

MICROPROPAGAÇÃO DO LIMOEIRO CRAVO (*CITRUS LIMONIA* OSBECK)

*MICROPROPAGATION OF RANGPUR LIME (*CITRUS LIMONIA* OSBECK)*

*MICROPROPAGACIÓN DE LIMONERO RUGOSO (*CITRUS LIMONIA* OSBECK)*

Micheli Reis da Rocha

Mestranda em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria. Orcid: <https://orcid.org/0009-0009-3598-5659>. E-mail: micheli.reisdarocho@gmail.com

Nilton Cesar Mantovani

Universidade Federal de Santa Maria, campus Frederico Westphalen. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6339-7215>. E-mail: mantovani.nilton@gmail.com

Hendrick da Costa de Souza

Doutorando em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6223-0085>. E-mail: hendricksouza96@gmail.com

ABSTRACT:

Micropropagation is an important tool for the genetic improvement of several tree species and, for the genus *Citrus*, it offers great potential for the *in vitro* production of high-quality rootstocks. The success of micropropagation is influenced, among other factors, by the type and concentration of growth regulators added to the culture medium. Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of different cytokinins on the induction and growth of shoots, as well as the effects of different concentrations of IBA on the induction and formation of adventitious roots in nodal segments of Rangpur lime (*Citrus limonia* Osbeck), excised from seedlings germinated *in vitro*. For shoot induction, the cytokinins BAP, KIN and TDZ were tested, added to the WPM culture medium at a concentration of 1,0 mg L⁻¹, and for the induction and formation of adventitious roots, the concentrations 0,5; 1,0; 1,5 and 2,0 mg L⁻¹ of the auxin IBA added to the WPM medium. The superiority of BAP as a sprouting inducer was observed, and its addition to the culture medium provided a higher percentage of sprouted explants (87.5%) and a higher average number of sprouts per explant (1,75). The TDZ induced hyperhydration in 91,7% of the explants. The concentration of 1,5 mg L⁻¹ of IBA in the nutrient medium is the most indicated for the formation of adventitious roots, promoting a higher percentage of rooting (100%), average number of roots per explant (2,83) and average root length (42,74 mm).

KEYWORDS: *In vitro* regeneration. Cytokinin. Auxin. Rootstocks.

RESUMO:

A micropropagação é uma importante ferramenta para o melhoramento genético de diversas espécies arbóreas e, para o gênero *Citrus*, oferece um grande potencial para a produção *in vitro* de porta-enxertos de alta qualidade. O sucesso da micropropagação é influenciado, entre outros fatores, pelo tipo e concentração de reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes citocininas na indução e no crescimento de brotos, bem como os efeitos de distintas concentrações de AIB na indução e formação de raízes adventícias em segmentos nodais de limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck) excisados de plântulas germinadas *in vitro*. Para a indução de brotos foram testadas as citocininas BAP, KIN e TDZ, adicionadas ao meio de cultura WPM na concentração de 1,0 mg L⁻¹ e, para a indução e formação de raízes adventícias foram testadas as concentrações 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg L⁻¹ da auxina AIB adicionadas ao meio WPM. Foi constatada a superioridade do BAP como indutor de brotações, sendo que sua adição ao meio de cultura proporcionou maior percentual de explantes brotados (87,5%) e maior número médio de brotos por explante (1,75). O TDZ induziu hiperidrificação em 91,7% dos explantes. A concentração de 1,5 mg L⁻¹ de AIB no meio nutritivo é a mais indicada para formação de raízes adventícias, promovendo maior porcentagem de enraizamento (100%), número médio de raízes por explante (2,83) e comprimento médio de raízes (42,74 mm).

PALAVRAS-CHAVE: Regeneração *in vitro*. Citocinina. Auxina. Porta-enxerto.

RESUMEN:

La micropropagación es una herramienta importante para el mejoramiento genético de diversas especies arbóreas y, en el caso del género *Citrus*, ofrece un gran potencial para la producción *in*

vitro de portainjertos de alta calidad. El éxito de la micropropagación está influenciado, entre otros factores, por el tipo y la concentración de reguladores de crecimiento añadidos al medio de cultivo. De este modo, el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de diferentes citocininas en la inducción y crecimiento de brotes, así como los efectos de distintas concentraciones de AIB en la inducción y formación de raíces adventicias en segmentos nodales de limonero rugoso (*Citrus limonia* Osbeck), extraídos de plántulas germinadas *in vitro*. Para la inducción de brotes se probaron las citocininas BAP, KIN y TDZ, añadidas al medio de cultivo WPM en la concentración de 1,0 mg L⁻¹; y para la inducción y formación de raíces adventicias se evaluaron las concentraciones de 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 mg L⁻¹ de la auxina AIB, también añadidas al medio WPM. Se constató la superioridad del BAP como inductor de brotación, ya que su adición al medio de cultivo proporcionó un mayor porcentaje de explantes brotados (87,5%) y un mayor número promedio de brotes por explante (1,75). El TDZ indujo hiperhidratación en el 91,7% del explantes. La concentración de 1,5 mg L⁻¹ de AIB en el medio nutritivo es la más indicada para la formación de raíces adventicias, promoviendo el mayor porcentaje de enraizamiento (100%), número promedio de raíces por explante (2,83) y longitud promedio de raíces (42,74 mm).

PALABRAS CLAVE: Regeneración *in vitro*. Citocinina. Auxina. Portainjerto.

INTRODUÇÃO

A citricultura assume um papel de extrema relevância na economia brasileira, destacando-se por impulsionar o desenvolvimento socioeconômico e por desempenhar um papel crucial na balança comercial do país, atuando como fonte direta e indireta de empregos (United States Department Of Agriculture, 2020). O cultivo de *Citrus* abrange, além da laranja, que figura como principal produto nessa cadeia produtiva, também a tangerineira, lima ácida e diversas espécies de limoeiros, tornando a citricultura uma das principais atividades agrícolas do mundo (Barbara, 2022).

A espécie *Citrus limonia* Osbeck, conhecida popularmente como limoeiro cravo, se destaca por suas qualidades notáveis como porta-enxerto, tais como o sistema radicular vigoroso em diferentes tipos de solo, a ampla compatibilidade com as variedades de copa do mesmo gênero quando enxertadas, além de apresentar boa resistência à seca e a patógenos. Por essas razões, tornou-se o principal porta-enxerto utilizado no país, chegando a representar quase a totalidade dos porta-enxertos dos plantios em determinados anos (Oliveira et al., 2017).

O gênero pode ser propagado tanto de forma sexuada, via seminal, quanto assexuada, por apomixia, estaquia, miniestaquia, mergulhia, enxertia e micropropagação (Efron; Souza, 2018).

A micropropagação ou propagação vegetativa *in vitro*, uma das técnicas da cultura de tecidos vegetais, é uma importante ferramenta para o melhoramento genético de diversas espécies arbóreas, pois permite a fixação de ganhos genéticos obtidos em programas de melhoramento,

possibilitando a evolução do setor florestal por meio da multiplicação de genótipos de interesse e altamente produtivos.

Nesta técnica, órgãos e tecidos de plantas são introduzidos *in vitro*, estabelecidos e mantidos em culturas assépticas, em condições controladas de nutrição, luminosidade e temperatura, para regenerar novas plantas (Hartmann et al., 2011), processo que tem se mostrado de grande importância prática e potencial na agroindústria de flores, espécies florestais, olerícolas e frutíferas, principalmente do gênero *Citrus*.

Segundo Mantovani & Franco (1998), a técnica mais utilizada para a micropropagação de plantas lenhosas em larga escala é a proliferação de gemas axilares, que envolve o isolamento e inoculação de segmentos nodais contendo gemas axilares em meio de cultura, sendo estas gemas estimuladas a crescer, se desenvolvendo e originando brotações. As novas brotações podem ser isoladas e manipuladas como microestacas, multiplicadas ou enraizadas, formando uma planta completa, em um processo contínuo *in vitro* ou *ex vitro*. Esta técnica é considerada relativamente fácil de ser realizada devido ao tamanho dos explantes, que permite melhor manipulação. Ainda, esta técnica possibilita gerar plantas geneticamente mais estáveis (Bonga, 1985; Trueman; Hung; Wendling 2018) por utilizar gemas axilares pré-formadas.

Segmentos nodais podem ser obtidos de brotos de plantas em condições *ex vitro*, no entanto, estes explantes apresentam, geralmente, fungos e bactérias que, em condições *in vitro*, manifestam-se impossibilitando a técnica, mesmo depois de serem submetidos a tratamentos de desinfestação (Mantovani, 2007). Por esta razão, a utilização de segmentos nodais de plântulas germinadas *in vitro* pode evitar este problema, visto que sementes extraídas de frutos de limão intactos tem se apresentado isentas de contaminantes biológicos (Rocha; Mantovani; Souza, 2024).

A definição do tipo de regulador de crescimento e de sua concentração ótima a serem adicionados ao meio de cultura constituem importantes passos nos processos regenerativos induzidos *in vitro*, pois são indispensáveis para o desenvolvimento vegetal nestas condições, devendo ser ajustados conforme a espécie utilizada e objetivos desejados. Para a indução de brotos em segmentos nodais geralmente são adicionadas ao meio de cultura fontes exógenas de citocininas, que possibilitam a quebra da dominância apical, estimulando a proliferação das gemas axilares (Grattapaglia; Machado, 1998). Do grupo das citocininas, as mais comumente utilizadas na cultura de tecidos são a Cinetina (KIN) (6-furfurilaminopurina) e o BAP (6-benzilaminopurina). Além destas, também o Thidiazuron (TDZ) é utilizado na micropropagação pelo fato de ser um regulador de crescimento que apresenta função ambígua, podendo desempenhar papel tanto de citocinina quanto de auxina.

Por outro lado, as auxinas são empregadas quando o objetivo é a indução de raízes adventícias ou calos (Barrueto Cid; Teixeira, 2010), ou ainda, quando o objetivo é a indução embriogênica ou morfogênica de forma indireta (Mantovani; Franco, 1998). Dentre as auxinas, o AIB (ácido indol-3-butírico) se destaca como a melhor para indução de raízes *in vitro* e tem sido utilizado comercialmente para a propagação vegetativa de plantas, devido a sua eficácia no estímulo à formação de raízes adventícias (Melo, 2002).

A aplicação de técnicas de cultura de tecidos como a micropropagação para o gênero *Citrus*, apresenta grande potencialidade para a produção *in vitro* de porta-enxertos de alta qualidade, que poderão ser utilizados para a realização de enxertia, em condições de viveiro, como também, para a realização da microenxertia, totalmente em condições de cultivo *in vitro*.

Dessa maneira, este estudo teve como objetivos avaliar os efeitos de três diferentes citocininas na indução e no crescimento de brotos, bem como, os efeitos de distintas concentrações de AIB na indução e formação de raízes adventícias em brotos, utilizando segmentos nodais de limoeiro cravo excisados de plântulas germinadas *in vitro*.

METODOLOGIA

Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Santa Maria Campus Frederico Westphalen.

OBTENÇÃO DOS EXPLANTES, MEIO DE CULTURA E CONDIÇÕES DE CULTIVO *IN VITRO*

As plântulas fornecedoras de explantes foram obtidas da germinação *in vitro* de sementes de frutos de limão cravo, os quais foram lavados com esponja e detergente neutro em água corrente e, em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar, foram desinfestados superficialmente em álcool 100% e, após, flambados sobre chama de lamparina. Com auxílio de bisturis e pinças, os frutos foram abertos através de cortes transversais e deles foram excisadas as sementes.

As sementes foram inoculadas individualmente em tubos de ensaio (2,5 cm de diâmetro e 15 cm de comprimento) contendo cerca de 10 mL de meio de cultura para promover a germinação *in vitro*. O meio de cultura utilizado foi o WPM (Wood Plant Medium, de Lloyd & McCown, 1981), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e 6,8 g L⁻¹ de ágar. O meio teve o pH ajustado para 5,8 com HCl 1N (ácido clorídrico) ou NaOH 1N (hidróxido de sódio) antes da adição do ágar, sendo posteriormente autoclavado por 20 minutos à 121 °C em 1 atm de pressão.

O material inoculado foi transferido para sala de crescimento à temperatura de 25 °C, permanecendo no escuro até início da germinação e, em seguida, exposto à fotoperíodo de 16 horas sob intensidade luminosa de aproximadamente 36 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas fluorescentes branca-frias. Estas mesmas condições de luz e temperatura foram utilizadas para os experimentos. As plântulas obtidas da germinação das sementes foram utilizadas, posteriormente, para a excisão dos explantes e a realização de dois experimentos descritos a seguir.

INDUÇÃO DE BROTAÇÕES EM SEGMENTOS NODAIS

Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar três citocininas diferentes na indução e no crescimento de brotos em explantes de limoeiro cravo.

Em câmara de fluxo laminar, das plântulas de limoeiro, foram excisados ao longo do eixo epicótilo-caulinar explantes que consistiram em segmentos nodais, com cerca de 2 cm de comprimento, nos quais foram mantidas as folhas. Os explantes foram inoculados em frascos de vidro (capacidade de 300 mL), contendo aproximadamente 40 mL de meio de cultura WPM, e tampados com tampas plásticas transparentes. Foram testados os seguintes tratamentos: T1- testemunha, sem citocinina; T2- BAP (6-benzilaminopurina); T3- KIN (Cinetina) e T4- TDZ (Thidiazuron), adicionadas na concentração de 1,0 mg L⁻¹ ao meio de cultura.

O experimento foi organizado em delineamento inteiramente casualizado (IC), com 4 tratamentos em 6 repetições (frascos), contendo 4 explantes em cada repetição.

Aos 35 dias de cultivo foram avaliados o número de explantes com brotos novos formados, número de brotos novos por explante, e a presença de hiperidrificação nos novos brotos.

ENRAIZAMENTO DE SEGMENTOS NODAIS

Para o segundo experimento utilizou-se como fonte de explantes as plântulas de limoeiro obtidas na etapa inicial deste trabalho e ainda mantidas em condições *in vitro*. Os explantes consistiram em segmentos nodais, excisados ao longo do eixo epicótilo-caulinar, com cerca de 2 cm de comprimento, nos quais foram mantidos um par de folhas. Os explantes foram inoculados em frascos de vidro (capacidade de 300 mL), contendo cerca de 50 mL de meio de cultura WPM e tampados com tampas plásticas transparentes.

Os tratamentos testados consistiram em diferentes doses (mg L⁻¹) de AIB (ácido indol-3-butírico): T1- Testemunha, sem auxina; T2- 0,5; T3- 1,0; T4- 1,5 e T5- 2,0. O experimento foi organizado em delineamento inteiramente casualizado (IC), com 5 tratamentos em 6 repetições (frascos), contendo 4 explantes em cada repetição.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento, nas mesmas condições do experimento anterior. Aos 42 dias de cultivo foram realizadas as avaliações quanto ao número de explantes enraizados, número de raízes por explante e comprimento das raízes.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

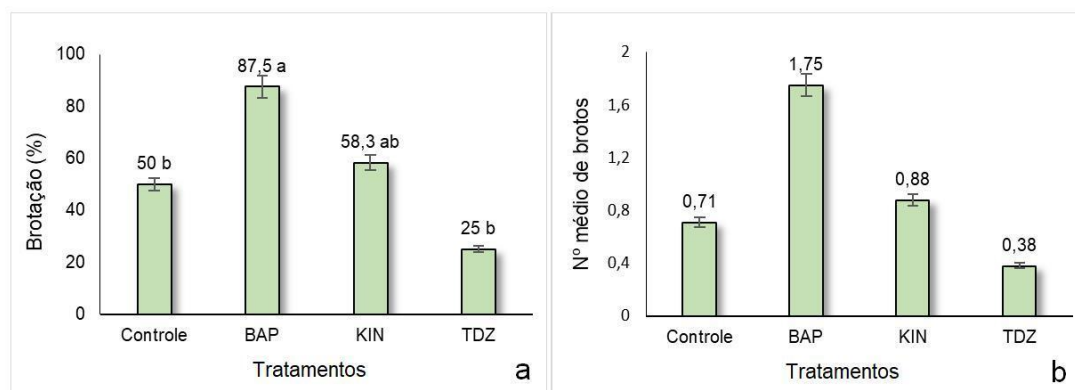
As análises estatísticas foram realizadas através da ANOVA (análise de variância), aplicando-se regressão para as médias dos tratamentos quantitativos e o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação das médias dos tratamentos qualitativos, utilizando-se o software R Studio (R Core Team, 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

INDUÇÃO DE BROTAÇÕES EM SEGMENTOS NODAIS

Houve a formação de brotos nos explantes de todos os tratamentos testados, mesmo na ausência exógena da citocinina. A adição de BAP ou KIN ao meio de cultivo resultou nas maiores porcentagens de explantes brotados, 87,5% e 58,3%, respectivamente. O tratamento sem adição de citocinina (controle) induziu a formação de brotos em 50% dos explantes, não diferindo significativamente do tratamento em que o TDZ foi utilizado (Gráfico 1a).

Gráfico 1 – Efeitos de diferentes citocininas (1mg L^{-1}) sobre a frequência de brotação (a) e sobre o número médio de brotos (b) em segmentos nodais de limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck) aos 35 dias de cultivo *in vitro*. Em que: Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Barras verticais indicam erro padrão.



Fonte: Autores (2025).

O BAP promoveu a formação de maior número de brotos por explante (1,75), sendo superior às demais citocininas (Gráfico 1b). Resultado semelhante foi obtido por Radmann et al.

(2009) para *Prunus persica* (pessegueiro), com uma média de 1,25 brotos para cada explante utilizando a mesma citocinina e na mesma concentração.

O BAP também induziu a formação de brotações múltiplas nos explantes de limoeiro cravo, diferentemente das citocininas KIN e TDZ. Este comportamento foi também relatado por Caldas, Haridasan e Ferreira (1998), que descreveram que uma das principais diferenças entre a atuação das citocininas BAP e KIN é a capacidade do BAP de formar brotações múltiplas na multiplicação de diversas espécies, enquanto a KIN permite apenas o crescimento normal, sem a indução de múltiplas brotações.

O estímulo positivo do BAP sobre brotações em segmentos nodais foi comprovado também por Mantovani, Franco e Vestena (2001) com *Cordia trichotoma* (louro-pardo) e Souza et al. (2008) com *Eugenia uniflora* (pitangueira). Este efeito do BAP ocorre uma vez que esta citocinina apresenta a função de estimular fortemente os processos morfogênicos como a divisão e diferenciação celular (Taiz; Zeiger, 2004), sendo capaz de promover a quebra da dominância apical e da dormência das gemas axilares, culminando, assim, na formação de novos brotos. No limoeiro cravo este efeito se expressou no estímulo ao crescimento das gemas axilares e também na formação de brotos adventícios no explante (Figura 1).

Figura 1 – Brotações axilares e adventícias em segmento nodal de limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck).



Fonte: Autores (2025).

A brotação formada nos explantes inoculados em meio sem regulador de crescimento indica que não há necessidade de uma fonte exógena de citocinina para induzir a formação de brotos em segmentos nodais de limoeiro cravo. Este comportamento foi verificado também por

Kielse et al. (2009) no cultivo *in vitro* de para a *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho). Contudo, a adição de BAP ou KIN favoreceu a formação de mais brotos por explante nestas duas espécies.

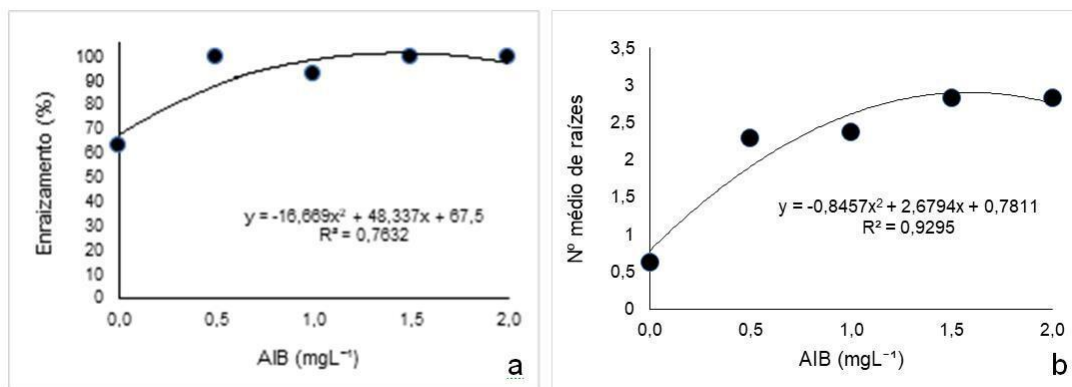
Das citocininas testadas, o TDZ induziu a menor formação de brotos, sendo também o único tratamento no qual foi possível observar a presença de hiperidrificação, sendo que os explantes encontravam-se com caules dilatados e as folhas se destacando, amarelas e quebradiças. Soares et al. (2011) também relataram efeitos semelhantes para o TDZ na micropropagação de *Hancornia speciosa* (mangabeira). Conforme Silva (2014), algumas desordens fisiológicas podem ocorrer durante a micropropagação de plantas, como a hiperidricidade, processo que se caracteriza pela formação de brotos com aspecto translúcido, inchados, com baixa porcentagem de massa seca e folhas túrgidas e fracas. Segundo a autora, esse fenômeno pode ocorrer devido a fatores como elevada umidade no interior do frasco de cultivo ou excesso de reguladores de crescimento.

A formação de menor número de brotos e a hiperidrificação com a utilização de TDZ podem estar relacionadas ao fato dessa citocinina ser mais ativa biologicamente que as demais (Soares et al., 2011), possuindo um efeito mais potente que as demais citocininas para muitas espécies, o que resultou na toxidez para o limoeiro cravo.

ENRAIZAMENTO DE SEGMENTOS NODAIS

O uso de AIB teve efeito significativo sobre as variáveis estudadas neste trabalho. O enraizamento foi observado na quase totalidade dos explantes cultivados nas diferentes dosagens de AIB e, inclusive, na ausência da auxina (controle) (Gráfico 2a). O número médio de raízes formadas por explante (Gráfico 2b), assim como a frequência de enraizamento, foi crescente até a concentração de 1,5 mg L⁻¹ de AIB, indicando que doses mais elevadas não promovem resultados superiores.

Gráfico 2 – Efeito das concentrações de AIB sobre a frequência de enraizamento (a) e sobre o número médio de raízes (b) por segmento nodal de limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck).



Fonte: Autores (2025).

Resultados semelhantes foram encontrados por Soares e Miranda (2016), que obtiveram 56% enraizamento de laranjeira Pêra e 70% para limoeiro cravo em meio sem adição de AIB. Todavia, tanto no presente estudo, quanto no estudo citado acima, a suplementação com auxina promoveu aumento considerável na frequência de enraizamento. A presença do AIB no meio de cultura, quando comparado com outras auxinas, também aumentou o índice de enraizamento em segmentos de *Didymopanax morototoni* (caixeta) (Mantovani, 1997). Albino et al. (2019), observaram que a maior taxa de enraizamento foi obtida com a concentração $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de AIB para espécie de jequitibá-branco (*Cariniana estrellensis*), enquanto para paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*) nenhuma dose testada desta auxina surtiu efeito sobre o enraizamento (Mendes et al., 2024).

Souza et al. (2011), relatam que o enraizamento adventício envolve a interação entre as auxinas endógenas, presentes nos tecidos do explante, e as exógenas, adicionadas no meio nutritivo. Para o limoeiro cravo, os altos índices de enraizamento observados, mesmo sem a adição de AIB ao meio nutritivo, permitem caracterizar esta espécie como de fácil enraizamento, justamente por possuir, provavelmente, níveis internos de auxina favoráveis à indução e formação radicial *in vitro*. Esta característica de fácil enraizamento potencializa o uso do limoeiro cravo como espécie para a formação de porta-enxertos no gênero *Citrus*.

A formação de raízes grossas ou calos é indesejável durante esta etapa, pois podem afetar negativamente a eficiência do sistema radicial. Em vez disso, é desejável que se formem raízes mais finas, já que essas são mais eficientes para absorver água e nutrientes do solo, como as observadas na Figura 2.

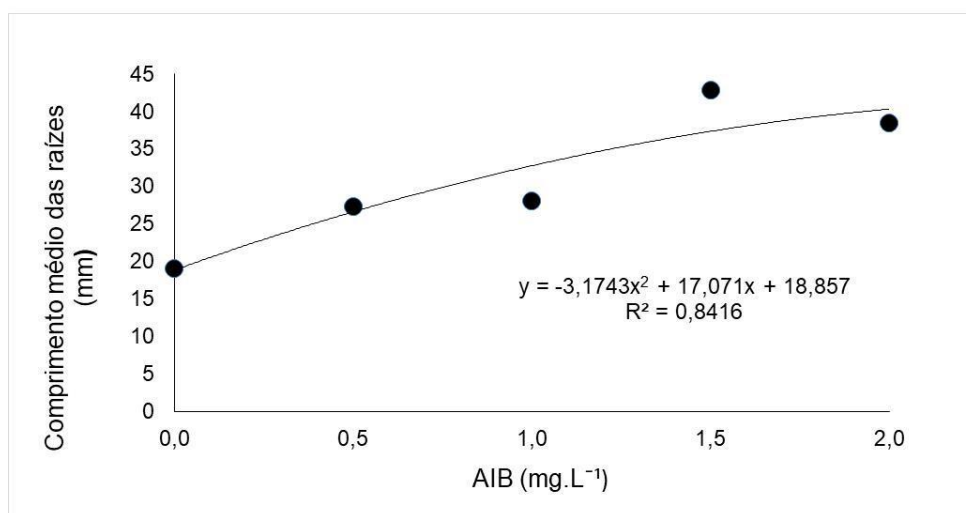
Figura 2 – Raízes adequadas para o desenvolvimento de limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck).



Fonte: Autores (2025).

A presença do AIB no meio nutritivo estimulou o maior comprimento médio das raízes do limoeiro cravo, sendo que na ausência desta auxina as raízes formadas apresentavam menores comprimentos. A influência da concentração de AIB sobre o comprimento das raízes é observado à medida que o aumento da dose foi acompanhado pelo aumento no comprimento das raízes emitidas, até a dose de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Efeito das concentrações de AIB sobre o comprimento médio das raízes de segmentos nodais de limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck).



Fonte: Autores (2025).

Segundo Freitas, Barroso e Carneiro (2008), o comprimento e número de raízes são indicadores da capacidade da planta de explorar e aproveitar, posteriormente, os recursos disponíveis no solo. Dessa forma, a formação de um sistema radicial de qualidade em plantas que poderão ser utilizadas como porta-enxertos é de extrema importância, visto que a capacidade do porta-enxerto de absorver mais água e colocar a raiz em contato com os nutrientes propiciaria uma maior absorção destes, elevando os níveis nutricionais da planta, influenciando, assim, o vigor e crescimento da copa enxertada (Vitti, 1992).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam a possibilidade de propagação *in vitro* de limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck) através da indução de crescimento e proliferação de gemas axilares em segmentos nodais de plântulas a partir de sementes germinadas *in vitro*.

As citocininas tem efeito na proliferação das gemas axilares, sendo que o BAP induz brotações em maior frequência e quantidade, enquanto o TDZ induz hiperidricidade na grande maioria dos explantes, prejudicando o desenvolvimento de brotos.

A adição de AIB ao meio de cultura estimula a rizogênese adventícia em segmentos nodais. A concentração de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ desta auxina proporciona maior índice de enraizamento e comprimento radicial.

Esta metodologia proporciona a produção de porta-enxertos de limoeiro cravo para a enxertia no gênero *Citrus* tanto *in vitro* como em viveiro.

REFERÊNCIAS

ALBINO, B. É. S. *et al.* Propagação *in vitro* de Jequitibá-Branco (*Cariniana estrellensis*): Uma alternativa para programas de reflorestamento. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, v. 13, p. 88-99. jun. 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/333991985_propagacao_in_vitro_de_jequitiba-branco_cariniana_estrellensis_uma_alternativa_para_programas_de_reflorestamento. Acesso em: 14 set. 2024.

BARBARA, G. *Reguladores vegetais e fertilizantes foliares na indução floral e produção da lima ácida tahiti (Citrus latifolia) e tangerina ponkam (Citrus reticulata)*. 44 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, Ilha Solteira, 2022. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/773a736f-2383-4e7e-bdca-f93bf82cc1c2/content>. Acesso em: 09 mai. 2025.

BARRUETO CID, L. P.; TEIXEIRA, J. B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: BARRUETO CID, L. P. *Cultivo in vitro de plantas*. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2010. p. 15-49.

BONGA, J. M. Tissue culture techniques. In: BONGA, J. M., DURZAN, D. J. *Tissue culture in forestry*. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1985. p. 4-35. Disponível em: <https://www.hzu.edu.in/uploads/2020/10/Cell-and-Tissue-Culture-in-Forestry-General-Principles-and-Biotechnology.pdf>. Acesso em: 18 set. 2023.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPB, 1998. v.1, p. 87-132.

EFROM, C. F. S.; SOUZA, P. V. D. de. *Citricultura do Rio Grande do Sul: indicações técnicas*. 1. ed. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI; DDP, 2018. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201805/15144652-citricultura-do-rio-grande-do-sul-indicacoes-tecnicas-efrom-souza.pdf>. Acesso em: 12 set. 2023.

FREITAS, T. A. S.; BARROSO, D. G.; CARNEIRO, J. G. A. Dinâmica de raízes de espécies arbóreas: visão da literatura. *Ciência Florestal*, v.18, p.133-142, 2008. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/534/53418112.pdf>. Acesso em: 10 out. 2024.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPB, 1998. v.1, p.183-260.

KIELSE, P. *et al.* Regeneração *in vitro* de *Parapiptadenia rigida*. *Ciência Rural*, v. 39, n. 4, p. 1088–1094, jul. 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/yjSpHPQG3byYYHN8vrCnRKw/>. Acesso em: 24 jul. 2024.

MANTOVANI, N.C. *Estudo da regeneração in vitro de caixeta (Didymopanax morototoni (Aubl.) Dcne et Planch.* Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1997.

MANTOVANI, N. C.; FRANCO, E. T. H. *Cultura de tecidos de plantas lenhosas*. Santa Maria: UFSM, CEPEF, FATEC, 1998.

MANTOVANI, N. C.; FRANCO, E. T. H.; VESTENA, S. Regeneração *in vitro* de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel). *Ciência Florestal*, v. 11, n. 2, p. 93–101, jul. 2001. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/1658>. Acesso em: 10 jul. 2024.

MANTOVANI, N.C. *Propagação vegetativa e cultivo in vitro de Bixa orellana L. e Ginkgo biloba L.* Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007. Disponível em: <https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/f8b4dd47-0273-456c-8888-f0571375b020/content>. Acesso em: 9 out. 2024.

MELO, N. F. de. Introdução aos hormônios e reguladores de crescimento vegetal. In: SEMINÁRIO CODA DE NUTRIÇÃO VEGETAL, 1., 2002, Petrolina. *Anais [...]*. Petrolina: CODA, 2002. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/135451>. Acesso em: 22 set. 2023.

MENDES, M. F. *et al.* Propagação *in vitro* de *Schizolobium parahyba* var. Amazonicum. *Contribuciones a las ciencias sociales*, v. 17, n. 7, 2024. Disponível em: <https://ojs.revistacontribuciones.com/ojs/index.php/clcs/article/view/8283>. Acesso em: 19 set. 2024.

OLIVEIRA, C. R. M. *et al.* Water availability effect on gas exchanges and on phenology of ‘Cabula’ orange. *Acta Horticulturae*, v. 1150, p. 133–138, 2017. Disponível em: https://www.actahort.org/books/1150/1150_19.htm. Acesso em: 14 mai. 2025.

R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: *R Foundation for Statistical Computing*, 2018.

RADMANN, E. B. *et al.* Multiplicação *in vitro* e alongamento das brotações micropropagadas do porta-enxerto ‘Tsukuba 1’ (*Prunus persica* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 31, n. 3, p. 656–663, set. 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/bVfrrMFRTF5fcZVrkvKqXdh/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 2 jul. 2024.

ROCHA, M. R. da.; MANTOVANI, N.; SOUZA, H. C. de. Indução de brotações em segmentos nodais de plântulas de limoeiro cravo (*Citrus limonia* Osbeck). In: 39º JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA (JAI), 2024, Santa Maria. *Anais [...]*. Santa Maria, UFSM, 2024.

SILVA, G. M. da. *Micropropagação e produção de constituíntes voláteis in vitro de Aloysia triphylla (L’Hérit) Britton*. 113 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/3454>. Acesso em: 8 jun. 2024.

SOARES, B. O; MIRANDA, V. S. Enraizamento *in vitro* e aclimatização *ex vitro* de dois cultivares de citros. *Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, v. 59, n. 2, p. 144-151, 2016. Disponível em: <https://ajaes.ufra.edu.br/index.php/ajaes/article/view/2119>. Acesso em: 16 set. 2023.

SOARES, F. P. *et al.* Taxa de multiplicação e efeito residual de diferentes fontes de citocinina no cultivo *in vitro* de *Hancornia speciosa* Gomes. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, n. 1, p. 152–157, jan. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/NPT4Rq4TpHnfQ5TgvVSTMRr/>. Acesso em: 28 jul. 2024.

SOUZA, A. V. *et al.* Conservação e enraizamento *in vitro* de infalível (*Mandevilla velutina* K.Schum.), uma planta medicinal do Cerrado. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v.13, p.319-327, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/RMT54wWW9nzgp3F3MynbvVK/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 12 set. 2024.

SOUZA, J. A. *et al.* Tipos e concentrações de citocinina na multiplicação *in vitro* de pitangueira. *Ciência Rural*, v. 38, n. 7, p. 2046–2048, out. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/3h8nmGRQRL8vxmYRsJxd99x/?lang=pt>. Acesso em: 10 jul. 2024.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3a ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 720p.

TRUEMAN, S. J.; HUNG, C. D.; WENDLING, I. Tissue culture of *Corymbia* and *Eucalyptus*. *Forests*, v. 9, n. 2, p. 1–42, 2018.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. *Foreign Agricultural Service*. Citrus: World Markets and Trade. USDA. 11p., Jul. 2020. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>. Acesso em: 14 mai. 2025.

VITTI, G.C. Nutrição e crescimento de plantas cítricas. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS - FISIOLOGIA, 2, 1992, Bebedouro-SP. *Anais*[...]. Campinas, SP: Fundação Cargill, 1992. p.132-162.