{MPa}^{-1}$, respectivamente.

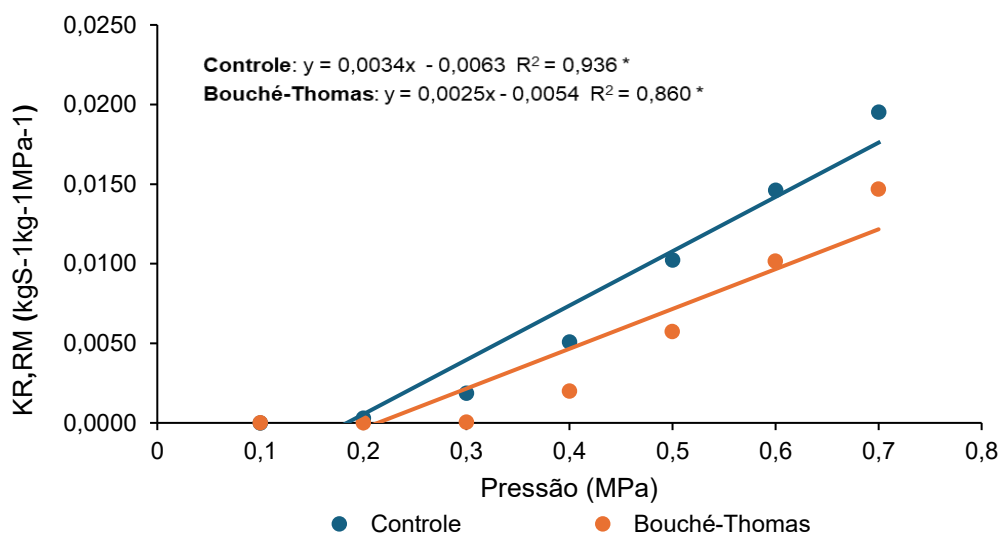


Figura 7. Condutividade hidráulica do sistema radicular normalizada pela massa seca de raiz ($K_{R,RM}$) de mudas de tangerineira ‘Sunki’ conduzidas em ângulo de 90°(controle) e de 30° (Bouché-Thomas) e submetidas a diferentes pressões. N = 20.

Tabela 12. Condutividade hidráulica da raiz ($K_{R,RM}$, $\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$), em mudas de tangerineira ‘Sunki’ conduzidas em ângulo de 90°(controle) e de 30° (Bouché-Thomas) e submetidas a diferentes pressões.

Tratamentos	Pressão (MPa)						
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7
Controle (90°)	0,0000	a 0,0000	a 0,0018	a 0,0050	a 0,0102	a 0,0146	a 0,0195
Bouché-Thomas (30°)	0,0000	a 0,0000	a 0,0000	a 0,0020	b 0,0057	b 0,0101	b 0,0146

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste T de student a 5% de probabilidade.

As mudas apresentaram inicialmente valores médios de altura (28,64 cm), diâmetro do caule (2,81 cm), número de folhas (33), área foliar (4,56 cm^2) e massa seca da raiz (0,631g) antes da inclinação. Os resultados das características biométricas das mudas após seis meses de inclinação, assim como as massas secas das raízes, caule e folhas, além da área foliar, podem ser encontrados na Tabela 13. O tratamento controle diferiu significativamente do tratamento de Bouché-Thomas, apresentando as maiores médias para todas as variáveis analisadas nas mudas após a condução dos tratamentos. Apenas 6 meses antes dos tratamentos, as plantas eram uniformes, apresentando os seguintes valores médios: altura de 28,64 cm, diâmetro

do caule de 2,81 mm, número de folhas 34, área foliar de 4,56 cm² e massa seca de raiz de 0,631g.

Tabela 13. Altura, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar e diâmetro do corte de mudas de tangerineira 'Sunki' conduzidas em ângulo de 90°(controle) e de 30° (Bouché-Thomas), imediatamente antes de serem submetidas à câmara de pressão, e massa seca da raiz, caule e folhas das mudas depois de serem submetidas à câmara de pressão.

Tratamentos	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Número de folhas	Diâmetro do corte (mm)	Massa seca da raiz (g)	Massa seca do caule (g)	Massa seca da folha (g)	Área foliar (cm ²)
Controle (90°)	52,2 a	4,93 a	41,00 a	3,78 a	2,42 a	2,69 a	2,73 a	6,29 a
Bouché-Thomas (30°)	41,8 b	3,94 b	35,00 b	2,60 b	1,85 b	1,46 b	2,21 b	5,51 b
p-valor	< 0,001	< 0,0001	0,0036	< 0,0001	0,0004	< 0,0001	0,0017	0,0088
CV%	12,04	7,61	15,98	11,96	21,86	23,29	19,55	14,95

Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

4.11. Concentração de hormônios vegetais

Na análise comparativa da concentração dos fitormônios nos tratamentos controle e Bouché-Thomas, foi observado diferença na concentração de GA₃ (Figura 8A), para a qual o tratamento de Bouché-Thomas foi maior em comparação ao controle. Além disso, também foi observado maior concentração de isopenteniladenina (iP) (Figura 8C), sendo significativamente maior no tratamento controle em relação ao sistema Bouché-Thomas. Para os demais hormônios avaliados, não foram observadas diferenças significativas, indicando concentrações semelhantes entre os tratamentos.

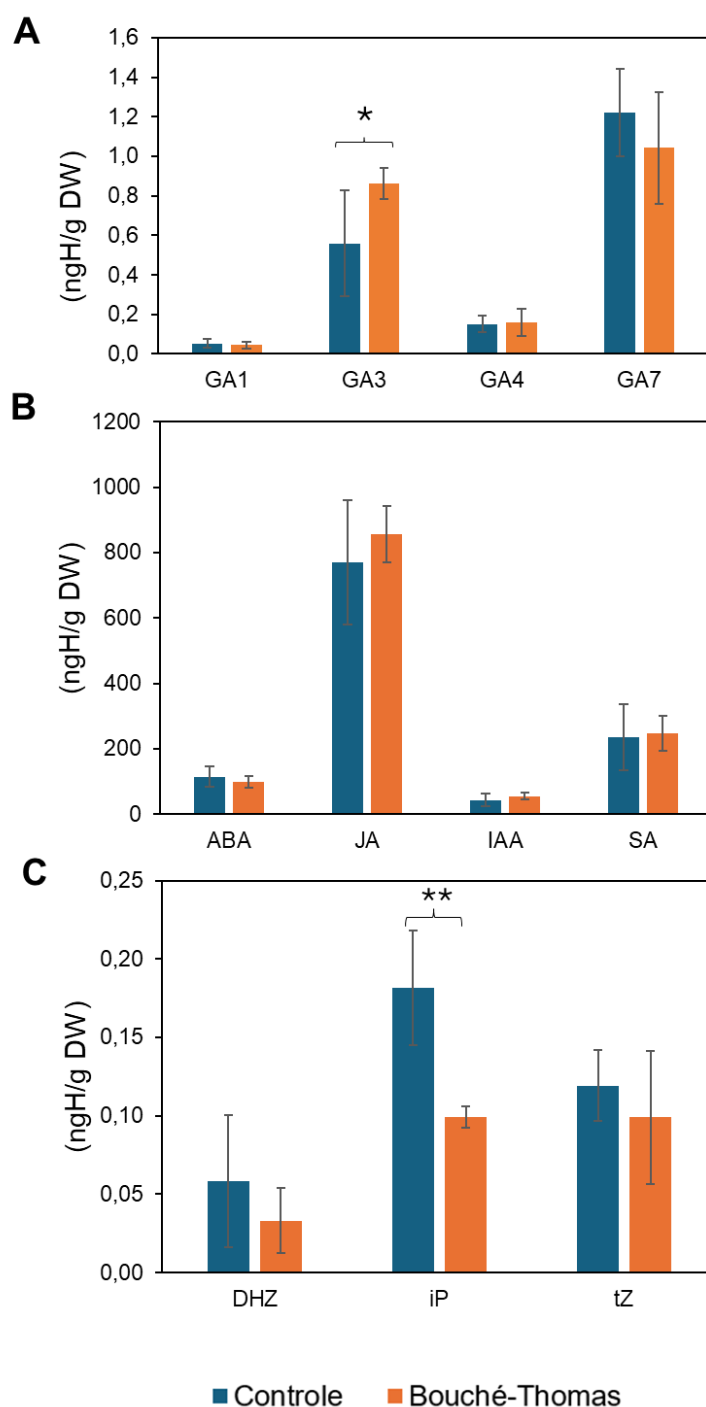


Figura 8. Concentrações dos diferentes fitormônios. Giberelinas (A), ácidos abscísico, jasmônico, indolacético e salicílico (B) e Citocininas, di-hidrozeatina (DHZ), isopenteniladenina (iP) e zeatina (tZ) (C) em gemas apicais e laterais de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada sobre tangerineira ‘Sunki’ em dois sistemas de plantio na altura da muda de 90 cm. Diferenças significativas entre os tratamentos foram indicadas por asteriscos (*, **), de acordo com o teste LSD de Fisher, ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). As barras indicam o erro padrão das médias.

4.12. Expressão relativa

Na análise da expressão relativa dos genes associados à biossíntese das giberelinas, no geral, os transcritos apresentaram baixos níveis de expressão para o tecido utilizado, em todos os genes avaliados, com diferença estatística apenas para o *Ent*-caureno oxidase (KO) (Figura 9).

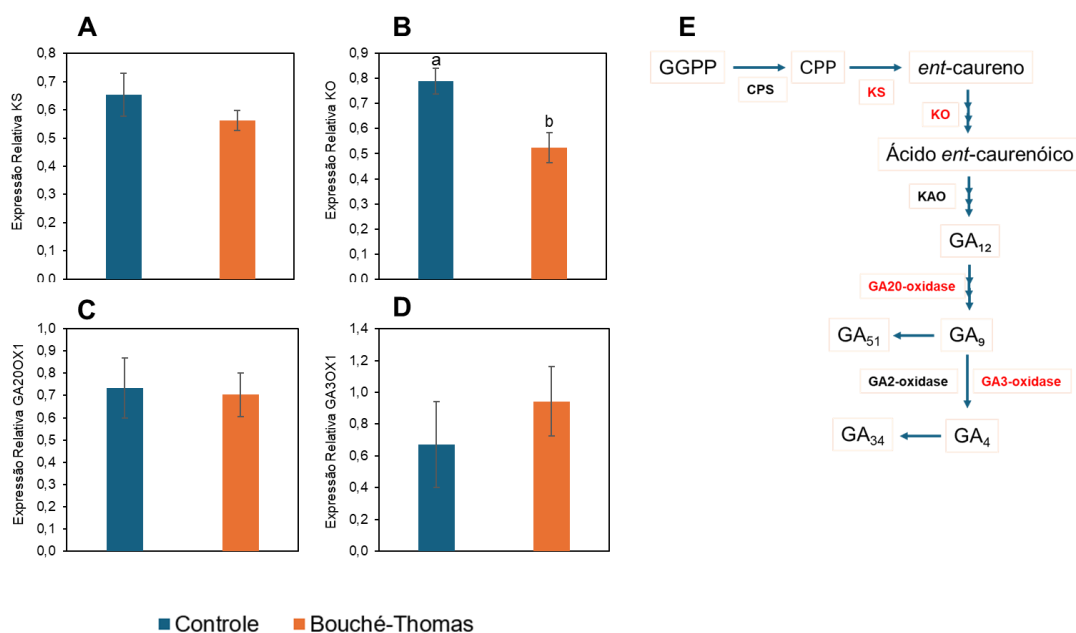


Figura 9. Expressão relativa de genes relacionados a via de biossíntese da giberelina (GAs) em gemas apicais e laterais de laranjeira-doce 'Pera' enxertada sobre tangerineira 'Sunki' em dois sistemas de plantio (Controle e Bouché-Thomas), na altura da muda de 90 cm. Os níveis de expressão foram revelados por RT-qPCR. As barras representam o desvio padrão médio de seis repetições. *Ent*-caureno sintase KS (A), *Ent*-caureno oxidase KO (B), Giberelina 20-oxidase GA20OX1 (C), Giberelina 3-oxidase GA3OX1 (D) e esquema resumido da via de biossíntese da giberelina (E), estando em vermelho as etapas da via de biossíntese que foram avaliadas. Os valores das colunas com letras diferentes são significativamente diferentes pelo teste t para $p < 0,05$.

A via biossintética do ácido abscísico (ABA) teve pouca alteração no sistema Bouché-Thomas em relação ao grupo controle. Os alvos envolvidos na biossíntese de precursores (ZEP) e na formação final do ABA (ABA2, ABA3 e AAO3) não tiveram a expressão de seus genes alterada, enquanto NCED2, envolvido na produção de xantoxina, teve expressão suprimida no tratamento Bouché-Thomas (Figura 10D).

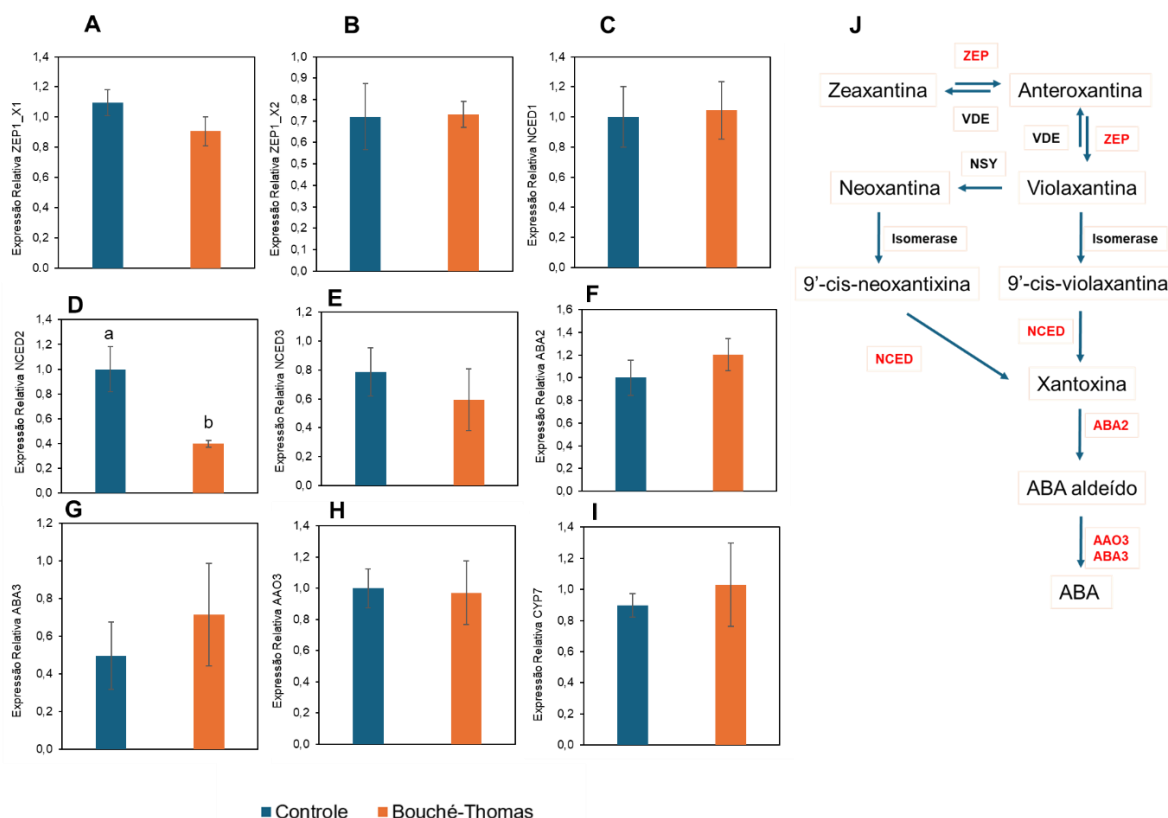


Figura 10. Expressão relativa de genes associados a via de biossíntese do ácido abscísico (ABA) em gemas apicais e laterais de laranjeira-doce 'Pera' enxertada em tangerineira 'Sunki' em dois sistemas de plantio (Controle e Bouché-Thomas), na altura da muda de 90 cm. Os níveis de expressão foram revelados por RT-qPCR. As barras representam os desvios padrão médios de seis repetições. Zeaxantina epoxidase variante X1 (ZEP_X1) (A), Zeaxantina epoxidase variante X2 ZEP_X2 (B), 9-cis-epoxicarotenóide dioxigenase (NCED1) (C), 9-cis-epoxicarotenóide dioxigenase-2 (NCED2) (D), 9-cis-epoxicarotenóide dioxigenase-3 (NCED3) (E), Desidrogenase alcóolica de cadeia curta (ABA2) (F), sulfurase do cofator molibdênio (ABA3) (G), Aldeído abscísico oxidase 3 (AAO3) (H), ABA 8'-hidroxilase (CYP7) (I) e esquema resumido da via de biossíntese do ácido abscísico (J) e em vermelho as etapas da via de biossíntese que foram avaliadas. Os valores das colunas com letras diferentes são significativamente diferentes pelo teste t para $p < 0,05$.

Nos genes envolvidos na via de biossíntese do ácido indolacético (AIA), também não houve diferença de expressão no tratamento de Bouché-Thomas em comparação ao controle. Contudo, é possível verificar uma tendência de supressão da expressão gênica no tratamento de Bouché-Thomas na maioria dos alvos avaliados (TAR, YUCCAs, GH3.10 e GH3.9) (Figura 11).

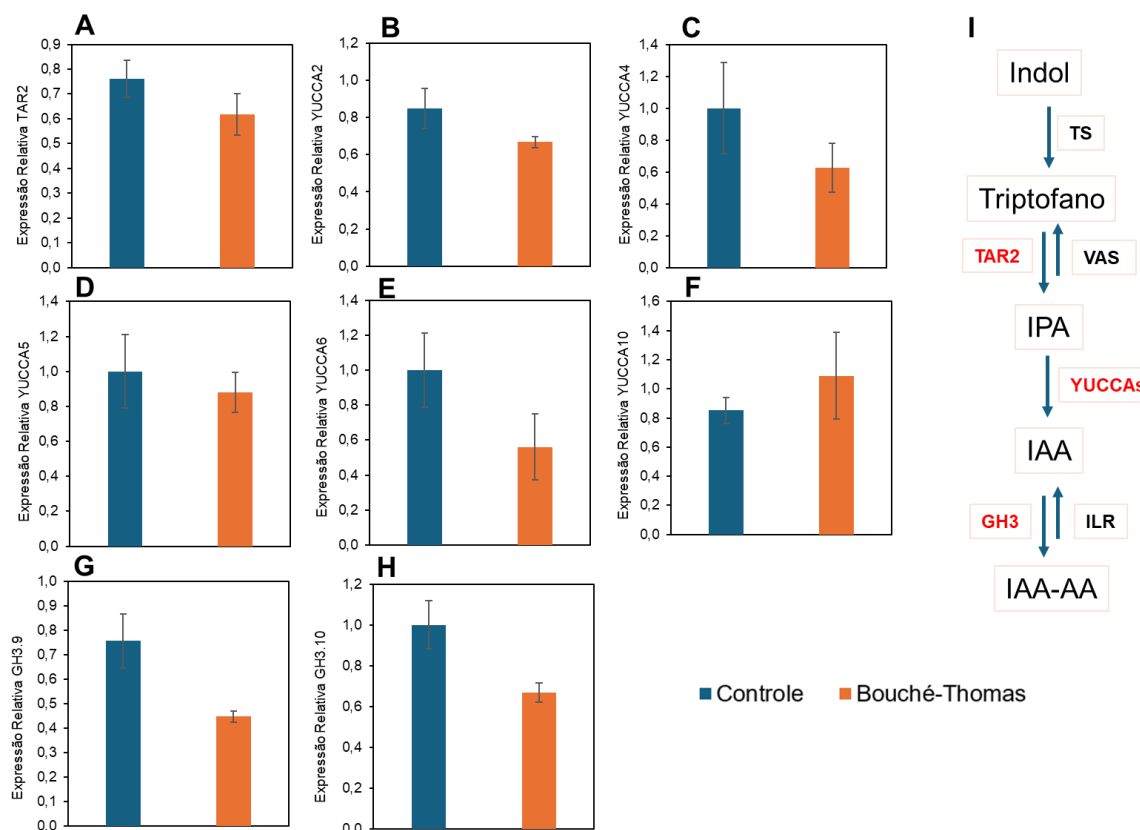


Figura 11. Expressão relativa de genes associados à via de biossíntese do ácido indolacético (AIA) em gemas apicais e laterais de laranjeira-doce 'Pera' enxertada em tangerineira 'Sunki' em dois sistemas de plantio (Controle e Bouché-Thomas), na altura da muda de 90 cm. Os níveis de expressão foram revelados por RT-qPCR. As barras representam os desvios padrão médios de seis repetições. Tryptofano aminotransferase-2 (TAR2) (A), indol-3-piruvato monooxygenase-2 (YUCCA2) (B), indol-3-piruvato monooxygenase-4 (YUCCA4) (C), indol-3-piruvato monooxygenase-5 (YUCCA5) (D), indol-3-piruvato monooxygenase-6 (YUCCA6) (E), indol-3-piruvato monooxygenase-10 (YUCCA10) (F), auxina-amido sintetase de Gretchen Hagen 3; (GH3.9) (G), auxina-amido sintetase de Gretchen Hagen 3 (GH3.10) (H), e esquema resumido da via de biossíntese do ácido indolacético (I) e em vermelho as etapas da via de biossíntese que foram avaliadas.

Dos genes envolvidos na biossíntese de citocininas, nenhum dos doze genes avaliados teve expressão induzida no sistema Bouché-Thomas, observando-se apenas uma tendência para a expressão suprimida para os alvos LOG1 like2, LOG7, LOG8 e IPT3 (Figura 12). No entanto, não houve diferença estatística significativa em relação ao controle.

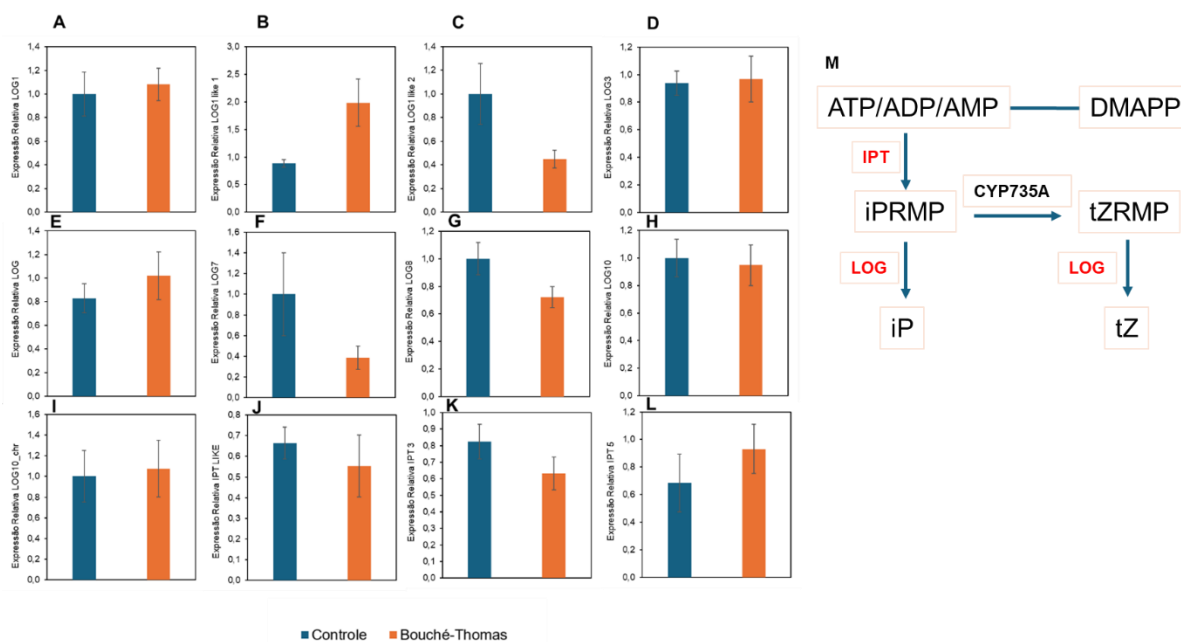


Figura 12. Expressão relativa de genes associados a via de biossíntese da citocinina (CK) em gemas apicais e laterais de laranjeira-doce ‘Pera’ enxertada em tangerineira ‘Sunki’ em dois sistemas de plantio (Controle e Bouché-Thomas), na altura da muda de 90 cm. Os níveis de expressão foram revelados por RT-qPCR. As barras representam os desvios padrão médios de seis repetições. Lonely Guy 1 (LOG1) (A), Lonely Guy 1 Like 1 (LOG1-Like1) (B), Lonely Guy 1 Like 2 (LOG1-Like2) (C), Lonely Guy 3 (LOG3) (D), Lonely Guy 5 (LOG5) (E), Lonely Guy 7 (LOG7) (F), Lonely Guy 8 (LOG8) (G), Lonely Guy 10 (LOG10) (H), Lonely Guy 10_cromossomo (LOG10_chr) (I), Isopentenil Transferase Like (IPT-like) (J), Isopentenil Transferase 3 (IPT3) (K), Isopentenil Transferase 5 (IPT5) (L) e esquema resumido da via de biossíntese da citocinina (M) e em vermelho as etapas da via de biossíntese que foram avaliadas.

5. DISCUSSÃO

Para a definição do espaçamento de plantio e, conseqüentemente, da densidade de um pomar, a combinação copa e porta-enxerto é o principal fator levado em consideração, uma vez que essa combinação determina as dimensões das plantas (Blumer; Pompeu Júnior, 2005). A escolha de porta-enxertos ananizantes, como o trifoliata 'Flying Dragon', é uma das alternativas, porém, ele é muito intolerante à seca (Girardi et al., 2021), o que torna seu uso limitado. Outras variedades ananizantes vêm sendo disponibilizadas pelos programas de melhoramento genético, mas a sua adoção é gradual, pois o conhecimento sobre seu desempenho ainda é restrito (Costa et al., 2021). Além do uso de porta-enxertos que induzam baixo vigor, a poda também é um método bastante utilizado nos pomares para manter o tamanho das plantas, contribuindo com a sanidade do pomar através da retirada de ramos doentes, focos de inóculos, e, conseqüentemente melhorando a qualidade dos frutos (Azevedo et al., 2017). No entanto, é um manejo cultural com custo frequente, exige conhecimento técnico para evitar excessos que afetem a produtividade e fator importante para a estimulação de brotações, principal alimento do vetor do HLB, o psilídeo. Buscando avaliar alternativas viáveis para contornar essa problemática, foi estudado o método de plantio em ângulo de 30° (Bouché-Thomas, 1953). Para entender melhor como o método influencia na planta como um todo, foram feitas diversas avaliações que englobam os aspectos hortícolas, fisiológicos, bioquímicos e moleculares.

Após nove anos de plantio, as plantas manejadas pelo método de Bouché-Thomas apresentaram alturas, diâmetro médio e volume de copa significativamente menores que as plantas do sistema convencional, mesmo utilizando o mesmo porta-enxerto. A tangerineira 'Sunki' é um porta-enxerto caracterizado por induzir maior desenvolvimento vegetativo à laranjeira 'Pera' (Mourão Filho, Mischan e Salibe, 1991). O manejo de árvores com menor tamanho facilita as práticas culturais e a colheita dos frutos (Donadio et al, 2019). O fato do sistema de plantio Bouché-Thomas ter reduzido em cerca de 40% o volume da copa, 22% sua largura e 15 % sua altura pode estar relacionada à restrição de água e nutrientes translocados da raiz para a copa devido à inclinação do tronco, o que reduz a condutividade hidráulica no sistema. Embora não se tenha observada variação na composição de nutrientes minerais nas folhas, as plantas inclinadas apresentaram fluxo de seiva mais lento em campo, o que foi

corroborado na avaliação complementar com mudas em viveiro, mesmo submetidas a um período curto, as mudas inclinadas em 30° também apresentaram uma redução expressiva em seu tamanho, seja da copa como do sistema radicular, evidenciando que a alteração morfológica no tronco tem um efeito pronunciado sobre o fluxo de seiva da planta. De fato, a análise de correlação revelou uma relação direta entre o ângulo do tronco e o vigor da copa.

Outro fator que pode ser levado em consideração é a taxa de transpiração. Plantas de menor porte geralmente apresentam menor área foliar e, conseqüentemente, menor taxa de transpiração, o que pode promover a redução da taxa fotossintética pela planta. Considerando que as plantas submetidas ao método apresentaram menor tamanho, os resultados sugerem que o método de Bouché-Thomas, em condições de clima subtropical, pode contribuir para a redução do porte das plantas. Resultados opostos ao encontrado neste trabalho foram observados por Piner (1988) em seu estudo na África do Sul com diferentes copas e porta-enxertos. O autor concluiu que seria improvável que o plantio em ângulo resultasse em árvores de pequeno porte. Burns et al. (1981) relataram em seu estudo com toranjas e limões que, mesmo plantadas em ângulo de 45°, as plantas acabaram ficando muito vigorosas, sendo necessário o uso da poda para controlar seu vigor. Nesse estudo, adotou-se o ângulo de 30° como referência para intensificar o efeito e as mudas foram podadas a 45 cm e 90 cm com o objetivo de comparar os efeitos do eliotropismo, o que se mostrou mais eficaz com as mudas mais longas no momento do plantio. As mudas convencionais apresentaram grande quantidade de plantas que praticamente retomara ângulos próximos ao reto a partir das pernadas principais, enquanto as plantas mais longas e inclinadas tiveram efeito mais pronunciado na redução de vigor.

As mudas em ângulo de Bouché-Thomas apresentaram menor condutividade hidráulica, sendo possível observar diferença a partir da pressão 0,4 Mpa. Além disso, as características biométricas dessas mudas também foram inferiores às das mudas controle, que apresentaram maior vigor. A condutividade hidráulica está diretamente relacionada à capacidade das plantas em suportar pressões negativas no sistema vascular, contribuindo para a segurança hidráulica frente à formação de embolias ou cavitações, fenômenos caracterizados pela entrada de bolhas de ar nos vasos condutores, geralmente provocados por déficits hídricos (Fonti et al., 2012). No

contexto radicular, uma elevada condutividade hidráulica é essencial para garantir o suprimento hídrico da parte aérea da planta (Figueiredo et al., 2014), contribuindo para o desenvolvimento da planta. No entanto, restrições físicas como o confinamento e a deformação das raízes podem prejudicar essa condição (Figueiredo et al., 2014). Em citros, estudos mostram que a condutividade hidráulica das raízes varia de acordo com o porta-enxerto, influenciando diretamente a taxa de transpiração, a eficiência no uso da água e a tolerância ao déficit hídrico (Wang et al., 2025; Castle, 1995; Forner-Giner et al., 2014). Além disso, diferenças anatômicas e estruturais no sistema radicular estão associadas à maior ou menor capacidade de condução de água, o que explica a variabilidade de respostas fisiológicas entre os genótipos (Syvertsen e Graham, 1985; Martínez-Alcántara et al., 2016).

Em campo, a velocidade de fluxo de seiva foi, em média, 19% maior nas plantas do sistema convencional em comparação às plantas do BT, indicando maior atividade transpiratória. Esse resultado está diretamente relacionado ao tamanho da planta, uma vez que indivíduos maiores tendem a apresentar maior transpiração. De fato, o fluxo de seiva foi, em média, 77% superior nas plantas do sistema convencional, quando comparadas às plantas do BT. Esse comportamento reforça a relação entre o tamanho da copa, a demanda evaporativa e o consumo hídrico das plantas, evidenciando que plantas de menor porte, como as BT, tendem a apresentar menor fluxo de seiva devido à sua menor área de transpiração. Esse resultado também foi observado em mudas do porta-enxerto Sunki, submetidas a inclinação do tronco em 30°, além das mudas ficarem menores, a condutividade hidráulica da raiz também foi menor quando comparadas às mudas controle. Esses resultados indicam que a inclinação do tronco principal no plantio foi o fator primário que desencadeou a redução da condutividade hidráulica e, conseqüentemente, a alteração do fenótipo quanto ao tamanho da copa. Isso sugere que o mecanismo de ação do BT é de natureza física. A técnica original previa a condução de ramos subsequentes em ângulo de 30° para que a técnica fosse mais efetiva. Isso, no entanto é de execução muito difícil e custoso em citros, devido à sua arquitetura de copa e crescimento em fluxos sucessivos de inúmeros ramos simpodiais (Rey, 2000). Sendo necessária a adaptação do método para citros.

A alta produtividade das plantas de citros é uma das principais características buscadas pelo produtor. Durante as seis safras avaliadas, o sistema de plantio convencional foi o que proporcionou as maiores produções de frutos por planta, com diferença entre as alturas das mudas apenas no primeiro ano (2019) e último ano (2025). O sistema convencional proporcionou maior volume de copa, é esperado que também possua maiores quantidades de frutos, podendo ser observado na produtividade média e acumulada. A safra de 2023 foi a única em que não houve diferença entre os ângulos e entre as alturas para a produção de frutos. A precocidade de produção é uma das características apresentadas pela tangerineira 'Sunki'. Apesar de ser o mesmo porta-enxerto para os tratamentos, observou-se que as plantas do sistema convencional e altura da muda de 90 cm apresentaram maiores produtividades nos primeiros anos, indicando precocidade de produção de frutos. É importante considerar que o ano de 2019 foi o primeiro ano de safra plena, tendo o pomar aproximadamente três anos de idade. Rabe (2000) também observou na África do Sul produção inicial mais elevada em pomares estabelecidos com mudas do tipo vara mais longas, e relacionou às maiores reservas de amido e área foliar das mudas.

Observando os resultados da eficiência produtiva ao longo dos anos, o sistema de Bouché-Thomas apresentou desempenho superior ao convencional nos anos de 2020 a 2024. Resultados parecidos foram encontrados por Silva et al. (2013) para o porta-enxerto 'Flying Dragon', que é ananicante, onde este também apresentou eficiência produtiva superior a porta-enxertos mais vigorosos, como o 'Volkameriano' e o 'Cravo'. Apesar de serem porta-enxertos diferentes ao desse estudo, isso sugere uma tendência de maior eficiência em plantas com menor vigor. É importante destacar, dessa maneira, que as plantas manejadas pelo BT apresentaram fixação de frutos similar ou superior ao controle, conforme o ano, o que sugere que a inclinação do tronco não interferiu nos mecanismos fisiológicos de florescimento apesar da redução no vigor e no fluxo de seiva.

A massa, o diâmetro e o comprimento dos frutos são parâmetros importantes que são utilizados como forma de classificação para a comercialização. O sistema de Bouché-Thomas proporcionou frutos maiores, com 6,79 cm de diâmetro e 7,42 cm de comprimento, e mais pesados, com 175,93 g. Para as laranjas, frutos com diâmetro maior que 7,1 cm, são classificados como grandes, entre 6,5 e 7,1 cm como médios,

e menor que 6,5 cm como pequenos (CEGESp, 2011; Oliveira, et al., 2023). Todos os tratamentos apresentaram a quantidade mínima de 45% de rendimento de suco para consumo *in natura*, além de sólidos solúveis totais superiores a 10,0 °Brix e valores de *ratio* maiores que 9,5, parâmetros considerados para a variedade 'Pera' pela Ceagesp (2011). Os valores de sólidos solúveis totais encontrados foram, no geral, superiores ao observados por Oliveira et al. (2023) para a mesma copa e porta-enxertos utilizados neste estudo. Geralmente plantas de menor vigor tendem a apresentar em seus frutos maiores quantidades de sólidos solúveis e ácidos totais, porém, nesse estudo foram observados resultados contrários, com o sistema de plantio convencional apresentando maior teor de sólidos solúveis. Como o tamanho do fruto nesse estudo foi maior com a técnica de Bouché-Thomas, isso se relacionou à concentração de sólidos solúveis ligeiramente menor. Tomando os resultados de produção e qualidade de frutos como um todo, a técnica se mostrou mais interessante para a finalidade de citros de mesa, devido à redução do tamanho da planta que facilita a colheita e aos frutos maiores. Considerando-se ainda que, apesar de não haver praticamente diferença na muda utilizada, o BT implica em trabalho adicional para as desbrotas e empa (técnica usada para conter a planta em determinada posição), e na necessidade de maior densidade de plantio, essa técnica parece menos interessante para pomares industriais.

De modo geral, todos os tratamentos apresentaram tolerância intermediária ao déficit hídrico, com o sistema de plantio Bouché-Thomas apresentando variação em relação ao sistema convencional em 2020. Esse comportamento indica que, embora o método de plantio possa influenciar a resposta fisiológica das plantas em determinadas condições, não foi suficiente para promover diferenças consistentes em termos de tolerância ao estresse hídrico ao longo do ano. Além disso, as concentrações de macro e micronutrientes mantiveram-se semelhantes entre os tratamentos, indicando uniformidade no balanço nutricional das plantas. Essa uniformidade nutricional é relevante, pois reduz a possibilidade de que eventuais diferenças observadas estejam associadas a variações de disponibilidade ou absorção de nutrientes. É importante frisar que a tangerina 'Sunki' é um porta-enxerto mais adaptado ao plantio de sequeiro (Girardi et al., 2017), portanto, esse comportamento pode ser diferente em outros porta-enxertos. De fato, a avaliação da

técnica de Bouché-Thomas em porta-enxertos menos vigorosos como o citrumelo 'Swingle' e alguns citrandarins é um objetivo interessante, pois poderia intensificar ainda mais os efeitos na redução do tamanho da planta.

Até o momento, não existem variedades copa ou porta-enxertos que sejam resistentes ao HLB, o que impulsiona várias pesquisas em busca de uma solução para essa doença tão devastadora para a citricultura (Limayem, Martin e Shankar, 2024; Cervantes-Santos et al., 2025). Após nove anos de avaliação, o pomar apresentou 100% de incidência da doença, sem diferença entre os tratamentos avaliados. De acordo com levantamento do Fundecitrus, a doença já atinge cerca de 50 % das laranjeiras no cinturão citrícola de São Paulo e Minas Gerais (Fundecitrus, 2025c). O avanço da doença nas plantas e a intensificação dos sintomas comprometem a vida econômica dos pomares, resultando na redução da produtividade ao longo dos anos (Bassanezi et al., 2009). Não houve evidência que a redução de vigor resultante da técnica de BT fosse suficiente para influenciar na incidência ou severidade da doença. Tanto a copa de 'Pera' e o porta-enxerto de 'Sunki' são suscetíveis, e estudos anteriores observaram diferenças significativas entre plantas enxertadas em porta-enxertos que condicionaram volumes de copa extremos opostos (Rodrigues et al., 2020). Portanto, fica patente que o manejo preventivo do HLB e o controle eficaz do seu vetor são imprescindíveis em qualquer circunstância. O menor volume das plantas sob BT poderia ser investigado em termos de maior eficiência no uso de inseticidas ou caulim repelente.

De modo geral, as concentrações hormonais não apresentaram diferença entre os tratamentos, com exceção da citocinina iP, que apresentou maior teor no controle e menor teor no tratamento de Bouché-Thomas. Dentre as várias funções das citocininas, se destaca a quebra da dominância apical que é promovida pelas auxinas, o que estimula o crescimento das gemas laterais formando ramificações (Daneluzzi, 2025). Além disso, estimulam a divisão celular, contribuindo para um crescimento vigoroso da planta (Taiz et al., 2017). Desse modo, o menor teor da citocinina iP no tratamento de Bouché-Thomas pode estar diretamente relacionado ao crescimento menos vigoroso das plantas promovido por sua menor concentração.

Genes envolvidos na via de biossíntese das auxinas, giberelinas, ácido abscísico e citocininas, fitormônios relacionados ao crescimento vegetativo, foram

estudados a fim de se obter respostas a nível genético para o controle do vigor das plantas. Nesse estudo, foram selecionados um total de 45 genes relacionados a esses hormônios. Desses, apenas 33 tiveram expressão no tecido em estudo. De modo geral, todos os transcritos apresentaram níveis baixos de expressão. *Ent*-caureno sintase KS e *Ent*-caureno oxidase KO apresentaram tendência de redução em suas expressões no tratamento de Bouché-Thomas, o que pode estar relacionado ao menor vigor das plantas. Estudos em *Arabidopsis thaliana* demonstraram que mutações nesses genes resultaram em plantas menos vigorosas, estéreis e incapazes de germinar (Yamaguchi, 2008). Em macieiras, observou-se que a aplicação exógena de GA₃ induziu a expressão de KS, KO e KAO, indicando relação direta com o crescimento e vigor da planta (Tworkoski e Miller, 2007). O ABA atua negativamente sobre o crescimento vegetal, inibindo a expansão celular e promovendo o fechamento dos estômatos (Zhang et al., 2006). A expressão suprimida do *NCED2* no tratamento de Bouché-Thomas pode estar relacionada ao ajuste hormonal e à fisiologia adaptativa dessas plantas associada à menor necessidade de defesa contra estresses. O baixo nível de expressão para *TAR*, *YUCCA*s, *GH3.10* e *GH3.9* em plantas do tratamento de Bouché-Thomas sugere uma alteração no metabolismo da auxina. Genes das famílias *TAR* e *YUCCA* participam das etapas centrais da biossíntese de ácido indolacético (AIA), e a tendência para uma menor expressão indica uma diminuição na produção de auxina endógena, o que pode resultar em menor alongamento celular e crescimento vegetativo reduzido (Zhao, 2010).

Verificou-se uma tendência de supressão da expressão em KS e KO, o que conseqüentemente, pode resultar na redução do conteúdo de ácido caurenóico, precursor direto da biossíntese de giberelinas (Figura 9 A-B). Por outro lado, os genes GA20OX e GA3OX tendem a aumentar no tratamento de Bouché-Thomas (Figura 9 C-D), sugerindo um possível mecanismo compensatório na via de síntese das giberelinas. Interessantemente, uma resposta inversa foi identificada para LOG1, LOG like1, LOG e IPT 5. Uma tendência de formação de citocinina livre foi identificada pela redução de IPTs em Bouché-Thomas, enquanto a conversão de ribotídeos de citocinina foram intensificadas nesse tratamento (Figura 8). Esses resultados corroboram com a dosagem dos hormônios obtidas (Figura 10), reforçando a hipótese de que o sistema de plantio influencia diretamente o balanço hormonal entre

giberelinas e citocininas. Tomado em conjunto, os resultados indicam que, apesar de alterações discretas que desfavorecem a biossíntese de hormônios relacionados a maior vigor, esses mecanismos não alteraram a capacidade de produção das plantas, dada a alta eficiência das copas das plantas manejadas pelo método BT.

Tabela suplementar 1. Genes envolvidos nas vias de biossíntese de hormônios vegetais relacionados ao crescimento vegetativo de citros previamente selecionados para ensaios RT-qPCR e expressão relativa.

	Nome do gene	Descrição	Sequência do primer Foward	Sequência do primer Reverse	Referência
ABA	NCED1	9-cis-epoxicarotenóide dioxigenase 1	GACCAGC AAGTGGTGTTC	AGAGGTGGAAACAGGAGCAA	Mouhaya (2008); Bassene et al., 2009; Romero et al., 2012
	NCED2	9-cis-epoxicarotenóide dioxigenase 2	ACTTCCCAAAACAGCCGACC	CCGTCACCGTCAAAGAAATGG	
	NCED3	9-cis-epoxicarotenóide dioxigenase 3	GTCCCCAAAATACCCTCCAT	GACTGCGTCCAAGGCTAAAG	
	CYP7	Hidroxilase do ácido abscísico	TTGGGAACGGGACGCATT	CATAGGAAGGGCAAAGGGC	Bassene et al., 2009; Kato et al. (2006)
	ZEP_X1	zeaxantina epoxidase	GGAAGAGGAATTGTACAGCA	CTACATTTGTATACAAGGC	
	ZEP_X2	zeaxantina epoxidase	GAAGATCAGAGTAGCGAGC	CGTATACAGTTGTTCTGCC	
	AAO3	Aldeído abscísico oxidase 3	TTGGTGATGGCACAGAGAAAAT	TTTGCACCCACTGCAAGAAG	Desenhado
	ABA2	Desidrogenase alcóolica de cadeia curta	CTTGGTCAGCAGGTCTGTCA	GGTCAACAGCAGAGCAAACA	
	ABA3	Sulfurase do cofator de molibdênio (MoCo)	AGGCACGAAAATGGAGCTGA	GCACCAGGATTGCAAAAGCA	
IAA	CitYUC8/ YUCCA5	indol-3-piruvato monooxigenase 8 YUCCA8	CTACAGGGTACCGCAGCAAT	TCTTTCCAGACCTTGCCAAT	Nehela et al., 2018
	CitYUC2	indol-3-piruvato monooxigenase 2 YUCCA2	CTGCCAACTTCCTTATGTGCC	CCCATTGAACCTCTTGCCT	
	CitYUC8/YUCCA5	indol-3-piruvato monooxigenase 8 YUCCA8	TGCCTGAGAGACCAAGGAGT	CCTGTCGTAGGTGCGTTTTT	
	YUC3	indol-3-piruvato monooxigenase 3 YUCCA3	TGTTGGACATTGGTGCTTTGC	ATACAGCCCTCCCTTGCCTT	
	YUC4	indol-3-piruvato monooxigenase 4 YUCCA4	CTACTCAGGTGGTTTCCGTT	GACAGTGCTCCGACATCAAG	
	YUC5	indol-3-piruvato monooxigenase 5 YUCCA5	GAAGGATTGGCGGACTTTGG	TGATGGAGAGGCATTGTGGTT	
	YUC6	indol-3-piruvato monooxigenase 6 YUCCA6	AATGGGTGGAAAGGGGAAAGT	CAACAGTGAGCGAGCAAAAGG	Desenhado
	YUC10	indol-3-piruvato monooxigenase 10 YUCCA10	CGGGAGGTTTCTGGTGGTT	CGGGCTACGGACAACTAAAGA	
	YUC11	indol-3-piruvato monooxigenase 11 YUCCA11	ATTTCCTTCTCGCACACCAAC	CCTTGACCGTTTTCCACGTT	
	TAR2	Triptofano aminotransferase 2 TAR2	TTTGATTTGGAGGGCTATGC	CGAAGATGATGGTGATGGTG	
	TAR4	Triptofano aminotransferase 4 TAR4	AGATTTGGATGGGCGGTGAT	GCTGGAGAAGGTGGTCTGATTT	
	GH3.1	ácido indol-3-acético-amido sintetase	GCGTTGATTCTTTCCAGAGC	ATCATCGGCAAGTTGTTTCC	

		GH3.1			
	GH3.6_X1	ácido indol-3-acético-amido sintetase GH3.6	GGTTGTTTCCTCCGAA	TTCGTTACTACTACCTTGC	
	GH3.6_X2	ácido indol-3-acético-amido sintetase GH3.6	GGCTGTTGAGATCGTGGAGT	TTGCAACTGAGTCTCGCAAC	
	GH3.9	ácido indol-3-acético-amido sintetase GH3.9	GCCAGCACTCCCATTGA	AGCAAATCCATCAGCGTCTCA	
	GH3.10	ácido indol-3-acético-amido sintetase GH3.10	TTCTTTGGTGCCTCTTGCTT	GCCAGCCTGAAAATCTGAAG	
Giberelina	GA20ox2	Giberelina 20 oxidase	GGTGACACCTCCGAACAACT	AATGCGTTGAGGGTTTTTAC	
	GA3ox1	Giberelina 3 oxidase	CAACGCAAGATGTCAAATGG	CAGGCCGGGTAGTAATTCAA	Bermejo et al., 2016
	GA2ox1	Giberelina 2 oxidase	TCCATTTCCAGGCTTGAATC	ACATCACCATTCCGTCCAAT	
	CcGA20ox1	Giberelina 20 oxidase	GCCCTAACCCAGACGCTTT	TGTCACCACCTTGTCCATCTT	Fagoaga et al., 2007
	GA20ox1	Giberelina 20 oxidase	GTGGGTGGTCTTCAGGTGTT	TTGGGCTGCTGTATGTGTCC	Kotoda et al., 2016
	KO	Ent- Caureno oxidase	TGAGGTGGACTGGAGAGACTT	TTACTGCCTGCCTGCGG	Desenhado
	CuGA20ox2	Giberelina 20 oxidase	GTCGAAGATTATTTCTTCAACGTAA	CATTCCCTAACAGCTCCATGATCC	Kotoda et al., 2016
	KS	KS (ent-Caureno sintase)	ATCGCCCTTCTGGTTAGTT	GCGTTTGTTGCTTCTCATCA	Desenhado
Citocininas	LOG1	Lonely Guy 1	TGCCTGGTGGTTATGGAACA	GCGTTGGGACTAATGAAGCC	
	LOG1like1	Lonely Guy - like 1	GGTTCATCGTGGTGGCAGAC	TGGCAAGGCAATAAAACAGTCAG	
	LOG1 like-2	Lonely Guy - like 2	TGTTTGTGTTTTCTGTGGTAGC	ATCTCACGGGGCATAAGAGTC	
	LOG3	Lonely Guy 3	GCATTGGTTTGATGGGTTTGG	TGAGAGCAAGGAGTTGTAGTATCC	
	LOG5	Lonely Guy 5	AGCACCAAACGCCAAAGAAC	TTGTAGCCTTGAACCCCACT	Desenhado
	LOG7	Lonely Guy 7	GCGTGGGTTTGATGGGTCTT	ACACCGTTTTCACTTCTCCAA	
	LOG8	Lonely Guy 8	TGGAGGAAGAAGGATACACCG	CAAACCCATCAACCAACGC	
	LOG10	Lonely Guy 10	GAGTTGGGTGGAGAGATTGCT	CTTGCCGAGAAAAACCTGC	
	LOG10_chr	Lonely Guy 10_cromossomo	GGAGGAGGTGAACGAGGGTT	TGGCAAGAAAATAAAAGCATCAGC	
	IPT-like	Isopentenil Transferase Like	GGCGAGGGTCTATCAAGAGG	GTCTCCGTTCAACACATCCT	

	IPT3	Isopentenil Transferase 3	ATTACACCAACGCCAGCCA	GTCGTGATTTTCCTGTTCCG	
	IPT5	Isopentenil Transferase 5	GAGATGCTGCCGAGTTCAA	CGCCTAACACCCCTTGAGTA	
Normalizadores	<i>Actina</i>	Actin-7	ATCTGCTGGAAGGTGCTGAG	CCAAGCAGCATGAAGATCAA	Wu et al, 2014
	<i>DIM1</i>	DIM1 homologo / YLS8	CGAAACCTGTATGCAGATGG	ACGGTTGAGGGATCGTAAAG	Mafra et al, 2012

6. CONCLUSÃO

O método de Bouché-Thomas controla o tamanho das plantas de laranjeira 'Pera' enxertada em tangerineira 'Sunki' em clima subtropical, com redução de volume de copa na ordem de 40% em relação a plantas do sistema convencional, com pequenas variações na produção, qualidade de frutos e bioquímicas na planta. A redução no fluxo de seiva das plantas decorrente do plantio da muda em ângulo de 30° parece ser o principal fator determinante na redução do vigor, sendo que o uso de mudas de 90 cm no plantio foi mais favorável à técnica pelo menor efeito de geotropismo e maior precocidade de produção.

7. REFERÊNCIAS

Agrodefesa - Agência Goiana de Defesa Agropecuária (2024). Agrodefesa apresenta resultados de ações de controle e erradicação do HLB em Goiás.

Albrecht U, Bordas L, Lamb B, Meyeringe B, Browman D (2017). Influence of Propagation Method on Root Architecture and Other Traits of Young Citrus Rootstock Plants. **HortScience horts**, 52:1569-1576. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI12320-17>

Albrecht U, Tripathi I, BOWMAN KD (2020) Rootstock influences the metabolic response to *Candidatus Liberibacter asiaticus* in grafted sweet orange trees. **Trees**, 34:405-431. doi: <https://doi.org/10.1007/s00468-019-01925-3>

Almeida GM, Rodrigues JGL (2016). Desenvolvimento de plantas através da interferência de auxinas, citocininas, etileno e giberelinas. **Applied Research e Agrotechnology**, 9:111-117.

Al-Saif AM, Abdel-Aziz HF, Khalifa SM, Elnaggar IA, Abd El-wahed AEWN, Farouk MH, Hamdy AE (2023). Pruning boosts growth, yield, and fruit quality of old Valencia orange trees: A field study. **Agriculture**, 13:1720.

Alves MN, et al. (2025) Transcriptomic analysis of early stages of 'Candidatus *Liberibacter asiaticus*' infection in susceptible and resistant species after inoculation by *Diaphorina citri* feeding on young shoots. **Frontiers in Plant Science**, 16, 1502953.

Amarante CVTD, Steffens CA, Mota CS, Santos HPD (2007). Radiação, fotossíntese, rendimento e qualidade de frutos em macieiras' Royal Gala'cobertas com telas antigranizo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 42:925-931.

Andrade MA, Barbosa CH, Shah MA, Ahmad N, Vilarinho F, Khwaldia K, Silva AS, Ramos, F (2022). Citrus by-products: Valuable source of bioactive compounds for food applications. **Antioxidants**, 12:38.

Azevedo FA, Lanza NB, Sales CRG, Silva KI, Barros AL, De Negri JD (2017). Poda na citricultura. **Citrus Research e Technology**, 34:17-30.

Bassanezi RB et al. (2011) Yield loss caused by huanglongbing in different sweet orange cultivars in São Paulo, Brazil. **European journal of plant pathology**, 130: 577-586.

Bassanezi RB, Lopes SA, De Miranda MP, Wulff NA, Volpe HXL, Ayres AJ (2020) Overview of citrus huanglongbing spread and manageme strategies in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, 45:251-264. doi: <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00343-y>

Bassanezi RB, Montesino LH, STUCHI ES (2009) Effects of huanglongbing on fruit quality of sweet orange cultivars in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, 125:565-572. doi <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9506-3>

Bassene JB, Froelicher Y, Dhuique-Mayer CM et al (2009) Non-additive phenotypic and transcriptomic inheritance in a citrus allotetraploid somatic hybrid between *C. reticulata* and *C. limon*: the case of pulp carotenoid biosynthesis pathway. **Plant Cell Rep** 28:1689-1697

Belasque Junior J, et al (2009). Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, Greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, 34, 137-145.

Bermejo A, et al. (2016) Biosynthesis and Contents of Gibberellins in Seeded and Seedless Sweet Orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Cultivars. **J Plant Growth Regul** 35:1036-1048. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9602-5>

Bitters WP, Cole DA, McCarty CD (1979). **Facts about dwarf citrus trees**.

Bleby TM, Burgess SS, Adams MA (2004). A validation, comparison and error analysis of two heat-pulse methods for measuring sap flow in *Eucalyptus marginata* saplings. **Functional Plant Biology**, 31:645-658.

Blumer S, Pompeu Junior J (2005) Avaliação de citrandarins e outros híbridos de trifoliata como porta-enxertos para citros em São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura** 27:264-267.

BOUCHÉ-THOMAS, E (1953) La méthode Bouché-Thomas. Auteur-Editeur. Angers.

Bové JM (2014) Huanglongbing or yellow shoot, a disease of Gondwanan origin: Will it destroy citrus worldwide? **Phytoparasitica**, 42:579-583. doi: <https://doi.org/10.1007/s12600-014-0415-4>

Bové JM (2014). Huanglongbing or yellow shoot, a disease of Gondwanan origin: Will it destroy citrus worldwide?. **Phytoparasitica**, 42:579-583.

Bremer Neto H, Silva SR, Mourão Filho FAA, Sposito MB, Caputo MM (2015). Boas práticas de produção de mudas cítricas. **Vivecitrus**. Araraquara, p.69.

Burgess SS, Adams MA, Turner NC, Beverly CR, Ong CK, Khan AA, Bleby TM (2001). An improved heat pulse method to measure low and reverse rates of sap flow in woody plants. **Tree physiology**, 21:589-598.

Burns RM, Boswell SB, Wear SF (1981). Growing lemons and grapefruit at an angle. *Citrograph*, 66: 217-218.

Campbell CL, Madden LV (1990) Introduction to plant disease epidemiology. New York: John Wiley and Sons, 532 p.

Cantuarias-Avilés T, Mourão Filho FDAA, Stuchi ES, Da Silva SR, Espinoza-Nuñez E (2011) Horticultural performance of 'Folha Murcha'sweet orange onto twelve rootstocks. **Scientia Horticulturae**, 129:259-265, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.03.039>

Carvalho EVD, Cifuentes-Arenas JC, Jesus CASD, Stuchi ES, Lopes SA, Girardi E. A (2020) Optimization of sampling and monitoring of vegetative flushing in citrus orchards. **Plos one**, v. 15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233014>

Carvalho HWLD, Carvalho LMD, Teodoro AV, Barros ID, Girardi EA, Soares Filho WDS, Passos OS (2021) Yield, fruit quality, and survival of 'Pêra'sweet orange on eight rootstocks in tropical cohesive soils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 56, doi: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2021.v56.02151>

Castle WS (1995) Rootstocks for citrus. In: Davies FS, Albrigo LG. **Citrus**. Wallingford: CAB International. 361-399 p.

Castle WS (1995). Rootstock as a fruit quality factor in citrus and deciduous tree crops. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**. 23:383-394 [OuCI+1](#)

Castle WS (2020) Rootstock and rootstock propagation. In: Talon M, Caruso M, Gomes-Caligiuri F (ed.). **The Genus Citrus**. Cambridge: Woodhead Publishing. 97-112 p.

Castle WS, Phillips RL (1978). **Potentially dwarfing rootstocks for Florida citrus**.

Castle WSA (2010) Career perspective on citrus rootstocks, their development, and commercialization. **HortScience**, 45:11-15.

Castro MEA, Bezerra AR, Leite WA, Mundin Filho W, Nogueira ND (2010) Situação e ações do estado de Minas Gerais frente ao *huanglongbing*. **Tecnologia de Pesquisa Cítrica** 31:163-168.

Castro Neto, MT (2013). Fisiologia. In Sobrinho APC, Magalhães AFJ, Souza AS, Passos OS, Soares Filho WS. (Ed.) **Cultura dos Citros**. Brasília DF, Embrapa. 173-191 p.

CEAGESP- Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (2011). **Normas de Classificação de Citros de Mesa/CEAGESP-** São Paulo: CEAGESP, 12p. Disponível em: <https://ceagesp.gov.br/wp-content/uploads/2015/07/citros.pdf> Acesso em: 8 de junho. 2025.

Cervantes-Santos JA et al. (2025). Huanglongbing as a Persistent Threat to Citriculture in Latin America. **Biology**, 14:335.

Chaturvedi SK, Chaturvedi A, Munth H, Sharma N (2024). Influence of Intensity of Pruning on Yield and Physico-Chemical Properties of Khasi Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). **Journal of Advances in Biology e Biotechnology**, 27(9), 498-503.

Cifuentes-Arenas JC et al (2018) Citrus flush shoot ontogeny modulates biotic potential of *Diaphorina citri*. **Plos one**, 13:1-17.

Cifuentes-Arenas JC, Goes A, Miranda MP, Beattie GAC, Lopes AS (2022) Impacts of huanglongbing on fruit yield and quality and on flushing dynamics of Sicilian lemon trees. **Frontiers in Plant Science**, v. 13.

Coletta-Filho HD, Targon MLPN, Takita MA, De Negri JD, Pompeu Júnior J, Machado MA (2004). First report of the causal agente of Huanglongbing “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” in Brazil. **Plant Disease** 88:1382.

Costa DP et al (2022b). Hybrid rootstocks for Valencia sweet orange in rainfed cultivation under tropical savannah climate. **Journal of Agricultural Science**, 12:40-55. doi: <https://doi.org/10.5539/jas.v12n11p40>

Costa DP, et al (2021). Less is more: A hard way to get potential dwarfing hybrid rootstocks for Valencia sweet orange. **Agriculture**, 11:354.

Costa GVD, Neves CSVJ, Bassanezi RB, Leite RP, Telles TS (2021). Economic impact of Huanglongbing on orange production. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 43, e-472.

Custodio V, et al (2025). Individual leaf microbiota tunes a genetic regulatory network to promote leaf growth. **Cell Host e Microbe**, 33:436-450.

Cuxac, P, Bernardin, P (1962). **La Haie Fruitière Bouché-Thomas**. n. 514.

Da Cruz MA, Neves CSVJ, Carvalho DUD, Longhi TV, Behlau F, Carvalho SAD, Leite-Junior RP (2023) Long-term field evaluation of Pera Sweet Orange selections under the Brazilian humid subtropical climate. **European Journal of Agronomy**, v. 150. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2023.126952>

Daneluzzi, G. Citocininas: descoberta, funções nas plantas e aplicações na agricultura. **Blog Agroadvance**. 2025. Disponível em: <https://agroadvance.com.br/blog-citocinina/>. Acesso em: 23/06/2025

De Negri JD, Stuchi ES, Blasco EEA (2005) Planejamento e implantação do pomar. In: Mattos Junior D, Negri JD, Pio RM, Pompeu Junior J (Ed.) Citros. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas: **Fundag**, 411- 427 p.

Delgado-Rojas JS (2003) **Avaliação do uso do fluxo de seiva e da variação do diâmetro do caule e de ramos na determinação das condições hídricas de citros, como base para o manejo de irrigação**. Tese (Doutorado) – ESALQ/USP, Piracicaba.

Delgado-Rojas JS, Angelocci LR, Folegatti MV, Coelho Filho MA (2007) Performance of thermal dissipation probe in the measurement of transpiration of young plant of Tahiti acid lime. **Engenharia Agrícola**, 27:404-413.

Deng X, Yang X, Yamamoto M, Biswas MK (2020). Chapter 3 – Domestication and history. In: Talon M, Caruso M. Gmitter-Junior FG (Eds.) **The Genus Citrus**, 33-55 p.

Devite FT, Bastianel M, Cristofani-Yaly M, Souza AJB, Gadanhoto BP, Costa Arantes, AC, Azevedo FA (2025). Performance of Valencia sweet orange grafted onto dwarfing citrandarins. **Frontiers in Plant Science**, 16, 1530396.

Donadio LC, Lederman IE, Roberto SR, Stucchi ES (2019). Dwarfing-canopy and rootstock cultivars for fruit trees. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 41, e-997.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2006) Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, Embrapa, SPI; Rio de Janeiro: **Embrapa Solos**, 306 p.

Embrapa (2023). **Porta-enxertos adequados com adensamento fazem citricultura poupar terra**. Brasília, DF: Embrapa. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/79260421/porta-enxertos-adequados-com-adensamento-fazem-citricultura-poupar-terra>. Acesso em: 22 ago. 2025.

EPPO. European and Mediterranean Plant Protection Organization – EPPO. (2025). *Candidatus Liberibacter asiaticus* – Distribution. EPPO Global Database. Retrieved October 6, 2025, <https://gd.eppo.int/taxon/LIBEAS/distribution>

Fadel AL, Mourão Filho FDAA, Stuchi ES, Ramos YC (2018) Production of 'Valência' sweet orange on 41 rootstocks in the north of the state of São Paulo, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 53:774-778. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000600015>

Fagoaga C, Tadeo FR, Iglesias DJ, Huerta L, Lliso I, Vidal AM, Talon M, Navarro L, García-Martínez JL, Peña L (2007) Engineering of gibberellin levels in citrus by sense and antisense overexpression of a GA 20-oxidase gene modifies plant architecture. *J Exp Bot*. 58:1407-20. doi: 10.1093/jxb/erm004. Epub 2007 Feb 21. PMID: 17317673.

FAO. Food Agricultural Organization (2023). **Crops and livestock products**. Disponível em: FAOSTAT Acesso em: 20/11/2025

Figueiredo FAMMDA, Carneiro JGDA, Penchel RM, Campostrini E, Thiebaut JTDL, Barroso DG (2014). Condutividade hidráulica de raiz e capacidade fotossintética de mudas clonais de eucalipto com indução de deformações radiculares. **Ciência Florestal**, 24: 277-287.

Fonte A, Garcerá C, Chueca P (2023) Influence of mechanical and manual pruning on the incidence of pests in 'Clemenules' mandarins. **Pest Management Science**.

Fonti P, Jansen S (2012) Xylem plasticity in response to climate. **New Phytologist** 195:734-736. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04252.x>

Forner-Giner MA, Rodriguez-Gamir J, Martinez-Alcántara B, Quiñones A, Iglesias DJ, Primo-Millo E, Forner J (2014). Performance of Navel orange trees grafted onto two new dwarfing rootstocks (Forner-Alcaide 517 and Forner-Alcaide 418). **Scientia Horticulturae**, 179:376-387.

Frensch J, Steudle E (1989) Axial and radial Hydraulic resistance to roots of maize (*Zea mays* L.) **Plant Physiology**, 91:719-726.

Fundecitrus - Fundo de Defesa da Citricultura (2023) **Inventário de árvores do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste mineiro: panorama dos pomares de em março de 2023**. Araraquara, SP, Brasil: Fundecitrus, 114 p.

Fundecitrus - Fundo de Defesa da Citricultura. 2025a. **REESTIMATIVA DA SAFRA DE LARANJA 2024/25 DO CINTURÃO CITRÍCOLA DE SÃO PAULO E TRIÂNGULO/SUDOESTE MINEIRO CENÁRIO EM ABRIL/2025**. Araraquara, SP, Brasil.

FUNDECITRUS - Fundo de Defesa da Citricultura. 2025b. **Safra de laranja 2024/25 é encerrada com produção total de 230,87 milhões de caixas**. Notícias Agrícolas, 13 jun. 2025. Disponível em: <https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/laranja-citrus/398412-fundecitrus-safra-de-laranja-2024-25-e-encerrada-com-producao-total-de-230-87-milhoes-de-caixas.html>. Acesso em: 14 jun. 2025.

Fundecitrus (2024). **Estimativa da Safra de Laranja 2024/25 do Cinturão Citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro – Cenário em Maio/2024**. Fundecitrus.

Gao C, et al. (2023). Comparative transcriptome profiling of susceptible and tolerant citrus species at early and late stage of infection by "Candidatus Liberibacter asiaticus". **Frontiers in Plant Science**, 14, 1191029.

Girardi EA et al (2021) **Guia de Reconhecimento dos Citros em Campo: Um Guia Prático Para o Reconhecimento em Campo de Variedades de Laranjeira-Doce e Outras Espécies de Citros Cultivadas No Estado de São Paulo e Triângulo Mineiro**. Araraquara: Fundecitrus, 158 p.

Girardi EA, Cerqueira TS, Cantuarias-Avilés TE, Silva SRD, Stuchi ES (2017) Sunki mandarin and Swingle citrumelo as rootstocks for rain-fed cultivation of late-season sweet orange selections in northern São Paulo state, Brazil. **Bragantia** 76, 501-511 p. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.2016.350>

Girardi EA, Sola JGP, Scapin MDS, Moreira AS, Bassanezi RB, Ayres AJ, Peña L (2021). The perfect match: adjusting high tree density to rootstock vigor for improving cropping and land use efficiency of sweet orange. **Agronomy**, 11: 2569.

Gonzatto MP, Griebeler SR, Schwarz SF (2022) Porta-enxertos anões para pomares cítricos de alta densidade. In: **Indústria de frutas**. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102851>

Graça, JV (1991). Citrus greening disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, 29:109-136.

Granier AA (1985) New method of sap flow measurement in tree stems. **Annales des Sciences Forestières**. Les Ulis, 42:193-200.

Griebeler SR, Gonzatto MP, Santos JS, Boettcher GN, Schwarz SF (2025). **Plant Growth Regulators and Biostimulants as Alternatives for Managing Flowering and Fruiting of Mandarins**. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.1012506

Hartmann HT, Kester DE, Davies JRFT, Geneve RL (2011) **Plant propagation: principles and practices**. 8. ed. Boston: Prentice Hall.

Hayat F, et al (2022). A mini review of citrus rootstocks and their role in high-density orchards. **Plants**, 11:2876.

Hedden P (2020). The current status of research on gibberellin biosynthesis. **Plant and Cell Physiology**, 61:1832-1849.

Höpfl L, Hensel DS, Hensel M, Ludwig F (2021) Initiating research into adapting rural hedging techniques, hedge types, and hedgerow networks as novel urban green systems. **Land**, 10:529 doi: <https://doi.org/10.3390/land10050529>

Hosseinzadeh S, Heck M (2023). Variations on a theme: factors regulating the interaction between *Diaphorina citri* and the vector *Candidatus Liberibacter asiaticus* and the citrus huanglongbing pathogen. **Current Opinion in Insect Science**, 56, 101025.

Ibell PT, Normand F, Wright CL, Mahmud K, Bally ISE (2024). Efeitos da densidade de plantio, sistema de condução e cultivar no crescimento vegetativo e na produção de frutos em mangueiras jovens (*Mangifera indica* L.). **Horticulturae**, 10:937. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10090937>

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2022) **Produção agrícola municipal**. Recuperado em: 11 de nov 2023 <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1618#resultado>

IDT – Integrated DNA Technologies. OligoAnalyzer Tool. Coralville, 2025. Primer analysis and Tm Calculator | Disponível em: <https://www.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer>.

Kamatyanatti M, Singh SK (2019). **Recent advances in citrus propagation and planting**. Advances in Horticultural Crop Management and Value Addition, 1.

Kato M, Matsumoto H, Ikoma Y, Okuda H, Yano M (2006) **The role of carotenoid cleavage dioxygenases in the regulation of carotenoid profiles during maturation in citrus fruit**. J Exp Bot 57:2153–2164

Kotoda N, Matsuo S, Honda I, Yano K, Shimizu T (2016). Isolation and functional analysis of two Gibberellin 20-oxidase genes from Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). **The Horticulture Journal**, 85:128-140

Kushiro T, et al (2004). The Arabidopsis cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 8'-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism. **The EMBO journal**, 23:1647-1656.

Ladaniya MS, Marathe RA, Murkute AA, Huchche AD, Das AK, George A, Kolwadkar J. (2021). Response of Nagpur mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) to high density planting systems. **Scientific Reports**, 11, 10845.

Lavagi-Craddock I, Campos R, Pagliaccia D, Kapaun T, Lovatt C, Vidalakis G (2020). Citrus dwarfing viroid reduces canopy volume by affecting shoot apical growth of navel orange trees grown on trifoliate orange rootstock. **Journal of Citrus Pathology**, 7(1).

Lavagnini CG, Di Carne CAV, Correa F, Henrique F, Tokumo LE, Silva MH, Santos PCS (2014). Fisiologia vegetal-hormônio giberelina. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, 25:48-52.

Leão PCS, Chaves ARM (2020). Sistemas de condução e suas influências na produtividade e desempenho agrônomo de videiras Syrah e Chenin Blanc no Vale do São Francisco. **Circular Técnica**, 180). Embrapa Uva e Vinho. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1128670>

Li J, Chen J, Huang W, Chen X, Li C, Xu M, Deng X, Zheng, Z. (2025). Dual anatomical and transcriptomic analysis reveals the interaction of "Candidatus Liberibacter asiaticus" and the citrus host in young shoots at different growth stages. **Horticultural Plant Journal**.

Li W, Hartung JS, Levy L (2016) Quantitative real-time PCR for detection and identification of Candidatus Liberibacter species associated with citrus Huanglongbing. **Journal of Microbiological Methods**, 66:104-115.

Limayem A, Martin EM, Shankar S (2024). Study on the citrus greening disease: Current challenges and novel therapies. **Microbial Pathogenesis**, 192, 106688.

Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of Relative Gene Expression Data using Real-Time Quantitative PCR and the 2⁻Ct method. **Methods**, 25:402-408.

Mapa Ministério da Agricultura e Pecuária (2021) Prevenção e Erradicação do Huanglongbing (HLB). Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/sanidade-vegetal/HLB>. Publicado em 17 maio 2021. Atualizado em 08 jul. 2025. Acesso em: 6 out. 2025.

Martínez-Cuenca MR, Primo-Capella A, Forner-Giner MA (2016). Influence of Rootstock on Citrus Tree Growth: Effects on Photosynthesis and Carbohydrate Distribution, Plant Size, Yield, Fruit Quality, and Dwarfing Genotypes. In: **Plant Growth**. InTechOpen.

Martin-Gorritz B, Martinez-Barba C, Torregrosa, A. (2021). Lemon trees response to different long-term mechanical and manual pruning practices. **Scientia Horticulturae**, 275, 109700.

Matias P, Barrote I, Neto L, Guerrero C, Marques N, Duarte A (2023). **Poda de Citrinos na Região Mediterrânica. Manual Técnico.**

Matias P, Duarte A (2021). **A poda de citrinos.** Tecnologias de produção: Podas e enxertias. Agrotec.

Mattos Junior D, De Negri JD, Figueiredo JO, Pompeu Junior J (2014) Citros: principais informações e recomendações de cultivo. In: Aguiar ATE, Gonçalves C, Paterniani MEAGZ, Tucci MLS, Castro CEF (Org.). **Boletim IAC**, n. 200. 7^a.ed. Campinas/SP: IAC., p. 140-149.

Mendonça V, Ramos JD, Rufini JCM, Araújo Neto SED, Rossi EP (2006). Qualidade de frutos da tangerina 'Ponkan' após poda de recuperação. **Ciência e Agrotecnologia**, 30:271-276.

Meneguim L, Buassi M, Vilas-Boas LA, MarquesMarçal VV, Paccola-Meirelles LD, Leite Jr. RP (2008). Ocorrência de Candidatus Liberibacter asiaticus agente causal do Huanglongbing no estado do Paraná. *Tropical Plant Pathology* 33:100.

Mesejo C et al (2016) Gibberellin reactivates and maintains ovary-wall cell division causing fruit set in parthenocarpic Citrus species. **Plant Science**, 247:13-24.

Miele A, Mandelli F (2016). Sistemas de condução da videira: latada e espaldeira. In: Silveira SV, Horffmann A, Garrido LR. (Ed.). **Produção integrada de uva para processamento: implantação do vinhedo, cultivares e manejo da planta.** Brasília, DF: Embrapa. 3:41-49.

Moreira AS, Stuchi ES, Silva PR, Bassanezi RB, Girardi EA, Laranjeira FF (2019). Could tree density play a role in managing Citrus Huanglongbing epidemics? **Tropical Plant Pathology**, 44:268-274.

Moretti A (1950). La siepe fruttifera di Bouché-Thomas in Francia. **Humus**, 3:13-16, Acesso em: 2021.

Mouhaya W (2008). **Caractérisation physiologique et moléculaire de la tolérance au stress salin chez les porte-greffe tétraploïdes d'agrumes.** UFR Ciencias et techniques. Université de Corse-Pascal Paoli, Corte, p 202

Mourão Filho FAA, Mischon MM, Salibe AA (1991). Efeito de diferentes porta-enxertos no vigor e produtividade da laranja 'Pera' (*Citrus sinensis* L.). **Anais ESALQ**, Piracicaba, SP.

Musacchi S, Iglesias I, Neri D (2021) Training systems and sustainable orchard management for European pear (*Pyrus communis* L.) in the Mediterranean area: A review. **Agronomy**, 11:1765. NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

NCBI – National Center for Biotechnology Information. NCBI Database. Bethesda: NIH, 2025. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Nehela Y, Hijaz FA, Elzaawely AA, El-Zahaby HM, Killiny N (2018) Citrus phytohormonal response to Candidatus Liberibacter asiaticus and its vector Diaphorina citri. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 102:24-35, ISSN 0885-5765, <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.11.004>.

Noda K, Okuda H, Iwagaki I (2000) Indole acetic acid and abscisic acid levels in new shoots and fibrous roots of citrus scion-rootstock combinations. **Scientia Horticulturae**, 84:245-254. doi: [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(99\)00080-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(99)00080-1)

North GB, Nobel OS (1992) Drought-induced changes in hydraulic conductivity and structure in roots of Ferocactus acanthodes and Opuntia ficus-indica. **New Phytologist**, 120:9-19.

Oliveira RP (2016). **Sistema de Produção de Mudanças de Citros**. Embrapa Clima Temperado, ISSN 1806-9207 1.

Oliveira RP, Schuch JLD, Carvalho FLC, Scivittaro WB, Souza PVD (2016). **Análise de sistemas de produção de mudas de citros utilizados em viveiros telados no Rio Grande do Sul**. Embrapa Clima Temperado, (Documentos / Embrapa Clima Temperado, ISSN 1516-8. 69 p

Oliveira VDS, Zucoloto M, Ferreira LDS, Barbosa DHSG, Soares WDS, Passos OS (2023). Caracterização físico-química de frutos de laranja-doce sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 45, e-814.

Parolin LG et al. (2017). **Produção de mudas de citros em viveiro protegido, utilizando diferentes combinações de copa e de porta-enxerto**.

Pearce SC, Doberšek-Urbanc S (1967) The measurement of irregularity in growth and cropping. **Journal of Horticultural Science**, 42:295-305. doi: <https://doi.org/10.1080/00221589.1967.11514216>

Piner GF (1988) Planting Citrus at Ultra High Densities – A Review of Developments in Southern Africa with Special Reference to Angle Planting. In Goren R, Mendel k (Eds) **Citriculture**. Proceedings of the Sixth International Citrus Congress Middle-East. 2:931-939.

Pompeu Junior J (2005). Porta-enxertos. In: Mattos Junior D, De Negri JD, Pio RM, Pompeu Junior J. (Eds.) **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag, p. 929.

Poorter L, McDonald I, Alarcón A, Fichtler E, Licona JC, Peña-Claros M, Sterck F, Villegas Z, Sass-Klaassen U (2010) The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. **New Phytologist**, 185:481-492 <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03092.x>

Primer3. Primer3 (version 3.0). 2025. Disponível em: <http://primer3.ut.ee/>.

Rabe E (2000) Citrus canopy management: effect of nursery tree quality, trellising and spacing on growth and initial yields. **Acta Horticulturae**, 515, p.273-279.

Malavolta E, Vitti GC, Oliveira AS (1997). Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. **Potafos**, Piracicaba.

Ramadugu C, Keremane ML, Halbert SE, Duan YP, Roose ML, Stover E, Lee RF (2016) Long-term field evaluation reveals Huanglongbing resistance in Citrus relatives. **Plant Disease**, 100:1858-1869 doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-16-0271-RE>

Revista cultivar (2025) **Citricultura destaca-se na geração de emprego na safra 2023-24**. Disponível em: <https://revistacultivar.com.br/noticias/citricultura-destaca-se-na-geracao-de-emprego-na-safra-2023-24>.

Rey JY (2000). **Architectural development of some citrus trees from seed planting to first blooming**.

Rodrigues JD, Moreira AS, Stuchi ES, Bassanezi RB, Laranjeira FF, Girardi EA (2020) Huanglongbing incidence, canopy volume, and sprouting dynamics of 'Valencia' sweet orange grafted onto 16 rootstocks. **Tropical Plant Pathology**, 45:611-619 doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s40858-020-00385-2>

Rodrigues JD, Moreira AS, Stuchi ES, Bassanezi RB, Laranjeira FF, Girardi EA (2020). Huanglongbing incidence, canopy volume, and sprouting dynamics of 'Valencia' sweet orange grafted onto 16 rootstocks. **Tropical Plant Pathology**, 45:611-619.

Rolim GDS, Camargo MBPD, Lania DG, Moraes JFLD (2007) Classificação climática de Köppen e de Thornthwaite e sua aplicabilidade na determinação de zonas agroclimáticas para o estado de São Paulo. **Bragantia**, 66:711-720. doi: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052007000400022>

Romero P, Rodrigo MJ, Alférez F, Ballester AR, González-Candelas L, Zacarías L, Lafuente MT (2012) **Unravelling molecular responses to moderate dehydration in harvested fruit of sweet orange (Citrus sinensis L. Osbeck) using a fruit-specific ABA-deficient mutant**. J Exp Bot.63(7):2753-67. doi: 10.1093/jxb/err461. Epub 2012 Feb 7. PMID: 22315241; PMCID: PMC3346234.

Silva SR et al. (2013) Desempenho da tangerineira 'Span Americana' em diferentes porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 35:1052-1058.

Sobrinho APC, Passos OS, Soares-Filho WS, Girardi EA. (2017) Propagação. In: Sobrinho APC, Magalhães AFJ, Souza AS, Passos OS, Soares-Filho WS (Eds.) **Cultura dos citros**. Brasília: Embrapa, p. 233-292.

Sobrinho JT, Salibe AA, Figueiredo JD, Schinor EH (2002). Adensamento de plantio para laranjeira 'Hamlin' sobre limoeiro 'Cravo' em Cordeirópolis (SP). **Laranja**, Cordeirópolis, 23:439-52.

Souza JSI (1983) Poda das plantas frutíferas. São Paulo: **Biblioteca Rural Nobel**, p. 127.

- Srivastava AK (2012) Advances in citrus nutrition. **Springer**, New York.
- Stanfield RC, Bartlett MK (2022). Coordination between phloem loading and structure maintains carbon transport under drought. **Frontiers in plant science**, 13, 787837.
- Stuchi ES (2017). Controle do tamanho de plantas cítricas. **Citrus Research e Technology**, 33:91-112.
- Stuchi ES et al (2012). **Trifoliata Flying Dragon: Porta-enxerto para plantios adensados e irrigados de laranjeiras doces de alta produtividade e sustentabilidade**.
- Stuchi ES et al. (2011) Avanços na citricultura brasileira. In: Mattos Junior D et al. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo. cap. 10, p. 325–350.
- Swingle WT, Reece PC (1967) History, world distribution, botany, and varieties. In: Reuther W, Webber HJ, Batchellor LD (Eds.) **The Citrus Industry**. University of California Press, Berkeley, p. 190-430.
- Syvertsen JP, Graham JH (1985). Hydraulic conductivity of roots, mineral nutrition, and leaf gas exchange of citrus rootstocks. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 110:865-869.
- Taiz L, Zeiger E (2007). **Fisiologia vegetal** (Vol. 10). Universitat Jaume I.
- Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A (2017). **Fisiologia e desenvolvimento vegetal** (6ª ed.). Artmed.
- Tan BC, Schwartz SH, Zeevaart JA, McCarty DR (2003). Molecular characterization of the Arabidopsis 9-cis epoxycarotenoid dioxygenase gene family. **The Plant Journal**, 35:44-56. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2003.01786.x>
- Teichmann T, Muhr M (2015) Shaping plant architecture. **Frontiers in Plant Science**, 6:233 doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00233>
- Teófilo Sobrinho J, Stuchi ES, Donadio LC, Barbosa JC (2012). Adensamento de plantio da laranjeira 'Valência' sobre trifoliata. **Citrus Research e Technology**, 33:49-58. <https://doi.org/10.5935/2236-3122.20120005>
- Tworkoski T, Miller S (2007) Apple tree growth response to rootstock genotype and exogenous hormones. **Scientia Horticulturae**, v. 114, n. 1, p. 8-15.
- Tyree MT, Salleo S, Nardini A, Lo Gullo MA, Mosca R (1999) Refilling of embolized vessels in young stems of laurel. Do we need a new paradigm? **Plant Physiology**, 120:11-22 <https://doi.org/10.1104/pp.120.1.11>
- Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M e Rozen SG (2012) Primer3--new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res.* 1º de agosto de 2012, 40(15):e115. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3424584/>

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (2023) Citrus: **World Markets and Trade**. Disponível em: citrus.pdf (usda.gov). Acesso em: 25/11/2023.

Vashisth T, Zekri M, Alferez F (2017). Canopy Management of Citrus Trees: CMG16/HS1303, 5/2017. **EDIS**, 2017, 3-3.

Vellame LM, Coelho Filho MA, Paz VP (2009). Transpiração em mangueira pelo método Granier. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 13: 516-523.

Vellame LM, Coelho RD, Tolentino JB (2012). Transpiração de plantas jovens de laranjeira 'valência' sob porta-enxerto limão'cravo' e citrumelo 'swingle' em dois tipos de solo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 34:24-032.

Venção Neto E, Carvalho TR, Furlanetti AC (2024). PSILÍDEO DO CITROS (DIAPHORINA CITRI): ameaça silenciosa aos pomares de citros e como controlá-la. **Revista Interface Tecnológica**, 21:612-623.

Vera CHR, Cevallos FJQ, Quiñónez EFM, Maldonado AAB (2024). Un estudio bibliométrico de los principales reguladores de crecimiento: Citoquininas, Auxinas y Giberelinas en las plantas. **Maestro y Sociedad**, 21:2202-2207.

Wang N, Gai Z, Xu Q (2025). Physiological and molecular insights into citrus rootstock–scion interactions: compatibility, signaling, and impact on growth, fruit quality and stress responses. **Horticulturae**, 11:1110.

Woldegebriel AM (2025). Retracted: Canopy management improves better orchard light penetration, optimum tree growth, and fruit quality of apple (*Malus domestica* Borkh.) trees grown in mild winter tropical condition. **European Journal of Horticultural Science**, 90(1).

Wu G, Terol J, Ibanez V (2018) Genomics of the origin and evolution of Citrus. **Nature** 554:311-316. <https://doi.org/10.1038/nature25447>. 2018.

Wu W, Du K, Kang X, Wei H (2021). The diverse roles of cytokinins in regulating leaf development. **Hortic Res.** 8:118. doi: 10.1038/s41438-021-00558-3. PMID: 34059666; PMCID: PMC8167137.

Yamaguchi S (2008) Gibberellin metabolism and its regulation. **Annual Review of Plant Biology**, 59:225-251.

Yonemoto Y, Matsumoto K, Furukawa T, Asakawa M, Okuda H, Takahara T (2004). Effects of rootstock and crop load on sap flow in 'Shirakawa Satsuma' mandarin branches (*Citrus unshiu* Marc.). **Scientia Horticulturae**, 102:295-300.

Zhang Y, Zhang Y, Sun Q, Lu S, Chai L, Ye J, Deng X (2021). O fator de transcrição cítrico CsHB5 regula os genes biossintéticos do ácido abscísico e promove a senescência. **The Plant Journal**, 108:151-168.

Zhao Y (2010) Auxin biosynthesis and its role in plant development. **Annual Review of Plant Biology**. 61:49-64.