

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

Amanda Veridiana Krug

**EFICIÊNCIA NA ABSORÇÃO E PROPOSIÇÃO DE NÍVEIS CRÍTICOS
DE NUTRIENTES EM CÍTROS**

Santa Maria, RS
2022

Amanda Veridiana Krug

**EFICIÊNCIA NA ABSORÇÃO E PROPOSIÇÃO DE NÍVEIS CRÍTICOS DE
NUTRIENTES EM CITROS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração Ciência do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Brunetto

Santa Maria, RS
2022

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Krug, Amanda Veridiana
Eficiência na absorção e proposição de níveis críticos de
nutrientes em citros / Amanda Veridiana Krug.- 2022.
102 p.; 30 cm

Orientador: Gustavo Brunetto
Coorientador: Danilo Ricardo Yamane
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Ciência do Solo, RS, 2022

1. CND 2. Nutrientes 3. Parâmetros cinéticos 4. Estado
nutricional 5. Frutífera I. Brunetto, Gustavo II. Yamane,
Danilo Ricardo III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, AMANDA VERIDIANA KRUG, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

AMANDA VERIDIANA KRUG

**EFICIÊNCIA NA ABSORÇÃO E PROPOSIÇÃO DE NÍVEIS CRÍTICOS DE
NUTRIENTES EM CITROS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração Ciência do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Ciência do Solo**.

Aprovada em 31 de agosto de 2022:

Gustavo Brunetto, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Danilo Eduardo Rozane, Dr. (UFPR/Unesp- Registro –SP)

William Natale, Dr. (UFC- Fortaleza-CE)

Santa Maria, RS
2022

Aos meus pais, Ricardo e Simone,
dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Há muito que agradecer!

Aos meus pais Simone Luciana Krug e Ricardo Gilberto Krug, que me ensinaram o valor do trabalho, da responsabilidade e do esforço.

Aos meus avós João Leopoldo Kochenborger (*in memoriam*), Glaci Doroti Kochenborger e Amanda Weber Krug, que me mostraram que o amor está nas coisas mais simples e que a preocupação não é mais importante do que o tempo de qualidade de estar junto.

Ao meu irmão por nunca negar qualquer ajuda e ter sempre aceitado ingressar nas minhas aventuras. Sinto muito orgulho da parceria que nós temos.

Ao professor Gustavo Brunetto, por ter sido um exemplo durante este percurso e por ter identificado meus pontos fortes e fracos e me motivado a encarar diversos desafios. Também agradeço pelo esforço de manter o grupo GEPACES firme e forte.

Aos professores Danilo Rozane e William Natale, os quais admiro muito por suas caminhadas e tenho o prazer de tê-los como banca da minha defesa.

Aos colegas de laboratório, alunos de Pós-Graduação e Pós Doutorado: Adriele Tassinari, Álvaro Berghetti, Carina Marchesan, Douglas Grando, Edicarla Trentin, Lincon Stefanello, Letícia Morsh, Jean Moura Bueno, Talita Trapp. Obrigada por toda a ajuda, amizade e ensinamentos.

Aos colegas do laboratório, alunos de Iniciação Científica: Luana Garlet, Gustavo Nogara, Guilherme Peripoli, Gustavo Scopel, Natália Palermo, Bianca Goularte, Lucas Dotto, Filipe Nunes de Oliveira, Ramon Braida, Pietra Putarov e Gustavo Luft. Ao estagiário do grupo, Jorge Barbosa.

Um agradecimento especial aos que me ajudaram intensamente no desenvolvimento dos estudos: Ana Luiza Lima Marques, Daniéle Gonçalves Papalia, Jacson Hindersmann e Vanessa Marques Soares.

Aos meus tios citricultores Ricardo Augustin, Elisio Krug, Mauro Kochenborger e suas famílias por disponibilizarem os pomares para o desenvolvimento das atividades experimentais.

À empresa Citrusul e ao viveiro Conmudas pela parceria que possuem com o grupo GEPACES- UFSM e por disponibilizarem recursos, materiais e dados para o desenvolvimento dos estudos.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), que foi minha casa durante 8 anos.

Ao Departamento de Solos e ao Programa de Pós Graduação em Ciência do Solo (PPGCS) pela estrutura cedida e pela oportunidade de realizar o Curso de Mestrado.

Aos professores do Departamento de Solos, em especial Celso Aita, Danilo Rheinheimer dos Santos, Fábio Malmann, Fabrício Pedron, Jean Minella, Leandro Souza da Silva, Paulo Gubiani, Ricardo Schenatto, Ricardo Simão Dalmolin e Sandro José Giacomini.

À Elci Gubiani, Douglas Scheid e ao pessoal do laboratório de análises de rotina da UFSM por todo o apoio.

Às minhas amizades construídas nesta caminhada de UFSM: Nariane de Andrade, Rosana Marzari Thomasi, Airton Bianchin, Regina Sonete Stacke e Paula Sete.

Ao meu namorado Luiz Felipe Vieira Sarmiento, que, apesar dos desafios que enfrentamos, sempre me ajudou a conduzir tudo com muito respeito e admiração.

À Capes pela concessão de bolsa de mestrado; à Fapergs e ao Cnpq pelos recursos disponibilizados através de projetos financiados e de bolsas de iniciação científica.

Às demais instituições de fomento à pesquisa e empresas parceiras, as quais proporcionaram ter um grupo sólido de alunos de iniciação científica e colegas de Pós-Graduação e Pós-doutorandos envolvidos no desenvolvimento dos estudos.

A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original.

(Albert Einstein)

RESUMO

EFICIÊNCIA NA ABSORÇÃO E PROPOSIÇÃO DE NÍVEIS CRÍTICOS DE NUTRIENTES EM FOLHAS DE CITROS

AUTORA: Amanda Veridiana Krug

ORIENTADOR: Gustavo Brunetto

Os citros possuem grande importância mundial no setor agrícola. Os parâmetros cinéticos relacionados à absorção de nutrientes normalmente não são avaliados em citros, mas podem estabelecer porta-enxertos e enxertos mais ou menos eficientes na absorção de nutrientes. Paralelo a isso, em geral, a necessidade e as doses de nutrientes são estabelecidas considerando os resultados da análise de solo. Porém, como os citros possuem reservas internas de nutrientes, especialmente em órgãos perenes, e as raízes exploram camadas de solo mais profundas que a camada diagnóstica, a análise foliar pode ser adequada para contribuir no diagnóstico do estado nutricional. Os estudos objetivaram estabelecer valores de variáveis cinéticas relacionadas à absorção de P e propor valores de referência nutricionais em folhas de citros. Dois estudos foram conduzidos. O Estudo 1 abordou a seleção de porta-enxertos e enxertos quanto à eficiência de absorção de P. Um experimento com dois porta-enxertos ('Trifoliata' e 'Citrumelo') e enxertos ('Citrumelo + Montenegrina'; 'Citrumelo + Valência' e 'Trifoliata + Montenegrina'; 'Trifoliata + Valência') foi conduzido. As plantas foram cultivadas por 10 dias, em vasos contendo solução com CaSO_4 a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Após esse período, foram submetidas à solução de Hoagland, realizando-se coletas periódicas de solução durante 102 horas de avaliação. Em seguida, parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos da parte aérea e raízes, matéria seca, bem como a concentração de P foram avaliados. Os parâmetros cinéticos de absorção de P ($V_{\text{máx}}$, K_m , C_{min} e $\text{influx} - I$) foram calculados utilizando o *software* Influx. O Estudo 2 estabeleceu e comparou padrões nutricionais obtidos pelo método CND (Composition Nutritional Diagnosis) para citros em clima subtropical, obtendo-se o nível crítico (NC) e a faixa de suficiência (FS) em folhas. Utilizou-se um banco de dados com a produção de frutos e os teores de nutrientes em folhas, obtidos em quatro safras, em pomares comerciais não irrigados, cujos frutos são destinados para a comercialização *in natura*. O método de cálculo multivariado CND foi utilizado. No Estudo 1, o porta-enxerto 'T' apresentou os maiores valores de influxo de P, concentrações de P no tecido, trocas gasosas, pigmentos e tendência de maior taxa fotossintética e menos estresse ou necessidade de ativação do sistema antioxidante. No Estudo 2, o método CND foi eficaz no diagnóstico do estado nutricional do citros, em relação aos teores foliares dos nutrientes N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn e B. As FS estabelecidas a partir do índice CND são diferentes das obtidas em outros países e regiões. Os resultados do Estudo 1 e do Estudo 2 podem permitir o uso racional de fertilizantes, diminuir problemas de contaminação ambiental e gastos desnecessários por parte do citricultor, além de proporcionar maiores rendimentos na produção de citros nos pomares.

Palavras-chave: CND. Nutrientes. Parâmetros cinéticos. Estado nutricional. Frutífera.

ABSTRACT

EFFICIENCY IN THE ABSORPTION AND PROPOSAL OF CRITICAL LEVELS OF NUTRIENTS IN CITRUS LEAVES

AUTHOR: Amanda Veridiana Krug

ADVISOR: Gustavo Brunetto

Citrus plants adapt well in tropical, temperate, and subtropical countries, which turns them of great importance to the agriculture sector. Usually, kinetics parameters related to nutrient uptake are not evaluated, that can establish which rootstocks or grafts are more or less efficient to the absorption of nutrients. At the same time, in citrus and other fruit production in general, the need and nutrient doses are established considering the results of soils analysis, however, as citrus present internal reserves of nutrients, especially in perennial organs, and the roots occupies deeper soil layers than the diagnosed layer, the foliar analysis can be adequate to contribute in the diagnosis of nutritional state. This research aimed to establish values of kinetic variables related to P absorption and propose nutritional reference values in citrus leaves. Two studies were conducted. Study 1 approached the selection of citrus rootstocks and grafts, in terms of P absorption efficiency. One experiment with two citrus rootstock ('Trifoliata' and 'Citrumelo Swingle') and grafts ('Citrumelo + Montenegrina'; 'Citrumelo + Valência' and 'Trifoliata + Montenegrina'; 'Trifoliata + Valência') was conducted. The rootstocks and grafts de citrus were cultivated for 10 days, in pots containing solution with CaSO_4 at $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. After this period, the plants were exposed to the Hoagland solution, where were conducted periodical collections of solution for 102 hours of evaluation. Afterwards, biochemical, physiological and morphological parameters of aerial part and roots, dry matter, P concentration were evaluated. Kinetical parameters of P absorption (V_{\max} , K_m , C_{\min} and influx - I) were calculated using Influx software. Study 2 established and compared nutritional standards obtained through CND method for citrus in subtropical climate obtaining CL and SB in leaves. A database was used with the production of fruits and nutrient content in leaves, obtained in the four harvests, in commercial orchards not irrigated, where the fruit are destined to the commercialization *in natura*. The method of multivariate calculation CND was utilized. In the Study 1, the rootstock 'Trifoliata' presented higher values of P influx, concentration of P in tissue, gas exchanges, pigments and tendency of greater photosynthetic rate, and stress or need of activation of the antioxidant system. In the Study 2, the method CND was effective in the diagnosis of nutritional state of citrus, in relation to the nutrient concentration in leaves of N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn and B in poor, adequate and excessive concentration. The SB established from CND index are different from the ones obtained in other countries and regions. The results of studies 1 and 2 can allow the rational use of fertilizers, decrease problems with environmental contamination and unnecessary expenses by the citrus farmers, besides to provide greater yields of citrus production in the fruit farms.

Keywords: CND. Nutrients. Kinetics parameters. Nutritional status. Fruit farm.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Razão raiz/parte aérea (a), matéria seca de raiz (b), matéria seca da parte aérea (c), matéria seca total das plantas (d) dos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C) e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas em solução de Hoagland após 10 dias de redução de reservas internas de nutrientes m solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).33
- Figura 2 – Comprimento de raízes (a), área superficial de raízes (b), diâmetro médio de raízes (c), volume de raízes (d) e porcentagem de raízes nas classes e diâmetro (e) dos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C) e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas em solução de Hoagland após 10 dias de redução de reservas internas de nutrientes m solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).35
- Figura 3 – Concentração de P na parte aérea e raízes (a) e Alocação de P em folhas, caule e raízes (PAI) (b) dos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C) e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas em solução de Hoagland após 10 dias de redução de reservas internas de nutrientes m solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).37
- Figura 4 – Taxa de Influxo ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de P nos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C), e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após 10 dias de redução de reservas internas de nutrientes m solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).....38
- Figura 5 – Concentrações de P na solução das plantas de porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM) (a), ‘Citrumelo + Valência’ (CV) (b), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) (c) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV) (d), e dos porta-enxertos ‘Citrumelo’ (C) (e) e ‘Trifoliata’ (T) (f), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).40

- Figura 6 – Eficiências de absorção de P (a) e de uso de P (b) em porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C), e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$). 41
- Figura 7 – Taxa de assimilação líquida da fotossíntese (A) (a), condutância estomática de CO_2 (Gs) (b), concentração intercelular de CO_2 (Ci) (c), taxa de transpiração (T_{mol}) (d), eficiência do uso da água (e), eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) (f), em porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C), e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$). 41
- Figura 8 – Eficiência fotossintética (Y_{NPQ} e Y_{II}) (a; c), fluorescência inicial (F_0') (b), rendimento quântico (F_v/F_m) (d), fluorescência máxima (e), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR_m) (f) nos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C) e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$). 43
- Figura 9 – Pigmentos fotossintéticos: Clorofila a (a), Clorofila b (b), Clorofila total (c) e Carotenoides (d) dos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C), e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$). 45
- Figura 10 – Estresse oxidativo nas folhas: Atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD) (a), Atividade da enzima peroxidase (POD) (b), Concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (c) e Atividade da enzima fosfatase ácida (Apase) (d) dos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C) e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas

em solução de Hoagland após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).	46
Figura 11 – Estresse oxidativo nas raízes: Atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD) (a), Atividade da enzima peroxidase (POD) (b), Concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (c) e Atividade da enzima fosfatase ácida (Apase) (d) dos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C) e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV) cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).	47
Figura 12 – Análise de componentes principais das variáveis dos parâmetros cinéticos e variáveis bioquímicas, concentração de nutrientes e parâmetros morfológicos de raiz que demonstraram diferença estatística na comparação de médias (Tukey $p < 0,05$).	49
Figura 13 – Matriz de correlação de Pearson entre as concentrações de nutrientes nas folhas e a produtividade em pomares de citros ($n = 487$).	68
Figura 14 – Função cumulativa dos dados de produtividade (kg planta^{-1}), em pomares de citros ($n = 487$).	68
Figura 15 – Matriz de correlação de Pearson entre as concentrações de nutrientes nas folhas e a produtividade na população de alta produtividade ($n = 348$) em pomares de citros.	69
Figura 16 – Matriz de correlação de Pearson entre as concentrações de nutrientes nas folhas e a produtividade na população de baixa produtividade ($n = 139$) em pomares de citros.	70
Figura 17 – Índice de desequilíbrio nutricional (CND-r^2) e distância de Mahalanobis (D^2) da população de alta produtividade ($n = 348$).....	71
Figura 18 – Relação entre o índice de desequilíbrio nutricional (CND-r^2) e a produtividade da população de citros ($n = 487$).....	72
Figura 19 – Simulação do índice de desequilíbrio (I_x) nutricional de um pomar hipotético em relação à população de alta produtividade.	73

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Parâmetros cinéticos relacionados à absorção de P nos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C), e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas em solução de Hoagland, após 10 dias de redução de reservas internas de nutrientes m solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$). 38
- Tabela 2 – Padrões do diagnóstico da composição nutricional (CND) da população de referência (n = 348). 73
- Tabela 3 – Modelos estatísticos das relações entre os índices CND e as concentrações foliares de macro (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) usados para calcular os níveis críticos e as faixas de suficiência de nutrientes foliares em citros. 74
- Tabela 4 – Faixas de suficiência de nutrientes consideradas adequadas em amostras de folhas de citros obtidas pelo método CND no presente estudo em comparação com recomendações estabelecidas por outros autores para a mesma frutífera cultivada no Brasil..... 75

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	17
2	HIPÓTESES.....	21
3	OBJETIVOS.....	22
3.1	OBJETIVO GERAL	22
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
4	ESTUDO 1 - PORTA-ENXERTOS E ENXERTOS DE CITROS MAIS EFICIENTES NA ABSORÇÃO DE FÓSFORO POSSIBILITAM O USO MAIS RACIONAL DE FERTILIZANTES FOSFATADOS	23
4.1	INTRODUÇÃO	23
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.2.1	Tratamentos e condições experimentais	25
4.2.2	Marcha cinética.....	26
4.2.3	Análise de nutrientes no tecido e solução nutritiva.....	27
4.2.4	Determinação dos parâmetros cinéticos.....	28
4.2.5	Análises morfológicas de raízes.....	29
4.2.6	Trocas gasosas.....	29
4.2.7	Determinação de fluorescência da clorofila <i>a</i>	30
4.2.8	Determinação de pigmentos fotossintéticos e variáveis bioquímicas.....	30
4.2.9	Análises estatísticas.....	32
4.3	RESULTADOS.....	32
4.3.1	Produção de matéria seca e variáveis morfológicas do sistema radicular	32
4.3.2	Concentração de P na parte-aérea e raízes e índice de alocação de P (PAI).....	36
4.3.3	Cinética de absorção de P e eficiências do uso (PUE) e da absorção de P (PUtE).....	38
4.3.4	Trocas gasosas.....	41
4.3.5	Fluorescência da clorofila <i>a</i>	42
4.3.6	Pigmentos fotossintéticos e variáveis bioquímicas	44
4.3.7	Análise de componentes principais (PCA)	48
4.4	DISCUSSÃO	49
4.5	CONCLUSÕES	52
	REFERÊNCIAS.....	53
5	ESTUDO 2 – PROPOSIÇÃO DE NÍVEIS CRÍTICOS E FAIXAS DE SUFICIÊNCIA DE NUTRIENTES EM FOLHAS DE CITROS, CULTIVADOS EM CLIMA SUBTROPICAL, PARA COMERCIALIZAÇÃO <i>IN NATURA</i>	61

5.1	INTRODUÇÃO.....	61
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	63
5.2.1	Área do estudo.....	63
5.2.2	Amostragem de folhas e produção.....	64
5.2.3	Análises de nutrientes nas folhas.....	64
5.2.4	Cálculos e análises estatísticas.....	65
5.3	RESULTADOS.....	67
5.4	DISCUSSÃO.....	76
5.5	CONCLUSÕES.....	79
	REFERÊNCIAS.....	79
6	DISCUSSÃO GERAL.....	86
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86
8	PERSPECTIVAS DE ESTUDOS FUTUROS.....	88
	REFERÊNCIAS GERAIS.....	90
	APÊNDICE A – FOTOS DO EXPERIMENTO DE PARÂMETROS CINÉTICOS DE ABSORÇÃO DE P EM CASA DE VEGETAÇÃO (ESTUDO 1).....	95
	APÊNDICE B – ESQUEMA DO EXPERIMENTO DE PARÂMETROS CINÉTICOS DE ABSORÇÃO DE P EM CASA DE VEGETAÇÃO, MOSTRANDO A ESTRUTURA DE AERAÇÃO E SUSTENTAÇÃO DOS VASOS (ESTUDO 1).....	96
	APÊNDICE C – LOCALIZAÇÃO DOS POMARES DE CITROS EM QUE FORAM COLETAS AS AMOSTRAS (ESTUDO 2).....	97
	APÊNDICE D – ILUSTRAÇÃO DEMONSTRANDO AS FOLHAS DIAGNÓSTICAS COLETADAS PARA A ANÁLISE FOLIAR QUE GEROU O BANCO DE DADOS PARA ENCONTRAR OS PADRÕES NUTRICIONAIS EM CITROS <i>IN NATURA</i> EM CLIMA SUBTROPICAL (ESTUDO 2).....	98
	APÊNDICE E – ILUSTRAÇÃO MOSTRANDO OS LOCAIS NA PLANTA ONDE FORAM OS PONTOS DE COLETA DE FOLHAS (ESTUDO 2).....	99
	APÊNDICE F – AMOSTRAGEM DAS PLANTAS DOS POMARES COMERCIAIS, COLETAS DE FOLHAS E SOLO (ESTUDO 2).....	100
	APÊNDICE G – ANÁLISES DE LABORATÓRIO DOS ESTUDOS 1 E 2.....	101

1 INTRODUÇÃO GERAL

A citricultura é uma das atividades agrícolas mais relevantes em todo o mundo, com uma produção estimada de 146 milhões de toneladas de frutos (FAO, 2019; IBGE, 2022), sendo China, Brasil, Estados Unidos da América, México e Índia os cinco principais países produtores (FAO, 2019). O Brasil é um tradicional produtor de frutas cítricas (laranjas, limões, limas e tangerinas), sendo o maior produtor de suco de laranja e o sexto maior produtor mundial de tangerinas (FAO, 2019), juntando-se a China, Espanha, Turquia, Marrocos, Egito e Estados Unidos como os maiores produtores de tangerina do mundo. As maiores áreas cultivadas no país estão localizadas no estado de São Paulo (SP), porém o Rio Grande do Sul (RS) tem posição destacada, sendo o 4º maior estado produtor de tangerinas e o 6º de laranjas do Brasil (IBGE/SIDRA, 2022).

O RS tem uma área plantada de 35.446 hectares de citros (IBGE/SIDRA, 2022), e cerca de doze mil famílias possuem renda a partir da produção de laranjas, tangerinas e limões ou de outros segmentos ligados, como transporte, indústria e comercialização de frutas frescas, produção e vendas de mudas e insumos (EFROM; SOUZA, 2018). No ano de 2021, a produção de citros no RS foi de 523 mil toneladas. Como principais regiões produtoras do estado estão o Vale do Caí, onde é expressiva a produção de bergamotas (tangerinas); a região do Alto Uruguai, onde está a maior produção de laranja para suco no estado; a região da Serra, onde se destacam variedades tardias destinadas ao consumo de mesa; e a Fronteira Oeste, polo mais recente e produtor de variedades sem sementes, voltado também para a exportação (JOÃO; CONTE, 2018).

A maior parte dos solos cultivados com citros no Brasil e no mundo não possui quantidade suficiente de nutrientes para suprir a demanda das plantas. Isso porque as espécies selecionadas visam a potencializar a capacidade de produção de frutos, com consequentes exigências nutricionais também potencializadas, já que a exportação de nutrientes pelos frutos colhidos acaba resultando na redução da fertilidade dos solos (QUAGGIO; RAIJ; PIZA JUNIOR, 1997; SIQUEIRA; SALOMÃO, 2017). Quando isso acontece torna-se necessário realizar aplicações de nutrientes, principalmente os macros, como nitrogênio (N), potássio (K), fósforo (P), cálcio (Ca) e magnésio (Mg), com o objetivo de elevar as concentrações nos solos.

A planta cítrica não entra em dormência e costuma vegetar o ano todo, acumulando reservas de nutrientes, e, assim, a quantidade de nutrientes exportados pelos frutos depende da adubação, do tipo de solo, clima, porta-enxerto e variedade copa. Porém, muitas vezes, é

baixa a eficiência de absorção de nutrientes, como o P, por porta-enxertos ou combinação porta-enxertos e variedades de citros. Isso pode acontecer porque normalmente variedades e porta-enxertos são selecionados considerando-se as elevadas produtividades, a qualidade de frutos e a resistência a pragas ou doenças (LADO; RODRIGO; ZACARIAS, 2014; EMMANOUILIDOU; KYRIACOU, 2017; SIQUEIRA; SALOMÃO, 2017). Por essa razão, torna-se importante determinar variáveis relacionadas à eficiência de absorção de nutrientes, especialmente relacionadas ao P. Isso também é motivado porque as reservas de fertilizantes fosfatados são finitas (NOVAIS et al., 2018; ANTUNES et al., 2022), o que também tende a estimular o aumento do custo dos fertilizantes no futuro (CORDELL; DRANGERT; WHITE, 2009). Além disso, a maior parte do P adicionado aos solos via adubação tende a ser adsorvido a grupos funcionais de partículas reativas inorgânicas do solo, formando complexo de esfera interna (ANTELO et al., 2005), e, quando isso acontece, apenas uma pequena porção de P será potencialmente disponível às plantas (WEIL; BRADY, 2017).

A eficiência de absorção de nutrientes pode ser estimada considerando-se as variáveis cinéticas de captação de nutrientes, como a velocidade máxima de captação (V_{max}), que se refere à quantidade de nutriente absorvida quando todos os transportadores específicos na membrana celular da raiz estão saturados; pela constante de Michaelis-Menten (K_m), que indica a afinidade de absorção entre o nutriente/íon e o seu transportador, sendo o seu valor na solução a metade da velocidade máxima de absorção; e a concentração mínima (C_{min}), que corresponde à menor concentração na qual as raízes podem extrair um nutriente da solução e o influxo (I), que representa a quantidade de nutriente absorvida pela massa de raízes em uma unidade de tempo (YANG et al., 2007; MARTINEZ et al., 2015; PAULA et al., 2018). Dessa forma, porta-enxertos ou combinações porta-enxertos e variedades (enxertos) que apresentam menores valores de C_{min} e K_m , juntamente com maiores valores de V_{max} e I, podem se adaptar a solos de baixa fertilidade natural ou mesmo podem ser submetidos a menores doses de fertilizantes (PAULA et al., 2018; KULMANN et al., 2020).

No entanto, convém destacar que para porta-enxertos e enxertos não são suficientemente conhecidos os valores de variáveis cinéticas relacionadas à absorção de nutrientes e, por consequência, não são conhecidos claramente quais os materiais genéticos mais e menos eficientes na absorção de nutrientes como o P. Caso isso seja determinado, serão possíveis variedade porta-enxertos ou combinação porta-enxertos e variedades copa em solos mais ou menos férteis, mas também se poderá saber quais devem ser submetidos a maiores ou menores doses de fertilizantes fosfatados. Isso possibilitará, também, a racionalização de uso dos adubos P, além de diminuir o potencial de contaminação do solo e

das águas superficiais pelo excesso de P, que pode causar eutrofização (ZHOU; GIBSON; ZHU, 2001; BOITT et al., 2018; PU et al., 2021).

Contudo, depois da seleção de porta-enxertos ou combinações de porta-enxertos e variedades, através da enxertia, mais eficientes na absorção de nutrientes, torna-se necessário definir outros critérios técnicos, preferencialmente em campo, para determinar a real necessidade de aplicação de nutrientes nos pomares. Isso pode ser feito através da análise de solo que informa as frações do nutriente disponível (PREZOTTI, 2013). Os teores de nutrientes disponíveis podem apresentar boa relação com variáveis de produção ou qualidade de frutos (SRIVASTAVA; SINGH, 2007). Porém, nem sempre isso acontece, inclusive em citros, pois as árvores possuem reservas internas de nutrientes, que são redistribuídas na planta no ciclo seguinte (NATALE; ROZANE, 2018), o que diminui a dependência da árvore dos nutrientes do solo (LEGAZ; SERNA; PRIMO-MILLO, 1995). Além disso, as raízes de plantas perenes podem ocupar maior volume de solo se comparadas a culturas anuais (AVILAN, 1987; NATALE; ROZANE, 2018). Isso favorece a maior exploração do solo, o que potencializa a absorção de água e nutrientes, inclusive em camadas de solo não amostradas (AVILAN, 1987). Além disso, as raízes das camadas mais profundas podem possuir mecanismos que potencializam a absorção de frações de nutrientes não detectadas pelos métodos de análise de solo em laboratórios de rotina. Por causa disso, convém, sempre que possível, realizar a análise química das folhas, que diagnostica o estado nutricional de frutíferas, como os citros.

O ionoma é a composição de nutrientes minerais dos organismos vivos (HUANG; SALT, 2016); assim, o ionoma foliar de plantas, como citros, pode ser interpretado por vários procedimentos. Os mais comuns são os métodos univariados, como o Nível Crítico (NC) (ULRICH; HILLS, 1967) e a faixa de suficiência (FS) (PREVOT; OLLAGNIER, 1956; SMITH, 1962). Também há métodos bivariados, como o Sistema Integrado de Diagnose e Recomendação (DRIS), do inglês *Diagnosis and Recommendation Integrated System* (BEAUFILS, 1973), e *Modified - Diagnosis and Recommendation Integrated System* (M-DRIS) (BEVERLY, 1987; HALLMARK et al., 1987), que pressupõem relações duais entre os nutrientes. Por outro lado, também se pode usar o método multivariado Diagnóstico da Composição Nutricional (CND), em inglês *Compositional Nutrient Diagnosis*, uma técnica evoluída e que foi aperfeiçoada a partir do NC, FS e do DRIS por Parent e Dafir (1992).

O CND envolve interações múltiplas entre os nutrientes e, também, considera os elementos não determinados pela análise química das folhas, proporcionando assim uma avaliação do equilíbrio nutricional da cultura de forma integrada (BHADURI; DEBARATI;

PAL, 2013; LABAIED; SERRA; MIMOUN, 2018; LIMA NETO et al., 2020; ROZANE et al., 2020; SILVA; CHIAIA, 2021). Para realizar tal diagnose, é fundamental ter acesso a um banco de dados amplo, representativo e confiável, composto por nutrientes determinados nas folhas e pela produtividade das culturas, pois este método considera o rendimento das culturas para assim definir os valores de referência, os quais indicam a resposta vegetal à adição de fertilizantes.

Estudos para estabelecer índices de deficiência, normalidade e excesso de nutrientes em laranjeiras, usando a metodologia CND, já foram realizados em citros em São Paulo (ROZANE, et al., 2015; YAMANE, 2018). Porém, estados como o RS e outros utilizam variedades copa distintas, com predominância de tangerinas, assim como utilizam porta-enxertos mais adaptados ao clima do frio, como no caso do RS, em que mais de 90% das mudas produzidas são enxertadas em *Poncirus trifoliata* (SCHÄFER; BASTIANEL; DORNELLES, 2001), cujos frutos são destinados para consumo *in natura*. Por isso, torna-se necessário definir índices regionais (deficiência, normalidade e excesso), NC ou FS, que possibilitem a adequada diagnose do estado nutricional em variedades de citros no Rio Grande do Sul, o que já vem sendo realizado em frutíferas, como a mangueira (*Mangifera indica*) (PARENT, 2013), goiabeira (*Psidium guajava*) (ROZANE et al., 2012), pessegueiro (*Prunus persica*) (BETEMPS et al., 2020) e videira (ROZANE et al., 2020).

2 HIPÓTESES

- a) O porta-enxerto *Poncirus trifoliata*, o mais utilizado no Rio Grande do Sul, é menos eficiente na absorção de P quando recebe enxerto de uma variedade copa.

- b) Faixas de suficiência (FS) de nutrientes em folhas de citros, definidas com o estabelecimento de normas CND, terão menores amplitudes para macro e micronutrientes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer os valores de variáveis cinéticas relacionadas à absorção de P e propor valores de referência nutricionais em folhas de citros, as quais podem racionalizar o uso de fertilizantes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar se os porta-enxertos de citros ‘Trifoliata’ e ‘Citrumelo’, sem e com enxertia, possuem diferenças em relação à eficiência de absorção de P.
- b) Avaliar se, com os índices CND em folhas, será possível obter NC ou FS para todos os nutrientes analisados na cultura dos citros.

4 ESTUDO 1 - PORTA-ENXERTOS E ENXERTOS DE CITROS MAIS EFICIENTES NA ABSORÇÃO DE FÓSFORO POSSIBILITAM O USO MAIS RACIONAL DE FERTILIZANTES FOSFATADOS

Resumo

Parâmetros cinéticos (V_{max} , K_m , C_{min} e I) podem indicar quais porta-enxertos e plantas enxertadas de citros podem ser cultivadas em solos com menor disponibilidade de fósforo (P). Isso é desejado porque podem racionalizar o uso de fertilizantes fosfatados, diminuindo o custo de produção e o potencial de contaminação de solos e águas, com a manutenção de elevadas produtividades. Este estudo objetivou selecionar porta-enxertos e enxertos mais eficientes na absorção de P. Os porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C) e enxertos com a laranjeira ‘Valência’ (TV; CV) e mandarina ‘Montenegrina’ (TM; CM) foram aclimatados em solução de Hoagland a 50% da força e testados durante 10 dias de esgotamento de reservas internas em solução de $CaSO_4$; foram também avaliados durante 102 horas de marcha cinética. Os parâmetros cinéticos (V_{max} , K_m , C_{min} e I), a eficiência de absorção de P, os parâmetros morfológicos de raízes e os bioquímicos e fisiológicos foram determinados. O porta-enxerto ‘T’ apresentou valores mais altos de influxo de P, concentrações de P no tecido, trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, tendência de maior fotossíntese e menor estresse ou necessidade de ativação do sistema antioxidante, indicando ser mais eficiente na absorção de P. Os porta-enxertos não demonstraram comportamento superior às suas variedades enxertadas. O tempo mínimo de avaliação da marcha cinética para alcançar o C_{min} de absorção de P para o porta-enxerto ‘T’ foi de 87 horas, enquanto que para ‘C’, ‘CM’, ‘CV’, ‘TM’ e ‘TV’ foi de 90 a 91 horas.

Palavras-chave: Parâmetros cinéticos. Fósforo. Seleção de enxertos e porta-enxertos.

4.1 INTRODUÇÃO

As frutas cítricas são algumas das frutas mais produzidas no mundo (LI et al., 2020). O Brasil produziu 16 milhões de toneladas de citros na safra 2020/2021 e preparou 79% de todo o suco de laranja consumido no mundo, o que torna a citricultura uma das principais atividades do agronegócio do país e da América Latina (IBGE, 2022; USDA, 2022). Porém, solos tropicais e subtropicais cultivados com citros possuem baixa disponibilidade natural de fósforo (P), pois possuem grande capacidade de adsorção de P em grupos funcionais de partículas inorgânicas, como os óxidos de ferro (Fe), alumínio (Al) e manganês (Mn) (MAHARAJAN et al., 2021; BASÍLIO et al., 2022). Por isso, os solos tropicais e subtropicais

no mundo não fornecem a quantidade de P necessária para suprir a demanda do citros, tornando-se necessário realizar aplicações de fertilizantes fosfatados em adubações de plantio e produção (RICHARDSON et al., 2009).

As adubações fosfatadas objetivam elevar os teores de P no solo até o nível crítico (NC) ou a faixa de suficiência (FS) estabelecidos para o citros (ASHWINI et al., 2022). Porém, o mais adequado é que as plantas cítricas possam crescer e produzir em solos com baixos valores de NC e FS de P. Isso porque menores serão as doses de P a serem aplicadas, diminuindo o custo de produção e o potencial de contaminação de solos e água (WANG et al., 2018). Além disso, as reservas de P no mundo são finitas e estima-se que o depósito de rocha fosfática persista por apenas mais 50 anos (NOVAIS et al., 2018; ANTUNES et al., 2022). Por isso, torna-se necessário selecionar porta-enxertos, como ‘Trifoliata’ (*Poncirus trifoliata*) e ‘Citrumelo Swingle’ (*Citrus paradisi* x *Poncirus trifoliata*), e variedades enxertadas, como ‘Montenegrina’ (*Citrus deliciosa* Tenore) e ‘Laranja Valência’ (*Citrus sinensis* L. Osbeck), que apresentem características que confirmam maior eficiência na absorção de P.

No clima subtropical, o porta-enxerto ‘Trifoliata’ (*Poncirus trifoliata* L.) é um dos mais cultivados, porque é caducifolia (OLIVEIRA et al., 2008), possui tolerância a doenças e confere longevidade ao pomar (OLIVEIRA et al., 2008; EFROM; SOUZA, 2018). Também o porta-enxerto híbrido ‘Citrumelo Swingle’ (*Citrus paradisi* Macfad. x *Poncirus trifoliata* L.) é cultivado por possuir tolerância a doenças e resistência ao frio e poder antecipar a produção de frutos (EFROM; SOUZA, 2018). As variedades copa mais populares para o clima subtropical são as tardias, como as mandarinas (*Citrus* sp.) e a laranjeira doce ‘Valência’ (*Citrus sinensis* L. Osbeck), porque possuem dupla aptidão e, por isso, podem ser destinadas à elaboração de suco e/ou ao consumo *in natura* (SCHWARZ; SOUZA; OLIVEIRA, 2018). No entanto, não é suficientemente conhecido quais são os porta-enxertos ou plantas enxertadas mais eficientes na absorção de P.

A eficiência de absorção de P em porta-enxertos e variedades pode ser estimada pelos parâmetros cinéticos relacionados à absorção de fosfato. Os parâmetros cinéticos de absorção de nutrientes são compostos pela velocidade máxima de absorção (V_{max}), constante de Michaelis-Menten (K_m), concentração mínima (C_{min}) e influxo (I). A V_{max} se refere à quantidade de nutriente absorvido por unidade de tempo, quando todos os sítios (carregadores ou canais) das membranas celulares das raízes estiverem saturados (LI et al., 2012; MARTINEZ et al., 2020). A constante de Michaelis-Menten (K_m) indica a concentração de nutriente/íon em solução na qual é atingida a metade do V_{max} , visto que quanto menor o valor de K_m , maior é a afinidade do transportador pelo íon a ser transportado (EPSTEIN; BLOOM,

2004). A C_{\min} indica a concentração mínima de nutriente na solução onde as raízes ativam a absorção do nutriente (CLAASSEN; BARBER, 1974; MARTINEZ et al., 2020). Por fim, o I se refere à velocidade líquida de absorção do íon em uma solução de concentração.

Esse conjunto de variáveis determina a taxa de influxo (I) por unidade de matéria de raízes, por unidade de tempo (CLAASSEN; BARBER, 1974; MARSCHNER, 2012). Além desses parâmetros, a medição da morfologia do sistema radicular possibilita correlacionar a depleção da concentração de formas de P na solução com as características genéticas da planta (SAENGWILAI et al., 2014; MOROSINI et al., 2017; SANCHEZ et al., 2018; TORRES et al., 2019). Isso porque maiores valores de variáveis morfológicas radiculares, como comprimento e área superficial de raízes, podem indicar que as plantas são mais adaptadas a ambientes com baixa disponibilidade de nutrientes (ZONTA et al., 2006), mas isso nem sempre é observado (SVISTOONOFF et al., 2007; TICCONI et al., 2009; POIRIER; JASKOLOWSKI; CLÚA, 2022). A eficiência nutricional de P pelos materiais genéticos pode, também, ser avaliada por meio de índices de eficiência nutricional, como a eficiência de uso de P (PUE), que são parâmetros que refletem processos fisiológicos, como absorção, translocação, armazenamento e redistribuição de nutrientes (ELANCHEZZHIAN et al., 2015; MARQUES et al., 2020).

Variáveis fisiológicas e bioquímicas também podem ser importantes parâmetros na determinação da eficiência nutricional, porque a produção de biomassa e o crescimento das plantas estão diretamente relacionados com as taxas fotossintéticas, conteúdo de pigmentos, atividade de enzimas metabólicas e capacidade de defesa antioxidante (JIA et al., 2021; ALMEIDA et al., 2020). O estudo objetivou selecionar os porta-enxertos e enxertos de citros mais eficientes na absorção de P.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Tratamentos e condições experimentais

Duas variedades de porta-enxertos de citros, ‘Citrumelo Swingle’ (*Citrus paradisi* Macfad. X *Poncirus trifoliata* L.) – (C) e ‘Trifoliata’ (*Poncirus trifoliata* L.) – (T), foram testadas em três condições: (i) sem enxertia (hipobioto); (ii) enxertados (epibioto) com a variedade copa ‘Valência’ (*Citrus sinensis* (L) Osbeck): ‘Citrumelo + Valência’ – (CV), ‘Trifoliata + Valência’ – (TV); e (iii) com a variedade copa ‘Montenegrina’ (*Citrus deliciosa* Tenore): ‘Citrumelo + Montenegrina’ – (CM), ‘Trifoliata + Montenegrina’ – (TM).

As plantas foram produzidas por enxertia de gema ativa ou borbulha e, em seguida, foram cultivadas em sacos plásticos de 1 L, com substrato contendo turfa de sphagnum, perlita expandida, vermiculita expandida, casca de arroz torrefada, calcário dolomítico, gesso agrícola e fertilizante NPK. Aos 18 meses de cultivo, cinco plantas de altura e vigor homogêneas de cada porta-enxerto e combinações foram selecionadas. As mudas foram retiradas cuidadosamente dos sacos plásticos, e o sistema radicular de cada planta foi lavado em água destilada para a retirada do substrato de cultivo.

O estudo foi conduzido no período de 07 de novembro a 22 de dezembro de 2020, em casa de vegetação (29° 42' 57,4" S; 53° 43' 12,2" O, altitude 115m), no Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em Santa Maria, Rio Grande do Sul, região Sul do Brasil. Ao longo do experimento, a umidade relativa do ar na casa de vegetação foi mantida em $60 \pm 5\%$ e a temperatura média do ar em $25 \pm 2^\circ\text{C}$. As plantas foram fixadas individualmente em vasos, com auxílio de uma folha de isopor de 3 mm de espessura, para evitar a entrada de radiação solar e a evaporação da solução nutritiva, além de auxiliar na fixação da muda (apêndice A). A lâmina de isopor possuía um orifício central para a passagem do caule das plantas. Em um segundo orifício, foi inserido um tubo de polícreto de vinila (PVC), ligado a uma mangueira de silicone que estava conectada em um compressor, responsável pela aeração do sistema (apêndice B). Os vasos foram distribuídos aleatoriamente sobre as mesas na casa de vegetação, considerando um delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 3 (duas variedades de porta-enxerto e três condições de planta).

As plantas foram acondicionadas individualmente, com as raízes nuas, em vasos de 7 L de capacidade, contendo 5 L de solução nutritiva de Hoagland a 50% (JONES JUNIOR, 1983). A solução de Hoagland a 100% continha (em mg L^{-1}): $\text{N-NO}_3^- = 196$; $\text{N-NH}_4^+ = 14$; $\text{P} = 31$; $\text{K} = 234$; $\text{Ca} = 160$; $\text{Mg} = 48,6$; $\text{S} = 70$; $\text{Fe-EDTA} = 5$; $\text{Cu} = 0,02$; $\text{Zn} = 0,15$; $\text{Mn} = 0,5$; $\text{B} = 0,5$ e $\text{Mo} = 0,01$. As plantas permaneceram em solução de Hoagland a 50% por 15 dias para aclimação, sendo a cada três dias substituída. O pH foi ajustado diariamente em $6,0 \pm 0,2$, utilizando $\text{HCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{NaOH } 1 \text{ mol L}^{-1}$.

4.2.2 Marcha cinética

Após o período de 15 dias de aclimação em solução nutritiva, as plantas foram estimuladas a um esgotamento de reservas internas de nutrientes. Para isso, as plantas foram mantidas em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) para conservar o potencial eletroquímico e

preservar a integridade da parede celular durante mais 10 dias (PAULA et al., 2018). Posteriormente, as plantas retornaram à solução nutritiva de Hoagland a 15%, onde permaneceram durante uma hora, para que o sistema restabelecesse as condições estacionárias de absorção, o que é requerido pelo modelo cinético (CLAASSEN; BARBER, 1974). Após uma hora, a solução foi substituída por outra solução de Hoagland a 15%. Imediatamente foi iniciado o período de coleta das alíquotas de solução para a marcha cinética.

Dez mililitros da solução de cada vaso foram coletados no tempo zero (0), momento de substituição da solução de Hoagland a 15%. Em seguida, foram coletadas alíquotas de 10 ml a cada 6 horas, até atingir as primeiras 42 horas (0; 6; 12; 18; 24; 30; 36; 42 h), a cada uma hora entre 42 até 50 horas, a cada três horas entre 50 e 53 horas, a cada 6 horas entre 53 e 65 horas, e a cada uma hora entre 65 e 102 horas. Assim, a solução foi coletada durante 102 horas. As soluções foram armazenadas e congeladas a -10°C para posterior análise. No início e ao final do experimento as plantas passaram por medições de altura, peso de planta e diâmetro de caule. No final da avaliação, as plantas foram retiradas dos vasos e particionadas em órgãos: folhas, caule e raízes. A matéria fresca de folhas, caule e raízes foi determinada em uma balança digital (Bel Engineering, Balança de precisão L, Brasil). O volume de solução nutritiva remanescente em cada vaso foi mensurado com o auxílio de uma proveta graduada de 1 L.

4.2.3 Análise de nutrientes no tecido e solução nutritiva

Os órgãos das plantas foram secos em uma estufa com circulação de ar forçado a 65°C até atingirem massa constante. Os órgãos foram pesados em balança digital de precisão para a determinação da matéria seca. Em seguida, o tecido foi moído em moinho do tipo Willey e passado em peneira com malha de 2 mm. A quantidade de 0,250g do tecido dos órgãos foi preparada e submetida à digestão nitroperclórica (3:1 de ácido nítrico e ácido perclórico) até 180°C , durante 5 horas (SILVA, 2009). No extrato foram determinadas as concentrações de Ca, Mg, Mn, Cu, Zn e Fe em espectrofotômetro de absorção atômica (EAA; Varian SpectrAA-600, Australia). A concentração de K foi determinada em espectrofotômetro de chama (B262 Micronal). O P foi determinado por colorimetria, usando metodologia proposta por Murphy e Riley (1962), em espectrofotômetro (SF325NM, Bel Engineering, Italy). A quantidade de 200 g de tecido vegetal seco foi pesada e submetida à digestão sulfúrica a 350°C , durante 4 horas. O extrato foi destilado em destilador micro Kjeldahl (Tecnal, TE-0363, Brasil), utilizando ácido bórico como solução de captura, e titulado com ácido sulfúrico

0.025 mol L⁻¹ (TEDESCO et al., 1995). As concentrações dos nutrientes no tecido foram apresentadas em g kg⁻¹ para macronutrientes e mg kg⁻¹ para micronutrientes.

As concentrações de P das alíquotas de solução nutritiva coletadas durante a marcha cinética foram determinadas por colorimetria, usando a metodologia de Murphy e Riley (1962), em espectrofotômetro (SF325NM, Bel Engineering, Italy). Foram realizadas leituras de pH nas alíquotas de solução.

4.2.4 Determinação dos parâmetros cinéticos

Após a determinação da concentração de P em função do tempo, medição dos volumes inicial e final de solução no vaso, matéria seca das raízes e parâmetros morfológicos do sistema radicular, foram propostos valores de V_{max} e K_m utilizando o *software* Influx (PAULA et al., 2021). O valor de C_{min} foi estipulado como a concentração de P na solução no último período de coleta (102 horas). O influx (I) foi calculado de acordo com a equação de Michaelis-Menten, com modificações de Neilsen e Barber (1978) (Equação 1):

$$I = \left[\frac{V_{max} \times (C - C_{min})}{K_m + (C - C_{min})} \right] \quad (1)$$

em que: I = taxa de influxo de P; C = concentração de P em cada momento de avaliação; V_{max} = taxa de absorção máxima pelos transportadores de membrana; K_m = constante de Michaelis-Menten (Q_m/V_{t_m}); e C_{min} = concentração mínima de formas de P na solução.

A eficiência de uso de P (PUE) foi calculada usando a equação 2 (SIDDIQI; GLASS, 1981):

$$PUE = \left[\frac{(massa\ seca\ total)^2}{capta\c{c}{a}{o}deP} \right] \quad (2)$$

A massa seca total é fornecida em gramas, a captação de P foi estimada multiplicando a massa seca total (g) pela concentração de P na planta (g kg⁻¹); assim, a captação de P fica na unidade g² kg⁻¹.

A eficiência de absorção de P (PUtE) foi calculada usando a equação 3 (SWIADER; CHYAN; FREIJI, 1994):

(3)

$$PUtE = \frac{\text{teor total de P da planta}}{\text{massa seca de raiz}}$$

em que: o teor total de P da planta é utilizado em g kg^{-1} e a massa seca de raiz, em gramas.

A alocação de P nas plantas foi estimada utilizando o índice proposto por Fitter e Setters (1988) e Dale e Causton (1992). O índice de alocação de P (PAI) em um órgão foi expresso pela equação 4:

(4)

$$PAI = \frac{Po/Pp}{Mo/Mp}$$

em que: P_o representa a concentração de P no referido órgão (g kg^{-1}) e P_p , a concentração de P em toda a planta (g kg^{-1}). O M_o é a biomassa do órgão (g) e M_p é a biomassa de toda a planta (g). PAI é um índice sem unidade.

Um $PAI > 1$ para um determinado órgão indica uma maior alocação proporcional de P (DALE; CAUSTON, 1992).

4.2.5 Análises morfológicas de raízes

As raízes de cada planta foram cuidadosamente lavadas em água destilada e separadas para avaliação morfológica. As raízes foram suspensas em uma bandeja de acrílico transparente coberta por 0,5 cm de água, posicionadas sobre o *scanner*. Em seguida, as raízes foram digitalizadas a 600 dpi, utilizando o *software* WinRHIZO Pro 2013 no *scanner* EPSON Expression 11000 equipado com luz adicional (TPU) (Regent Instruments, Quebec, Canadá). Foram determinados comprimento total, área superficial, volume, diâmetro médio e distribuição percentual de raízes em classes diamétricas. Em seguida, as raízes foram secas em estufa a 65°C por 72 h e, posteriormente, pesadas para a obtenção da massa de matéria seca.

4.2.6 Trocas gasosas

As análises das trocas gasosas nas folhas foram realizadas no final do período de esgotamento de reservas internas das plantas, utilizando um Analisador de Fotossíntese – IRGA (Li-6400, Li-COR Inc., Neb., USA) –, em folhas do terço médio de cada planta. As medições foram realizadas entre 7 e 9 h da manhã na concentração de CO_2 $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e densidade de fluxo de fótons $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A taxa de assimilação líquida da fotossíntese

(A), condutância estomática de CO₂ (G_s), concentração intercelular de CO₂ (C_i), taxa de transpiração (E), eficiência do uso da água (WUE) e eficiência instantânea de carboxilação de Rubisco (A/C_i) foram estimados. Os parâmetros foram calculados a partir de equações pré-estabelecidas por Von Caemmerer e Farquhar (1981).

4.2.7 Determinação de fluorescência da clorofila *a*

Neste mesmo período, também foi realizada a análise da fluorescência da clorofila *a* com o auxílio do fluorômetro de pulso modulado JUNIOR-PAM (Walz, Alemanha). As leituras da fluorescência foram realizadas em folhas no terço superior, no período entre as 6 e 8 h da manhã, sob radiação média de 600 μmol m⁻² s⁻¹. Antes da realização das medições, as folhas foram pré-adaptadas à condição de escuro por um período de 30 minutos, com cobrimento do limbo foliar com um envelope de papel alumínio para a determinação do nível mínimo de fluorescência inicial (F₀) (<0,05 μmol m⁻² s⁻¹ por 1,8 μs). As folhas foram submetidas a um pulso de luz saturante (10.000 μmol m⁻² s⁻¹) por 0,6 s para a determinação da fluorescência máxima (F_m). Os valores referentes às variáveis de fluorescência (F_v = F_m - F₀) e a eficiência quântica máxima da fotoquímica do FSII (F_v/F_m) foram calculados a partir de F₀ e F_m. De acordo com os parâmetros determinados para fluorescência, tanto em condições adaptadas à luz quanto escuras, foram calculadas a eficiência quântica (Equação 5) e a dissipação não-fotoquímica (Equação 6) (MAXWELL; JOHNSON, 2000).

(5)

$$\text{FSII (Fv/Fm)} = \frac{(Fm - F0)}{(Fm)}$$

(6)

$$(\text{NPQ} = Fm/Fm' - 1)$$

4.2.8 Determinação de pigmentos fotossintéticos e variáveis bioquímicas

Após o término das coletas das alíquotas de solução, folhas e raízes de uma repetição de cada tratamento foram coletadas imediatamente e congeladas em N líquido. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em ultra freezer, a -80°C, até o momento de realização das análises. As amostras foram maceradas em N líquido (apêndice G) para a determinação de pigmentos fotossintéticos, atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

e enzima peroxidase (POD), concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e atividade da enzima fosfatase ácida.

A concentração de H_2O_2 foi determinada com base na metodologia de Loreto e Velikova (2001). Para tanto, 0,1 g do tecido vegetal foi homogeneizado em 3,0 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v) e, posteriormente, centrifugado a 12.000 rpm por 10 min a 4°C. 0,5 mL de sobrenadante foi adicionado com 0,5 mL de tampão fosfato de potássio (10 mM) (pH 7,0) e 1 mL de KI (1 mol L⁻¹). A absorbância foi determinada em espectrofotômetro (Bel Photonics, 1105, Brasil) no comprimento de onda de 390 nm.

Para a determinação da atividade das enzimas SOD e POD, meio grama de material vegetal foi homogeneizado em 3 mL de solução tampão fosfato de sódio (0,05 mol L⁻¹) a pH 7,8, incluindo 1 mM de EDTA e 0,5% de Triton X-100. O extrato homogeneizado foi centrifugado a 13.000 g por 20 min a 4°C. As atividades enzimáticas e o teor de proteína foram determinados usando o sobrenadante (BRADFORD, 1976; ZHU et al., 2004). A atividade das peroxidases não específicas presentes no extrato foi determinada segundo Zeraik et al. (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato. A atividade da SOD foi determinada com base no método espectrofotométrico descrito por Giannopolitis e Ries (1977). Três mililitros de uma mistura contendo 50 mM de tampão fosfato de potássio (pH 7,8), metionina (13 mM), EDTA (0,1 µM), NBT (75 µM) e riboflavina (2 µM) foram adicionados aos tubos, que foram incubados sob lâmpadas fluorescentes (15 watts) por 3 min. A absorbância foi determinada em espectrofotômetro (Bel Photonics, 1105, Brasil) no comprimento de onda de 560 nm. A inibição da redução de NBT (ρ-nitro azul tetrazólio) por extrato enzimático foi determinada com base neste método espectrofotométrico. Tubos livres de extrato expostos ou não à luz foram usados como branco para a reação. A atividade da SOD foi determinada calculando a quantidade de extrato que inibe a reação de NBT a 50% e foi expressa como U mg⁻¹ proteína.

Raízes e folhas congeladas e homogeneizadas foram centrifugadas a 20.000 x g por 30 minutos e o sobrenadante resultante foi usado para a determinação da atividade da enzima fosfatase ácida (APase), de acordo com Tabaldi et al. (2007), em um meio de reação consistindo de 3,5 mM de azida sódica, 2,5 mM de cloreto de cálcio e 100 mM de tampão citrato (pH 5,5) em um volume final de 200 µL. Adicionou-se uma alíquota de 20 µL da preparação enzimática na mistura de reação, exceto nos controles, e pré-incubada por 10 minutos a 35°C. A reação foi iniciada pela adição do substrato (PPi, na concentração final de 3,0 mM) e interrompida pela adição de 200 µL de TCA 10% em uma concentração final de

5%. O fosfato inorgânico (Pi) foi quantificado a 630 nm usando verde malaquita como reagente colorimétrico e KH_2PO_4 como padrão para a curva de calibração.

A concentração de pigmentos fotossintéticos foi determinada com base na metodologia proposta por Hiscox e Israelstam (1979), usando fórmulas de Lichtenthaler (1987). 0,05 g de material vegetal foram pesados e, em seguida, incubados por 5 min a 65°C em 40 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) até que os pigmentos fossem totalmente removidos dos tecidos avaliados. A absorvância da solução sobrenadante foi determinada em espectrofotômetro (Bel Photonics, 1105, Brasil) nos comprimentos de onda 663, 645 e 470 nm para determinação da clorofila *a* e *b*, e carotenóides, respectivamente. A clorofila total resulta da soma dos valores de clorofila *a* e *b*.

4.2.9 Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram submetidos aos testes de Bartlett (SNEDECOR; COCHRAN, 1983) e Shapiro-Wilk para verificar a homogeneidade das variâncias e a normalidade dos resíduos, respectivamente. A análise de variância foi realizada com o auxílio do pacote “ExpDes.pt” (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013), sendo realizado um teste de dois fatores para comparar (i) porta-enxertos e (ii) efeito das variedades copas e, quando as implicações foram significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). O teste Tukey também foi utilizado para a comparação dos resultados obtidos em parâmetros cinéticos: V_{\max} , K_m e C_{\min} ($p < 0,01$), bem como as diferenças de concentrações de P ao longo das horas.

Para avaliar a relação entre as variáveis resposta e os tratamentos, realizou-se a análise multivariada de componentes principais (PCA) utilizando os pacotes “factoextra” (KASSAMBARA; MUNDT, 2020) e “FactoMineR” (LÊ; JOSSE; HUSSON, 2008). Todas as análises estatísticas do estudo foram realizadas no ambiente estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2021).

4.3 RESULTADOS

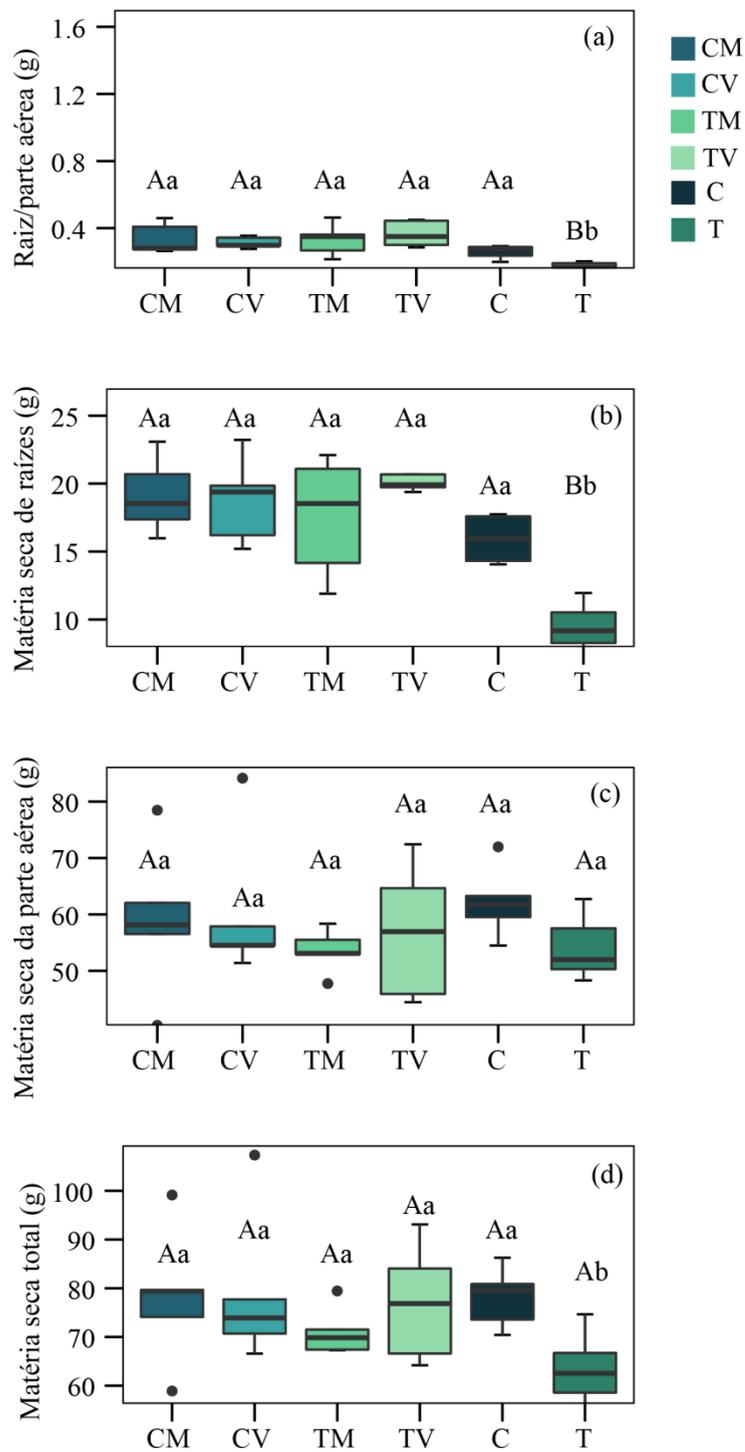
4.3.1 Produção de matéria seca e variáveis morfológicas do sistema radicular

O menor valor de produção de matéria seca de raízes (RDM) foi observado nas plantas do porta-enxerto ‘T’ (9,6g). O valor observado foi 1,6 vezes menor que o verificado no porta-enxerto ‘C’ (15,9g) (Figura 1b). Os valores de RDM não diferiram estatisticamente entre as

plantas enxertadas ('CM', 'CV', 'TM' e 'TV') (Figura 1b). A matéria seca da parte aérea (SDM) não diferiu estatisticamente entre os porta-enxertos e as plantas enxertadas (Figura 1c).

Figura 1 – Razão raiz/parte aérea (a), matéria seca de raiz (b), matéria seca da parte aérea (c), matéria seca total das plantas (d) dos porta-enxertos 'Trifoliata' (T) e 'Citrumelo' (C) e porta-enxerto/enxerto 'Citrumelo + Montenegrina' (CM), 'Citrumelo + Valência' (CV), 'Trifoliata + Montenegrina' (TM) e 'Trifoliata + Valência' (TV), cultivadas em solução de Hoagland após 10 dias de redução de reservas internas de nutrientes m solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$)¹.

¹ As médias seguidas com letras maiúsculas diferem entre os porta-enxertos de suas variedades enxertadas (C x CM x CV; T x TM x TV), e as médias seguidas por letras minúsculas diferem as variedades de porta-enxertos e enxertos entre si (CM x CV x TM x TV), utilizando o teste Tukey ($p > 0,05$). A barra vertical indica o desvio-padrão entre as médias.



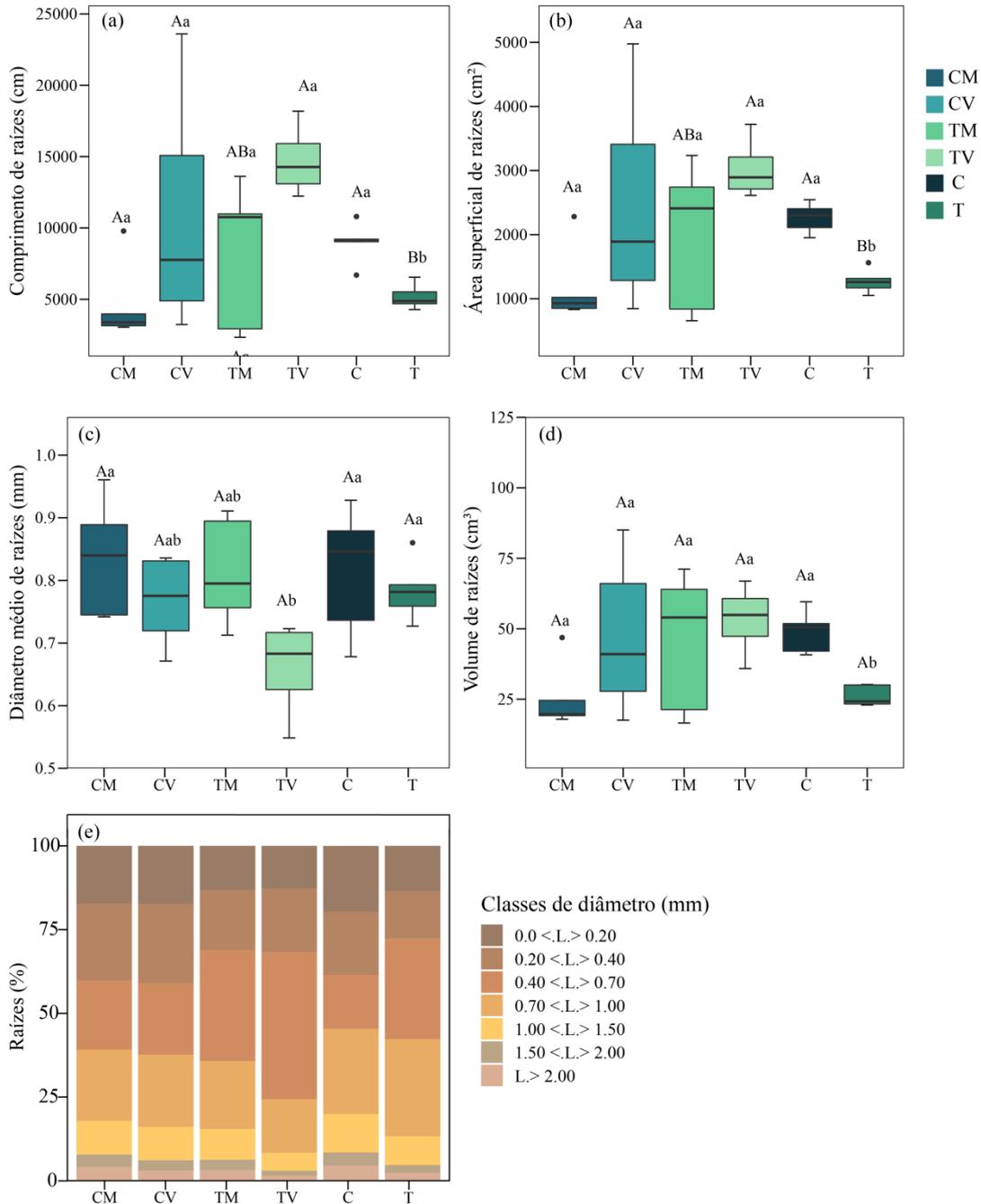
Fonte: Elaborado pela autora.

Os menores valores de comprimento e a área superficial de raízes foram observados no porta-enxerto 'T', enquanto 'TM' apresentou valor intermediário de comprimento e área superficial de raízes (Figura 2a, 2b). Os valores de comprimento e área superficial de raízes não diferiram estatisticamente entre as plantas do porta-enxerto 'C' e seus enxertos.

As plantas 'TV' apresentaram os menores valores de diâmetro médio de raízes (Figura 2c) e o maior percentual de raízes finas ($< 1,0$ mm de diâmetro) (Figure 2e), comparativamente as demais plantas enxertadas. O volume médio de raízes foi menor no porta-enxerto 'T' (Figura 2d).

Figura 2 – Comprimento de raízes (a), área superficial de raízes (b), diâmetro médio de raízes (c), volume de raízes (d) e porcentagem de raízes nas classes e diâmetro (e) dos porta-enxertos 'Trifoliata' (T) e 'Citrumelo' (C) e porta-enxerto/enxerto 'Citrumelo + Montenegrina' (CM), 'Citrumelo + Valência' (CV), 'Trifoliata + Montenegrina' (TM) e 'Trifoliata + Valência' (TV), cultivadas em solução de Hoagland após 10 dias de redução de reservas internas de nutrientes m solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$)².

² As médias seguidas com letras maiúsculas diferem entre os porta-enxertos de suas variedades enxertadas (C x CM x CV; T x TM x TV), e as médias seguidas por letras minúsculas diferem as variedades de porta-enxertos e enxertos entre si (CM x CV x TM x TV), utilizando o teste Tukey ($p > 0,05$). A barra vertical indica o desvio-padrão entre as médias.



Fonte: Elaborado pela autora.

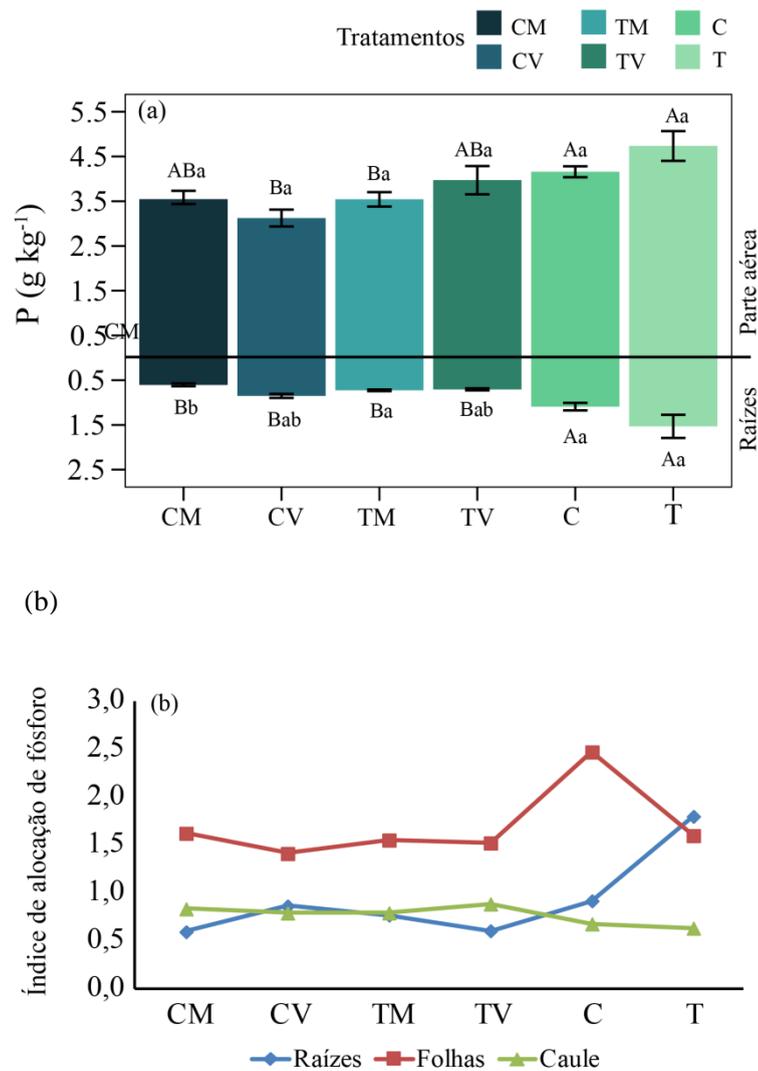
4.3.2 Concentração de P na parte-aérea e raízes e índice de alocação de P (PAI)

As concentrações de P na parte aérea e nas raízes diferiram estatisticamente entre os porta-enxertos e as plantas enxertadas (Figura 3a). As plantas enxertadas apresentaram as menores concentrações de P na parte aérea e raízes, comparativamente aos porta-enxertos (Figura 3a).

A menor concentração de P na parte aérea foi observada nos enxertos 'CV' e 'TM'. Nas raízes, a menor concentração de P foi observada em 'CM'.

As plantas de porta-enxertos e plantas enxertadas apresentaram a maior alocação de P em folhas (PAI > 1), comparativamente ao caule e raízes (PAI < 1) (Figura 3b). Entretanto, o porta-enxerto 'T' apresentou os maiores valores de PAI > 1 nas raízes (Figura 3b).

Figura 3 – Concentração de P na parte aérea e raízes (a) e Alocação de P em folhas, caule e raízes (PAI) (b) dos porta-enxertos 'Trifoliata' (T) e 'Citrumelo' (C) e porta-enxerto/enxerto 'Citrumelo + Montenegrina' (CM), 'Citrumelo + Valência' (CV), 'Trifoliata + Montenegrina' (TM) e 'Trifoliata + Valência' (TV), cultivadas em solução de Hoagland após 10 dias de redução de reservas internas de nutrientes m solução de CaSO_4 (0,01 mol L⁻¹)³.



Fonte: Elaborado pela autora.

³ As médias seguidas com letras maiúsculas diferem entre os porta-enxertos de suas variedades enxertadas (C x CM x CV; T x TM x TV), e as médias seguidas por letras minúsculas diferem as variedades de porta-enxertos e enxertos entre si (CM x CV x TM x TV), utilizando o teste Tukey (p>0,05). A barra vertical indica o desvio-padrão entre as médias.

4.3.3 Cinética de absorção de P e eficiências do uso (PUE) e da absorção de P (PUtE)

Os valores de variáveis relacionadas à cinética de absorção de P, V_{\max} (MMSR), K_m e C_{\min} não diferiram entre os porta-enxertos e seus enxertos (Tabela 1).

Tabela 1 – Parâmetros cinéticos relacionados à absorção de P nos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C), e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas em solução de Hoagland, após 10 dias de redução de reservas internas de nutrientes m solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$)⁴.

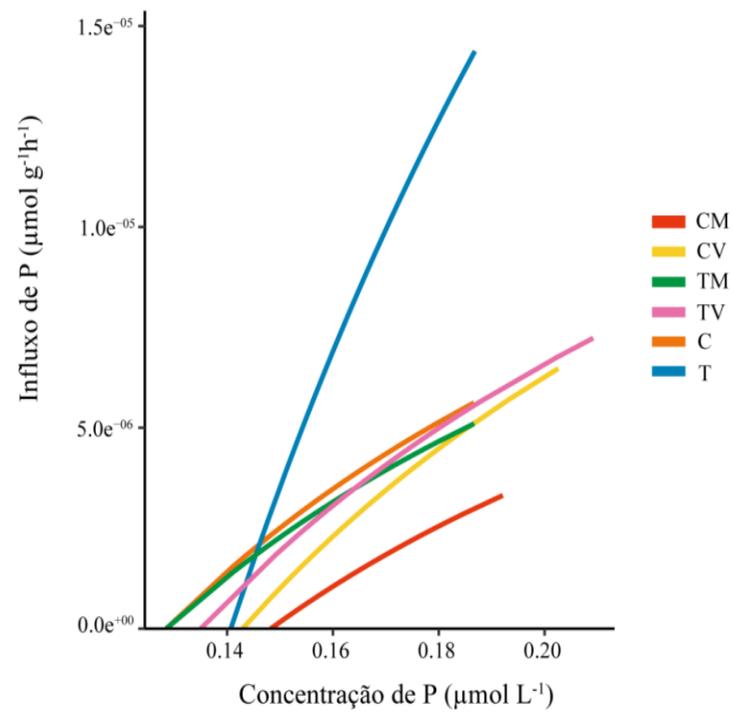
Tratamento	V_{\max} (MMSR) --- $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ---	K_m --- $\mu\text{mol L}^{-1}$ ---	C_{\min}
CM	$1.57712e^{-05}$ Aa	0.164629 Aa	0.148241 Aa
CV	$2.40547e^{-05}$ Aa	0.161939 Aa	0.142915 Aa
TM	$1.88354e^{-05}$ Aa	0.156574 Aa	0.128499 Aa
TV	$2.34862e^{-05}$ Aa	0.166758 Aa	0.135003 Aa
C	$2.07625e^{-05}$ Aa	0.156574 Aa	0.128499 Aa
T	$6.50929e^{-05}$ Aa	0.162794 Aa	0.140688 Aa

Fonte: Elaborado pela autora

O maior valor de influxo (I) de P relacionado com MMSR foi observado no porta-enxerto ‘T’ (Figura 4). Ao longo do tempo, as absorções de P pelos transportadores diminuíram até atingir o C_{\min} . Após 87 horas de avaliação, as concentrações de P na solução chegaram ao C_{\min} para o porta-enxerto ‘T’ e, após 91 horas, para o porta-enxerto ‘C’ e para as plantas enxertadas ‘CM’ e ‘TM’ (Figura 5). As plantas enxertadas com ‘Valência’, ‘CV’ e ‘TV’ atingiram o C_{\min} pós 90 horas (Figura 5).

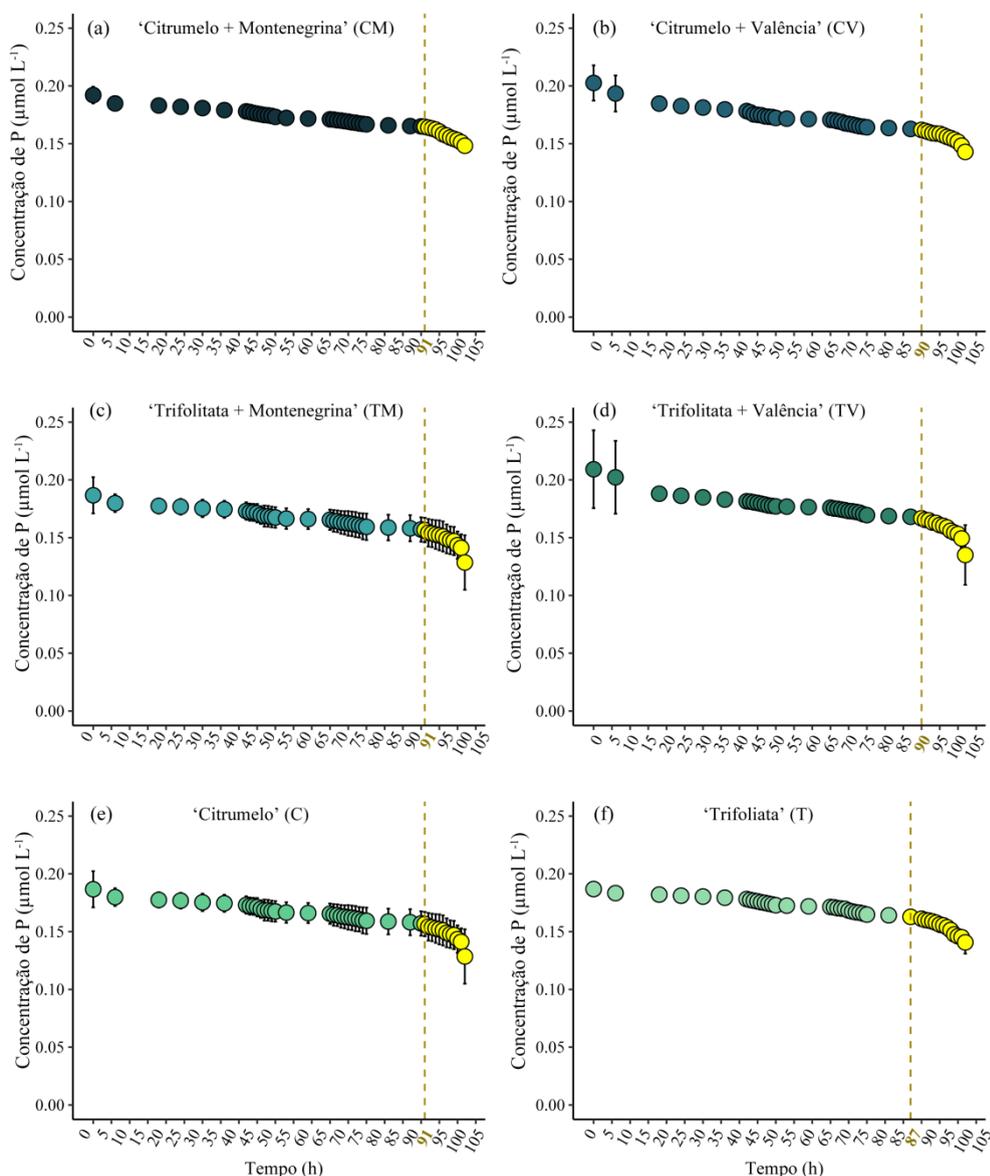
Figura 4 – Taxa de Influxo ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de P nos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C), e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após 10 dias de redução de reservas internas de nutrientes m solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).

⁴ Letras maiúsculas comparam as variedades enxertadas (CM, CV, TM e TV) das não enxertadas (C e T), e as médias seguidas por letras minúsculas comparam as variedades entre si utilizando o teste Tukey ($p > 0,01$).



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 5 – Concentrações de P na solução das plantas de porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM) (a), ‘Citrumelo + Valência’ (CV) (b), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) (c) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV) (d), e dos porta-enxertos ‘Citrumelo’ (C) (e) e ‘Trifoliata’ (T) (f), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$)⁵.



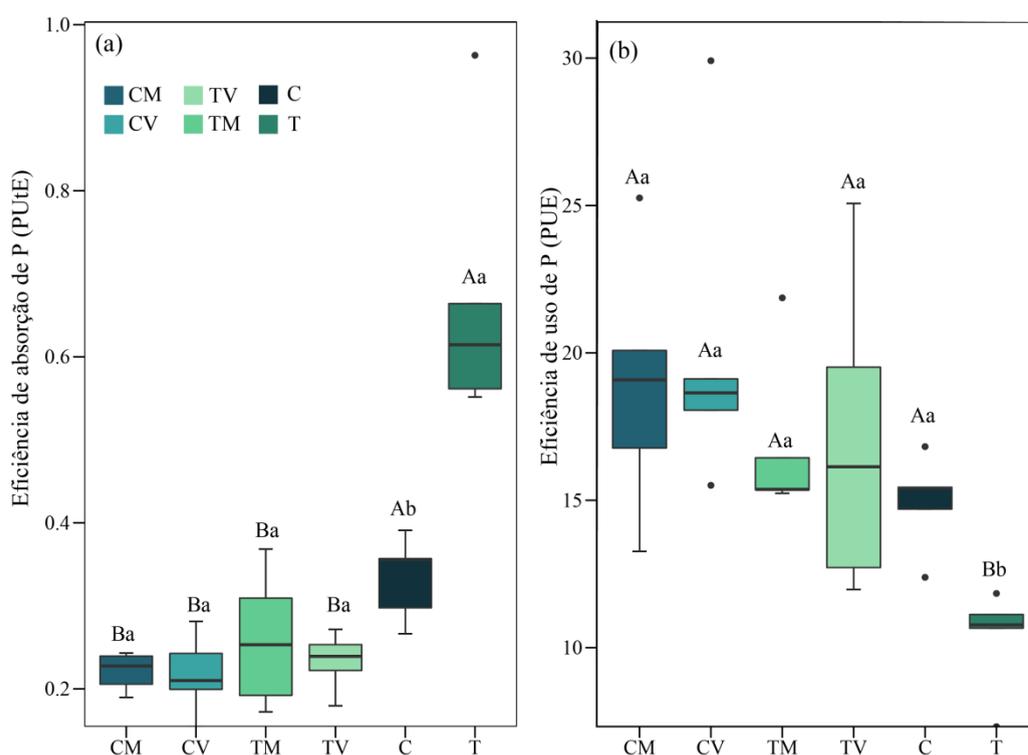
Fonte: Elaborado pela autora.

O maior valor de eficiência de absorção de P (PUtE) foi observado no porta-enxerto ‘T’ (Figura 6a). Os valores de PUtE foram maiores nos porta-enxertos, comparativamente aos enxertos (Figura 6a). A eficiência de uso de P (PEU) foi menor no porta-enxerto ‘T’, comparativamente ao ‘C’. Foram encontrados valores menores de PEU no porta-enxerto ‘T’ do que ele enxertado (Figura 6b). Os valores de PEU não diferiram estatisticamente entre as plantas enxertadas ‘CM’, ‘CV’, ‘TM’ e ‘TV’ (Figura 6b), mas observamos uma tendência de

⁵ A cor amarela representa o tempo em que cada porta-enxerto e porta-enxerto/enxerto alcançou ao C_{min} .

maiores valores de PEU em ‘CM’ em relação às demais plantas enxertadas e de porta-enxertos.

Figura 6 – Eficiências de absorção de P (a) e de uso de P (b) em porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C), e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$)⁶.



Fonte: Elaborado pela autora.

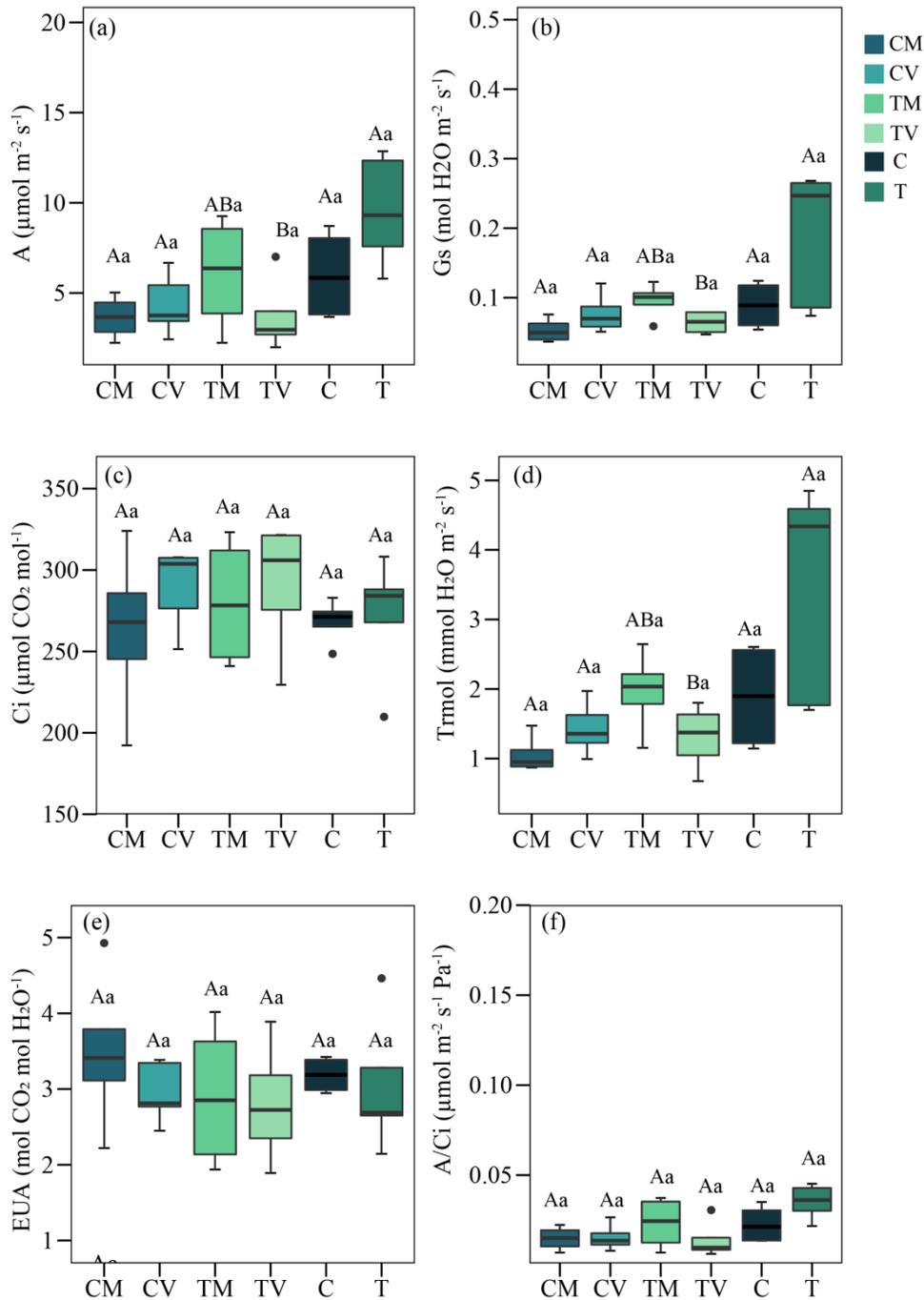
4.3.4 Trocas gasosas

Os valores das variáveis referentes às trocas gasosas não diferiram estatisticamente entre os enxertos nos dois porta-enxertos (‘CM’, ‘CV’, ‘TM’, ‘TV’) (Figura 7). O porta-enxerto ‘T’ apresentou os maiores valores de taxa de assimilação líquida da fotossíntese (A), condutância estomática de CO_2 (Gs) e taxa de transpiração (E), comparativamente aos seus enxertos (Figura 7a,b, d).

Figura 7 – Taxa de assimilação líquida da fotossíntese (A) (a), condutância estomática de CO_2 (Gs) (b), concentração intercelular de CO_2 (Ci) (c), taxa de transpiração (Trmol) (d), eficiência do uso da água (e), eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) (f), em porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C), e porta-

⁶ As médias seguidas com letras maiúsculas diferem entre os porta-enxertos de suas variedades enxertadas (C x CM x CV; T x TM x TV), e as médias seguidas por letras minúsculas diferem as variedades de porta-enxertos e enxertos entre si (CM x CV x TM x TV), utilizando o teste Tukey ($p > 0,05$). A barra vertical indica o desvio-padrão entre as médias.

enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$)⁷.



Fonte: Elaborado pela autora.

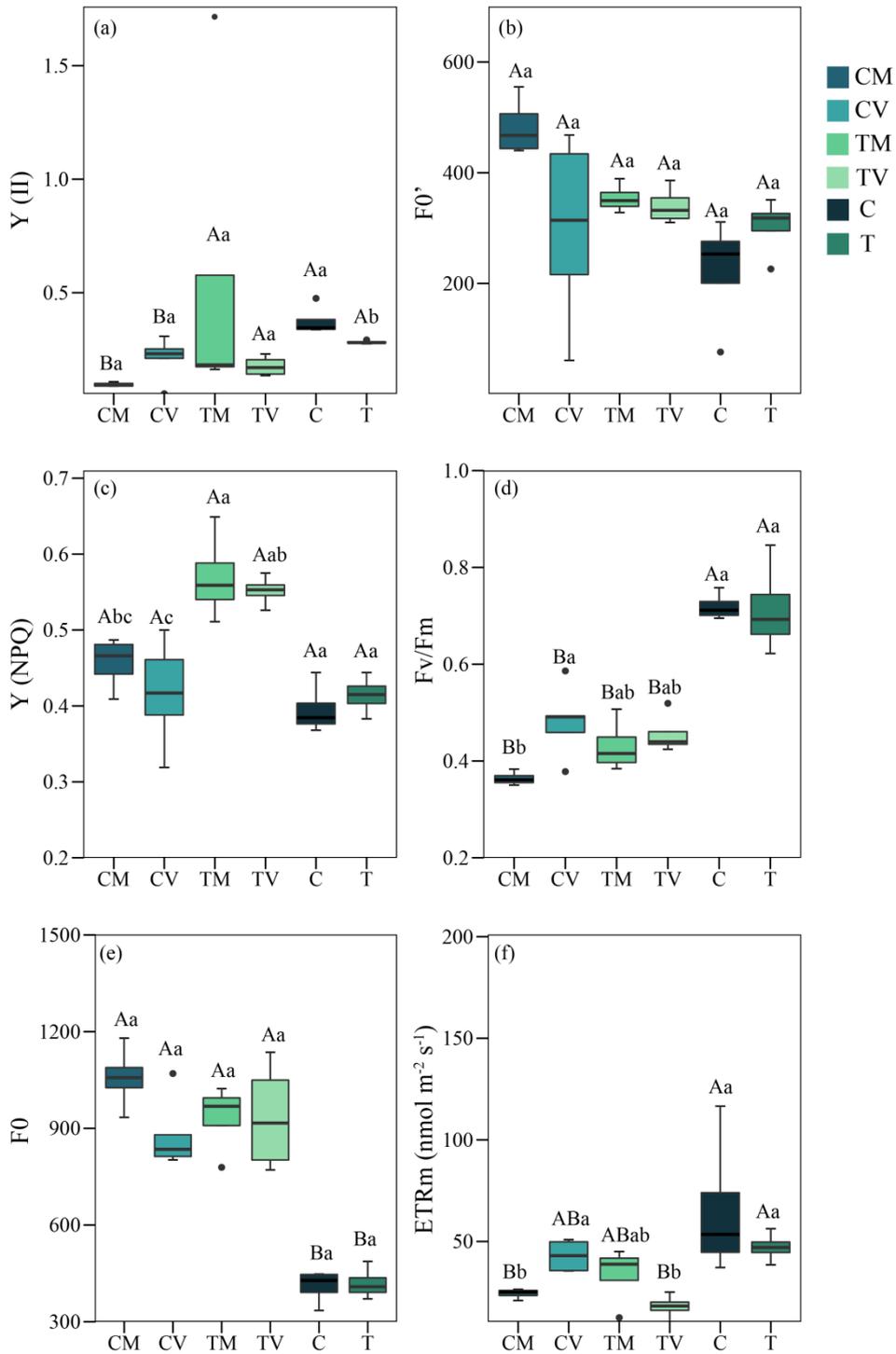
4.3.5 Fluorescência da clorofila *a*

⁷ As médias seguidas com letras maiúsculas diferem entre os porta-enxertos de suas variedades enxertadas (C x CM x CV; T x TM x TV), e as médias seguidas por letras minúsculas diferem as variedades de porta-enxertos e enxertos entre si (CM x CV x TM x TV), utilizando o teste Tukey ($p > 0,05$). A barra vertical indica o desvio-padrão entre as médias.

Os maiores valores de fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), rendimento quântico (F_v/F_m), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR_m) e eficiência fotossintética $Y_{(NPQ)}$ diferiram entre os porta-enxertos e suas plantas enxertadas. As plantas enxertadas 'CM' apresentaram valores maiores de fluorescência inicial se comparados aos valores observados em 'TM', 'TV', 'CV', 'T' e 'C' (Figura 8a). Os porta-enxertos 'T' e 'C' apresentaram valores semelhantes de rendimento quântico (F_v/F_m) e maiores do que os observados nas plantas enxertadas 'CM', 'CV', 'TM' e 'TV' (Figura 8d).

Figura 8 – Eficiência fotossintética ($Y_{(NPQ)}$ e $Y_{(II)}$) (a; c), fluorescência inicial (F_0) (b), rendimento quântico (F_v/F_m) (d), fluorescência máxima (e), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR_m) (f) nos porta-enxertos 'Trifoliata' (T) e 'Citrumelo' (C) e porta-enxerto/enxerto 'Citrumelo + Montenegrina' (CM), 'Citrumelo + Valência' (CV), 'Trifoliata + Montenegrina' (TM) e 'Trifoliata + Valência' (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de $CaSO_4$ ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$)⁸.

⁸ As médias seguidas com letras maiúsculas diferem entre os porta-enxertos de suas variedades enxertadas (C x CM x CV; T x TM x TV), e as médias seguidas por letras minúsculas diferem as variedades de porta-enxertos e enxertos entre si (CM x CV x TM x TV), utilizando o teste Tukey ($p > 0,05$). A barra vertical indica o desvio-padrão entre as médias.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.3.6 Pigmentos fotossintéticos e variáveis bioquímicas

Os valores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides foram maiores nos porta-enxertos, comparativamente aos seus enxertos. Contudo, os valores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides não diferiram entre os porta-enxertos (Figura 9a, b, c

d). O enxerto ‘TM’ apresentou os maiores valores de clorofila *a* e clorofila total (Figura 9a, d).

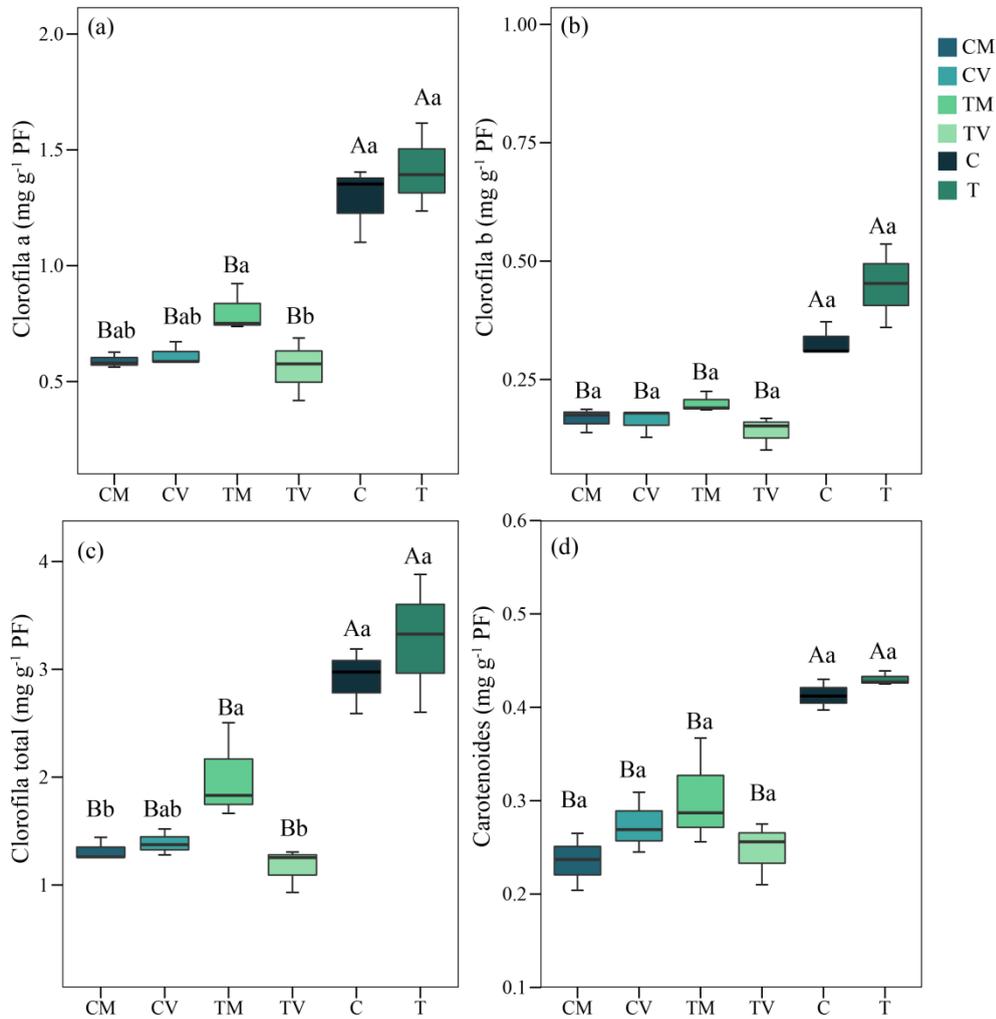
Na parte aérea, a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) dos enxertos foi maior do que o observado nos porta-enxertos ‘T’ e ‘C’ (Figura 10a). As plantas enxertadas ‘TM’ apresentaram 20% maior atividade da enzima peroxidase (POD) na parte aérea, comparativamente aos demais enxertos (Figura 10). Os menores valores da atividade de SOD nas raízes e POD na parte aérea foram verificados nas plantas enxertadas ‘TV’ (Figuras 11a e 10b).

As concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na parte aérea entre os porta-enxertos foi maior em ‘C’ (Figura 10c). Os enxertos dos porta-enxertos ‘T’ apresentaram maiores concentrações de H_2O_2 na parte aérea (Figura 10c). Os enxertos de ‘C’ apresentaram maiores concentrações de H_2O_2 nas raízes (Figura 11c)

A maior atividade da enzima fosfatase ácida na parte aérea (APase) nos enxertos foi em ‘CM’, sendo ainda maior do que a atividade em seu porta-enxerto. A menor atividade da APase foi observada no enxerto ‘TV’ (Figura 10d). Os maiores valores da atividade da APase nas raízes foram observados nos porta-enxertos, em relação aos enxertos (Figura 11d). No entanto, a atividade da enzima fosfatase nas raízes não diferiu estatisticamente entre os porta-enxertos ‘T’ e ‘C’, o que também foi observado entre as raízes das plantas enxertadas ‘TV’, ‘CV’, ‘TM’ e ‘CM’ (Figura 11d).

Figura 9 – Pigmentos fotossintéticos: Clorofila *a* (a), Clorofila *b* (b), Clorofila total (c) e Carotenoides (d) dos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C), e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland, após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de $CaSO_4$ ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$)⁹.

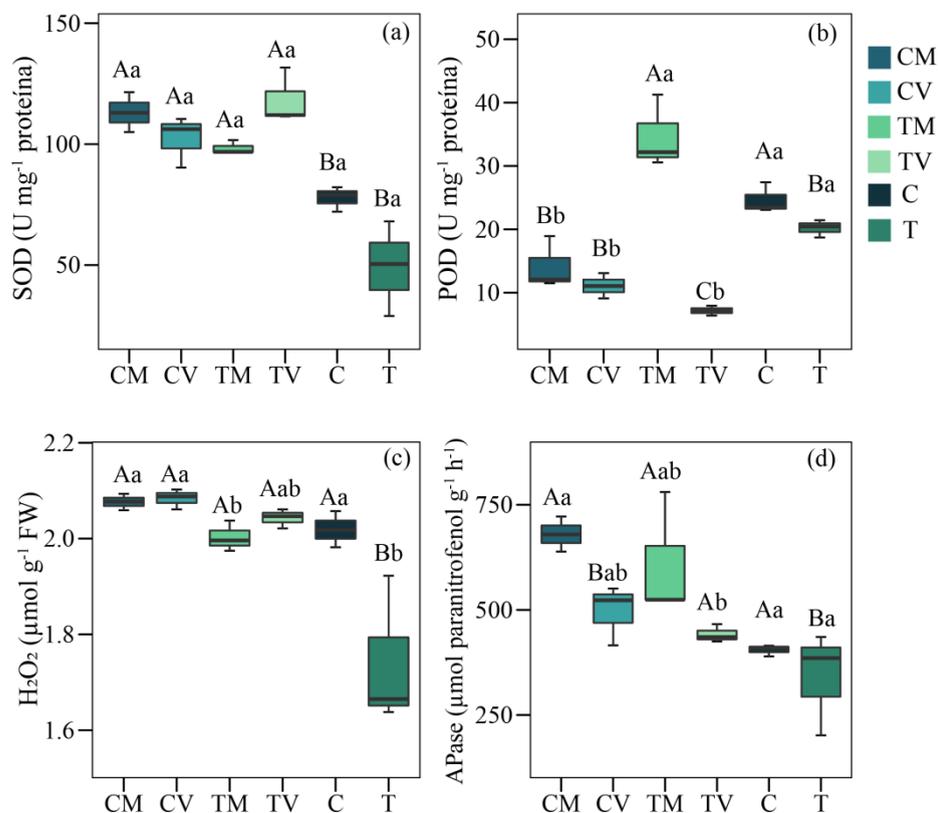
⁹ As médias seguidas com letras maiúsculas diferem entre os porta-enxertos de suas variedades enxertadas (C x CM x CV; T x TM x TV), e as médias seguidas por letras minúsculas diferem as variedades de porta-enxertos e enxertos entre si (CM x CV x TM x TV), utilizando o teste Tukey ($p > 0,05$). A barra vertical indica o desvio-padrão entre as médias.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 10 – Estresse oxidativo nas folhas: Atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD) (a), Atividade da enzima peroxidase (POD) (b), Concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (c) e Atividade da enzima fosfatase ácida (Apase) (d) dos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C) e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV), cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO₄ (0,01 mol L⁻¹)¹⁰.

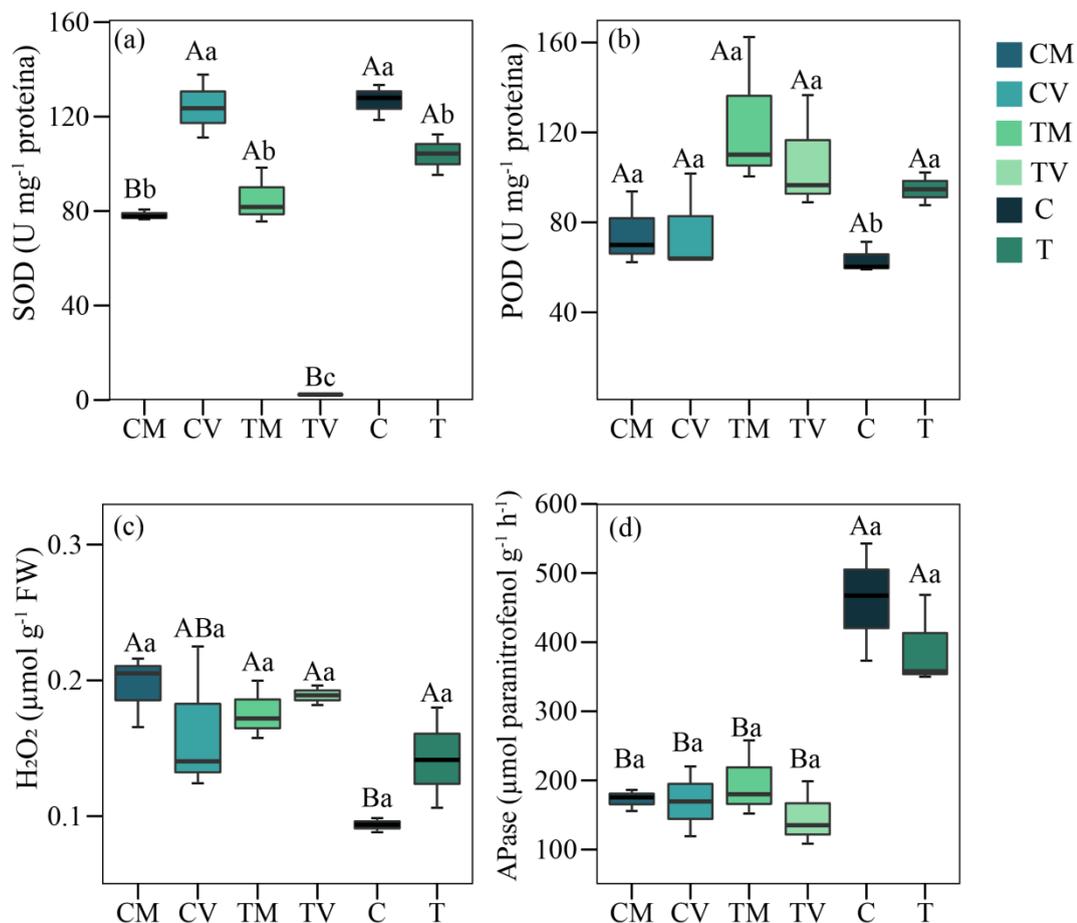
¹⁰ As médias seguidas com letras maiúsculas diferem entre os porta-enxertos de suas variedades enxertadas (C x CM x CV; T x TM x TV), e as médias seguidas por letras minúsculas diferem as variedades de porta-enxertos e enxertos entre si (CM x CV x TM x TV), utilizando o teste Tukey (p>0,05). A barra vertical indica o desvio-padrão entre as médias.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 11 – Estresse oxidativo nas raízes: Atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD) (a), Atividade da enzima peroxidase (POD) (b), Concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (c) e Atividade da enzima fosfatase ácida (Apase) (d) dos porta-enxertos ‘Trifoliata’ (T) e ‘Citrumelo’ (C) e porta-enxerto/enxerto ‘Citrumelo + Montenegrina’ (CM), ‘Citrumelo + Valência’ (CV), ‘Trifoliata + Montenegrina’ (TM) e ‘Trifoliata + Valência’ (TV) cultivadas durante 102 horas em solução de Hoagland após esgotamento de reservas internas de nutrientes em solução de CaSO₄ (0,01 mol L⁻¹)¹¹.

¹¹ As médias seguidas com letras maiúsculas diferem entre os porta-enxertos de suas variedades enxertadas (C x CM x CV; T x TM x TV), e as médias seguidas por letras minúsculas diferem as variedades de porta-enxertos e enxertos entre si (CM x CV x TM x TV), utilizando o teste Tukey (p>0,05). A barra vertical indica o desvio-padrão entre as médias.



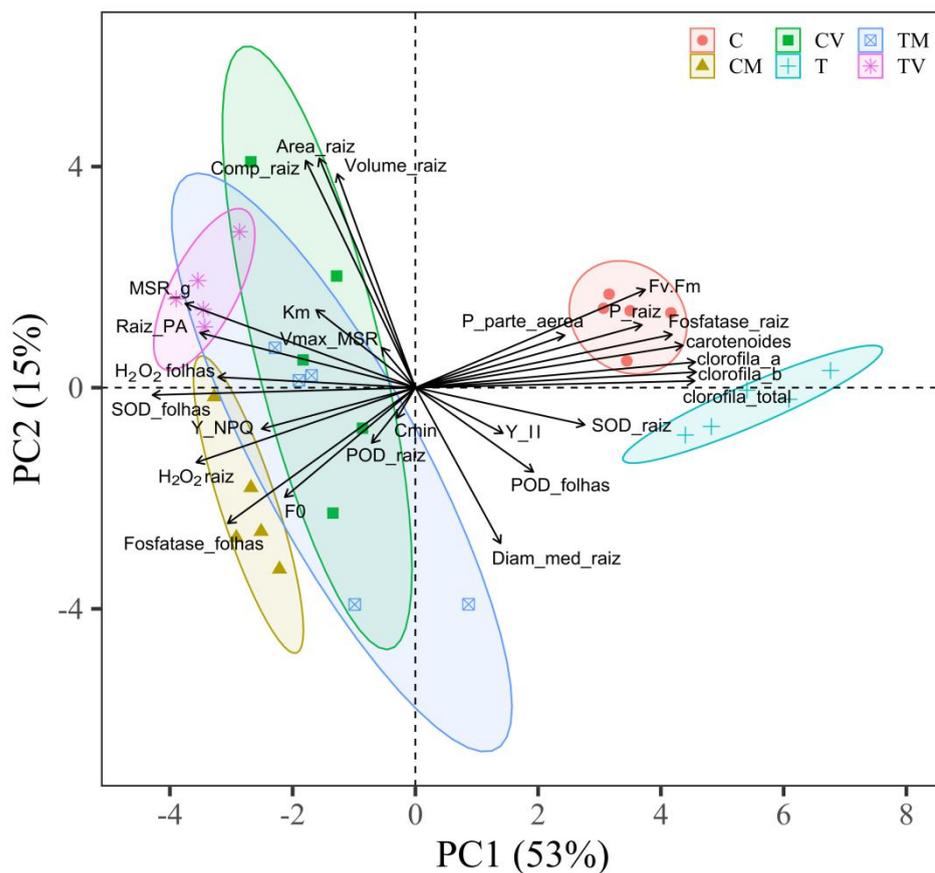
Fonte: Elaborado pela autora.

4.3.7 Análise de componentes principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada utilizando as variáveis dos parâmetros cinéticos e as que demonstraram diferença estatística na comparação de médias (Tukey $p < 0,05$), extraíndo apenas os dois primeiros componentes (PC1 e PC2), sendo que o somatório explicou aproximadamente 68% da variabilidade original dos resultados (Figura 12). Destes, o PC1 explicou 53% e 15% pelo PC2. Assim, a relação entre o PC1 e PC2 foi eficiente na formação dos tratamentos em dois agrupamentos: grupo posicionado à direita, em que os porta-enxertos 'T' e 'C' tiveram maior relação; e grupo posicionado à esquerda, composto pelas plantas enxertadas 'CM', 'CV', 'TM' e 'TV'. Os porta-enxertos 'T' e 'C' apresentaram relação positiva com as variáveis resposta de concentração de P em raiz, concentração de P na parte aérea, atividade da enzima fosfatase ácida na raiz e para os pigmentos fotossintéticos: clorofila a, clorofila b, clorofila total e carotenoides. Por outro lado, os tratamentos 'CM', 'CV', 'TM' e 'TV' apresentaram relações positivas com as variáveis cinéticas (K_m e V_{max}), com as variáveis morfológicas de raiz (comprimento, área superficial e

volume), com a matéria seca de raiz (relação parte aérea/raiz) e com a concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Além disso, a relação entre o PC1 e PC2 foi totalmente eficiente em separar os dois porta-enxertos, ‘T’ e ‘C’. Mas, para as plantas enxertadas ‘CM’, ‘CV’, ‘TM’ e ‘TV’, a separação foi mais sutil (elipses se pertencendo), indicando possíveis similaridades nas características dos materiais avaliados, que podem ser potencializadas pela utilização do método da enxertia.

Figura 12 – Análise de componentes principais das variáveis dos parâmetros cinéticos e variáveis bioquímicas, concentração de nutrientes e parâmetros morfológicos de raiz que demonstraram diferença estatística na comparação de médias (Tukey $p < 0,05$).



Fonte: Elaborado pela autora.

4.4 DISCUSSÃO

A maior relação raiz/parte aérea (R/PA) nos enxertos, em relação aos porta-enxertos (Figura 1a), pode ser atribuída à enxertia, que pode proporcionar maior assimilação de carbono (C) na parte aérea (FULLANA-PERICÀS et al., 2020). Parte do C assimilado pode ser destinado ao crescimento de órgãos jovens, como a emissão de raízes jovens (LEE et al., 2016; XUAN; BEECKMAN; XU, 2017). Porém, no estudo, não foram observadas grandes

diferenças entre as variáveis morfológicas do sistema radicular entre os enxertos e os porta-enxertos.

O ‘T’ apresentou as maiores concentrações de P na parte aérea e raízes e maior índice PAI (Figura 3a, b), provavelmente porque produziu menores quantidades de matéria seca da parte aérea e raízes, o que aumenta a concentração de P em um determinado órgão (PAZ; RAMOS; VISCONTI, 2022). Mas, nos porta-enxertos e enxertos, porção significativa do P foi encontrada nas folhas, provavelmente por causa da intensa divisão e alongação celular, além de o P ser requerido em grandes quantidades no processo fotossintético. Por isso, as folhas se tornam dreno de nutrientes, como o P (LAMBERS et al., 2011; TEGEDER; MASCLAUX-DAUBRESSE, 2018). Mas também, ao longo do crescimento das plantas, raízes novas são emitidas, absorvendo parte do P presente na solução do solo, o que aumenta a porção de P no órgão (LEE et al., 2016; XUAN et al., 2017), explicando a presença de P também no sistema radicular. Em plantas jovens, a maior parte de P presente nas raízes é redistribuída para os órgãos de crescimento da parte aérea, especialmente ramos do ano e folhas (LI et al., 2015; HERSCHBACH et al., 2022). O caule, também localizado na parte aérea, normalmente é responsável pelo fluxo de nutrientes das raízes para a parte aérea (CASALI et al., 2011; PICCIN et al., 2017; KULMANN et al., 2021), explicando, inclusive, a menor porção de P nesse órgão.

Os valores de variáveis cinéticas relacionadas à absorção de P, como V_{max} , C_{min} e K_m , não diferiram estatisticamente entre os porta-enxertos, entre os enxertos ou entre os porta-enxertos e seus enxertos (Tabela 1). Isso pode ser explicado, parcialmente, porque as plantas podem acumular P em órgãos, especialmente nos perenes, como raízes (KULMANN et al., 2021; HERSCHBACH et al., 2022). O P pode ser acumulado na forma orgânica (P_o), metabolicamente ativo no citoplasma (P_{SO}), em fosfolipídios (P_{LIP}), P associado aos ácidos ribonucleico e desoxirribonucleico, RNA e DNA (P_{RNA} e P_{DNA}), como fosfoproteínas (P_{RES}), e como P inorgânico (P_i) (PICCIN et al., 2017; KULMANN et al., 2021). Parte das formas de P acumuladas pode ser redistribuída para órgãos em crescimento, diminuindo a demanda e o decréscimo de P na solução (VALADARES et al., 2015; PICCIN et al., 2017; POIRIER; JASKOLOWSKI; CLÚA, 2022).

Destacamos que o maior valor de influxo, que é a velocidade líquida de absorção do íon em uma solução de concentração, foi observado no ‘T’ (Figura 4), que apresentou a menor produção de matéria seca da parte aérea, raízes e, inclusive, comprimento de raízes. Isso pode ter acontecido porque as raízes do ‘T’ podem apresentar maior densidade de transportadores do íon fosfato por área de raiz (HUFNAGEL et al., 2014; JINDO et al., 2016). Isso se justifica

porque, em ambientes com baixas concentrações de um determinado nutriente, as plantas podem sintetizar mais proteínas transportadoras de P na membrana plasmática das células epidérmicas da raiz (MUCHHAL; RAGHOTHAMA, 1999; JINDO et al., 2016). Além disso, as plantas podem apresentar mais transportadores envolvidos na translocação ou redistribuição de fosfato na parte aérea (JINDO et al., 2016). Isso também pode explicar, em parte, as maiores concentrações de P na parte aérea e nas raízes e PAI em 'T' (Figura 3b). A absorção, translocação e redistribuição de fosfato na planta pode ocorrer através da ação de vários transportadores nas células vegetais, com distintas estruturas moleculares, localizações e funções (SHUKLA et al. 2016; GRÜN et al., 2017). Com base na identidade, localização subcelular variada (membrana plasmática ou tonoplasto) e presença em diferentes partes das plantas (raízes, caule, folhas ou órgãos reprodutivos), os transportadores de Pi de plantas são agrupados em cinco classes de famílias filogeneticamente distintas: PHT1, PHT2, PHT3, PHT4 e PHT5 (LIU et al., 2016; DAI et al., 2022). Essa diversidade de transportadores pode estar atuando de forma mais efetiva no porta-enxerto 'T'.

Não observamos diferenças significativas nas variáveis fotossintéticas dos porta-enxertos e seus enxertos. Contudo, o porta-enxerto 'T' apresentou valores mais altos de taxa fotossintética, condutância estomática e eficiência instantânea de carboxilação (Figura 7) do que seus enxertos. Além disso, os porta-enxertos 'T' e 'C' apresentaram maiores valores de rendimento quântico e taxa de transferência de elétrons, além de menores valores de taxa de fluorescência (Figura 8). Assim, houve maior aproveitamento da energia luminosa nas reações fotoquímicas e menor perda de energia por fluorescência nesses porta-enxertos. Essas variáveis de trocas gasosas possuem relação direta com o conteúdo de pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a* e *b* e carotenóides) (Figura 9), que foram maiores nos porta-enxertos 'T' e 'C', observando-se maior aproveitamento de energia luminosa para as reações fotoquímicas da fotossíntese. No entanto, esse porta-enxerto foi o que apresentou, em geral, menor produção de matéria seca de raízes e parte aérea e maior concentração de P nesses órgãos, caracterizando efeito de concentração.

O porta-enxerto 'T' também apresentou menores valores de atividades das enzimas superóxido dismutase e fosfatase ácida nas folhas, além de possuir menor conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o que pode indicar ausência ou baixo nível de estresse nessas plantas. O H_2O_2 é uma espécie reativa de oxigênio (ERO), que, quando acumulada em altos níveis nas células, pode ocasionar danos em componentes celulares ou participar de reações com formação de ERO mais danosas às células, como o radical hidroxil (MITTLER et al., 2022). Esses resultados, associados aos resultados de trocas gasosas e crescimento, indicam

que a capacidade metabólica na parte aérea desse porta-enxerto estava adequada e eficiente, provavelmente por causa da maior taxa de influxo de P, bem como maior concentração de P nesses tecidos. Isso pode ter beneficiado todo o metabolismo celular relacionado ao P, principalmente respiração e fotossíntese, não havendo produção excessiva de ERO e necessidade de ativação do sistema de defesa antioxidante, nem mobilização de P de formas orgânicas, papel esse desempenhado pela fosfatase ácida.

Por outro lado, no sistema radicular, a atividade da enzima fosfatase ácida foi maior nos porta-enxertos 'C' e 'T', comparada aos enxertos (Figura 11), o que pode ter relação com a maior capacidade de translocação e redistribuição de P de raízes para parte aérea. Além disso, no porta-enxerto 'C', observou-se menor atividade da enzima POD, o que poderia ocasionar aumento nos níveis de H_2O_2 , o que não foi observado no presente estudo (Figura 11). Provavelmente, outras enzimas peroxidases agiram no sistema, desencadeando a remoção eficiente de H_2O_2 , já que a enzima SOD atua na conversão de radicais superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em H_2O_2 (PAN et al., 2018) e estava ativa nesse porta-enxerto. As ERO, entre elas o H_2O_2 , desempenham papéis fundamentais na detecção de estresses, na integração de diferentes redes de sinalização de resposta ao estresse e na ativação de mecanismos de defesa e aclimatação das plantas (MITTLER et al., 2022). Assim, o conteúdo de H_2O_2 , estando em baixas concentrações, pode estar atuando como molécula sinalizante.

4.5 CONCLUSÕES

Após a realização do estudo e análise dos resultados, constatamos que o porta-enxerto 'T' apresentou valores mais altos de influxo de P, concentrações de P no tecido, trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, e tendência de maior fotossíntese e menor estresse ou necessidade de ativação do sistema antioxidante, indicando ser mais eficiente na absorção de P.

Concluimos, também, que as variedades enxertadas dos porta-enxertos não demonstraram comportamento superior na eficiência de absorção de P do que suas variedades de porta-enxertos. Por fim, o tempo mínimo de avaliação da marcha cinética para alcançar o C_{min} de absorção de P para o porta-enxerto 'T' foi de 87 horas, enquanto que para 'C', 'CM', 'CV', 'TM' e 'TV' foi de 90 a 91 horas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, H. J.; CARMONA, V. M. V.; CAVALCANTE, V. S.; CECILIO FILHO, A. B.; PRADO, R. M.; FLORES, R. A.; BORGES, B. M. M. N.; MAUAD, M. Nutritional and visual diagnosis in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* L.) plants: disorders in physiological activity, nutritional efficiency and metabolism of carbohydrates. **Agronomy**, [S. l.], v. 10, n. 10, out. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy10101572>.
- ANTUNES, E.; VUPPALADADIYAM, A. K.; KUMAR, R.; VUPPALADADIYAM, V. S. S.; SARMAH, A.; ISLAM, M. A.; DADA, T. A circular economy approach for phosphorus removal using algae biochar. **Cleaner and Circular Bioeconomy**, [S. l.], v. 1, 2022, 100005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clcb.2022.100005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772801322000033?via%3Dihub>. Acesso em: 10 jul. 2022.
- ASHWINI, N.; PRAMOD KUMAR, A.; JOSHI, K.; SHARMA, N. C.; SHARMA, N.; SHARMA, N. Synergistic action of humic acid substances and bio-inoculants in guava (*Psidium guajava* L.): impact on growth traits, fruiting, nutrient profiling and rhizosphere stoichiometry in meadow rainy season plant-soil interface. **Journal of Plant Nutrition**, Londres, v. 46, n. 4, p. 574-588, mar. 2022. DOI: 10.1080/01904167.2022.2046069. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01904167.2022.2046069>. Acesso em: 10 jul. 2022.
- BASÍLIO, F.; DIAS, T.; SANTANA, M. M.; MELO, J.; CARVALHO, L.; CORREIA, P.; CRUZ, C. Multiple modes of action are needed to unlock soil phosphorus fractions unavailable for plants: The example of bacteria- and fungi-based biofertilizers. **Applied Soil Ecology**, [S. l.], v. 178, out. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104550>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929139322001664?via%3Dihub>. Acesso em: 15 jul. 2022
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, [S. l.], v. 72, p. 248-255, maio 1976. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- CASALI, C. A.; KAMINSKI, J.; PICCIN, R.; ARBUGERI, F. E.; DONEDA, A. Mineralização das formas de fósforo do tecido de plantas de cobertura. **Informações Agrônomicas**, [S. l.], n. 135, p. 21-24, set. 2011.
- CLAASSEN, N.; BARBER, S.A. A method for characterizing the relation between nutrient concentration and flux into roots of intact plants. **Plant Physiology**, [S. l.], v. 54, n. 4, p. 564-568, out. 1974. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.54.4.564>. Disponível em: <https://academic.oup.com/plphys/article/54/4/564/6074235>. Acesso em: 15 mai. 2022.
- DAI, C.; DAI, X.; QU, H.; MEN, Q.; LIU, J.; YU, L.; GU, M.; XU, G. The rice phosphate transporter OsPHT1;7 plays a dual role in phosphorus redistribution and anther development. **Plant Physiology**, [S. l.], v. 188, n. 4, p. 2272-2288, abr. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/plphys/kiac030>.

DALE, M. P.; CAUSTON, D. R. The ecophysiology of *Veronica chamaedrys*, *V. montana* and *V. officinalis*. IV. Effects of shading on nutrient allocations – a field experiment. **Journal of Ecology**, Londres, v. 80, n. 3, p. 517-526, set. 1992. DOI: <https://doi.org/10.2307/2260695>.

EFROM, C. F. S.; SOUZA, P. V. D. (Org.). **Citricultura do Rio Grande do Sul**: indicações técnicas. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI; DDP, 2018. *E-book*. 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 mai. 2022.

ELANCHEZHIAN, R.; KRISHNAPRIYA, V.; PANDEY, R.; RAO, A. S.; ABROL, Y. P. (2015) Physiological and molecular approaches for improving phosphorus uptake efficiency of crops. **Current Science**, Bangalore, v. 108, n. 7, p. 1271-1279, abr. 2015. Disponível em: <https://www.currentscience.ac.in/Volumes/108/07/1271.pdf>. Acesso em: 12 mai. 2022.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. 2004. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. 2 ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2004.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes.pt: Pacote experimental designs (Portuguese)**, versão 1.1.2. 2013.

FITTER, A. H.; SETTERS, N. L. Vegetative and reproductive allocation of phosphorus and potassium in relation to biomass in six species of *Viola*. **Journal of Ecology**, Londres, v. 76, b. 3 p. 617-636, 1988. DOI: <https://doi.org/10.2307/2260563>.

FULLANA-PERICÀS, M.; CONESA, M. À.; PÉREZ-ALFOCEA, F.; GALMÉS, J. The influence of grafting on crops 'photosynthetic performance. **Plant Science**, [S. l.], v. 295, jun. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110250>.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, [S. l.], v. 59, n. 2, p. 309–314, fev. 1977. DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.59.2.309>. Disponível em: <https://academic.oup.com/plphys/article/59/2/309/6075837>. Acesso em: 15 jul. 2022.

GRÜN, A.; BUCHNER, P.; BROADLEY, M. R.; HAWKESFORD, M. J. Identification and expression profiling of Pht1 phosphate transporters in wheat in controlled environments and in the field. **Plant Biology**, [S. l.], v. 20, p. 374–389, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/plb.12668>.

HERSCHBACH, C.; SAMUILOV, S.; KALIO, M. K.; SCHRAMM, C.; KRÜGER, J.; LÖW, C. A. E.; BÜTTNER, M.; LANG, F. Seasonally driven internal P and N nutrient (re)cycling strategies of beech saplings are element specific. **Environmental and Experimental Botany**, [S. l.], v. 199, jul. 2022, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104894>.

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, jun. 1979. DOI: <https://doi.org/10.1139/b79-163>.

HUFNAGEL, B.; SOUSA, S. M.; ASSIS, L.; GUIMARÃES, C. T.; LEISER, W.; AZEVEDO, G. C.; NEGRI, B.; LARSON, G.; STAFF, J. E.; PASTINA, M. M.; BARROS, B. A.; WLTZIEN, E.; RATTUNDE, F. W.; VIANA, J. H.; CLARK, R. T.; FALÇÃO, A.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A. A. F.; SCHAFFERT, R. E.; KOCHIAN, L. V.; MAGALHÃES, J. V. Duplicate and conquer: multiple homologs of *PHOSPHORUS-STARVATION TOLERANCE1* enhance phosphorus acquisition and sorghum performance on low-phosphorus soils. **Plant Physiology**, [S. l.], v. 166, n. 2, p. 659 – 677, out. 2014. DOI: 10.1104/pp.114.243949.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores IBGE: estatística da produção agrícola. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=72415>. Acesso em: 24 abr. 2022.

JIA, Y.; XU, H.; WANG, Y.; YE, X.; LAI, N.; HUANG, Z.; YANG, L.; LI, Y.; CHEN, L. S.; GUO, J. Differences in morphological and physiological features of citrus seedlings are related to Mg transport from the parent to branch organs. **BMC Plant Biology**, [S. l.], v. 21, n. 239, maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03028-z>. Disponível em: <https://bmcpplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12870-021-03028-z#citeas>. Acesso em: 02 jan.2022

JINDO, K.; SOARES, T. S.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, I. G.; AGUIAR, N. O.; MAZZEI, P.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A.; OLIVARES, F. L.; CANELLAS, L. P. Phosphorus speciation and high-affinity transporters are influenced by humic substances. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, [S. l.], v. 179, n. 2, p. 206-214, abr. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/jpln.201500228>.

JONES JUNIOR, J. B. A guide for the hydroponic & soilless culture grower. **Retrieved**, [S. l.], 1983.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. **Factoextra**: extract and visualize the results of multivariate data analyses. R Package Version 1.0.7. 2020.

KULMANN, M. S. S.; STEFANELLO, L. O. S.; SCHWALBERT, R. A.; BERGHETTI, A. L. P.; ARAUJO, M. M.; PICCIN, R.; GATIBONI, L. C.; TIECHER, T.; FERREIRA, P. A. A.; BRUNETTO, G. Effects of phosphorus fertilizer application on phosphorus fractions in different organs of *Cordia trichotoma*. **Journal of Forestry Research**, [S. l.], v. 32, p. 725-732, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11676-020-01136-4>.

LAMBERS, H.; SHANE, M. W.; CRAMER, M. D.; PEARSE, S. J.; VENEKLAAS, E. J. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. **Annals of Botany**, Oxford, v. 98, n. 4, p. 693–713, out. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcl114>.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. 2008. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. **Journal of Statistical Software**, Innsbruck, v. 25, n. 1, p. 1-18, 2008. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>.

LEE, H. J.; HA, J. H.; KIM, S. G.; CHOI, H. K.; KIM, Z. H.; HAN, Y. J.; KIM, J. I.; OH, Y., FRAGOSO, V.; SHIN, K., HYEON, T.; CHOI, H. G.; OH, K. H.; BALDWIN, I. T.; PARK,

C. M. Stem-piped light activates phytochrome B to trigger light responses in *Arabidopsis thaliana* roots. **Science Signaling**, Washington DC, v. 9, n. 452, nov. 2016. DOI: 10.1126/scisignal.aaf6530.

LI, H.; LI, M.; LUO, J.; CAO, X.; QU, L.; GAI, Y.; JIANG, X.; LIU, T.; BAI, H.; JANZ, D.; POLLE, A.; PENG, C.; LUO, Z.-B. N-fertilization has different effects on the growth, carbon and nitrogen physiology, and wood properties of slow- and fast-growing *Populus* species. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 63, n. 17, p. 6173–6185, out. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/ers271>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jxb/article/63/17/6173/563786>. Acesso em: 02 jan. 2022.

LI, Y.; ZHANG, J.; ZHANG, X.; FAN, H.; GU, M.; QU, H.; XU, G. Phosphate transporter OsPht1;8 in rice plays an important role in phosphorus redistribution from source to sink organs and allocation between embryo and endosperm of seeds. **Plant Science**, [S. l.], v. 230, p. 23-32, jan. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.10.001>.

LI, Z.; ZHANG, Y.; ZHAO, Q.; WANG, C.; CUI, Y.; LI, J.; CHEN, A.; LIANG, G.; JIAO, B. Occurrence, temporal variation, quality and safety assessment of pesticide residues on citrus fruits in China. **Chemosphere**, [S. l.], v. 258, nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127381>.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymol**, [S. l.], v. 148, p. 350–382, 1987. DOI: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).

LIU, T. Y.; HUANG, T. K.; YANG, S. Y.; HONG, Y. T.; HUANG, S. M.; WANG, F. N.; CHIANG, S. F.; TSAI, S. Y.; LU, W. C.; CHIOU, T. J. (2016) Identification of plant vacuolar transporters mediating phosphate storage. **Nature Communications**, [S. l.], v. 7, p. 1–11, mar. 2016. DOI: 10.1111/plb.12668. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ncomms11095>. Acesso em: 03 jan. 2023.

MAHARAJAN, T.; ANTONY CEASAR, S.; KRISHNA, T. P. A.; IGNACIMUTHU, S. Management of phosphorus nutrient amid climate change for sustainable agriculture. **Journal of Environmental Quality**, [S. l.], v. 50, n. 6, p. 1303-1324, nov./dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/jeq2.20292>.

MARQUES, A. C. R.; OLIVEIRA, L. B. D.; BRUNETTO, G.; TAVARES, M. D. S.; QUADROS, F. L. F. D.; NICOLOSO, F. T. Interaction between growth strategies and phosphorus use efficiency in grasses from South America natural grasslands. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 67, n. 1, p. 62–69, jan./fev. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0034-737X202067010009>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rceres/a/z4Nw4Gf5DbLdL5PrppPDX9M/>. Acesso em: 03 jan. 2023.

MARSCHNER, P. (ed.). **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2009-0-63043-9>.

MARTINEZ, H. E.; OLIVOS, A.; BROWN, P. H.; CLEMENTE, J. M.; BRUCKNER, C. H.; JIFON, J. L. Short-term water stress affecting NO₃⁻ absorption by almond plants. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 197, p. 50-56, dez. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.040>.

MARTINEZ, H. E. P.; SOUZA, B. P.; CAIXETA, E. T.; CARVALHO, F. P.; CLEMENTE, J. M. Water deficit changes nitrate uptake and expression of some nitrogen related genes in coffee-plants (*Coffea arabica* L.), **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 267, jun. 2020, 109254. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109254>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423820300820?via%3Dihub>. Acesso em: 03 jan. 2023.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 51, n. 345, p. 659-668, abr. 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>

MITTLER, R.; ZANDALINAS, S.; FICHMAN, Y.; BREUSEGEM, F. V. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, Londres, v. 23, p. 663-679, jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00499-2>.

MOROSINI, J. S.; MENDONÇA, L. F.; LYRA, D. H.; GALLI, G.; VIDOTTI, M. S.; FRITSCHÉ-NETO, R. Association mapping for traits related to nitrogen use efficiency in tropical maize lines under field conditions. **Plant Soil**, [S. l.], v. 421, p. 453–463, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3479-3>.

MUCHHAL, U. S.; RAGHOTHAMA, K. G. Transcriptional regulation of plant phosphate transporters. **PNAS**, Washington DC, v. 96, n. 10, p. 5868–5872, maio 1999.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 27, p. 31–36, 1962. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5).

NEILSEN, N. E.; BARBER, S. A. Differences among genotypes of corn in the kinetics of P [phosphorus] uptake. **Agronomy Journal**, [S. l.], v. 70, n. 5, p. 695-698, 1978.

NOVAIS, S. V.; ZENERO, M. D. O.; BARRETO, M. S. C.; MONTES, C. R.; CERRI, C. E. P. Phosphorus removal from eutrophic water using modified biochar. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 633, p. 825-835, ago. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.246>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718310052>. Acesso em: 07 jan. 2023.

OLIVEIRA, R. P.; SOARES FILHO, W. S.; PASSOS, O. S.; SCIVITTARO, W. B.; ROCHA, P. S. G. **Porta-enxertos para citros**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 45p. *E-book*. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/34005/1/documento-226.pdf>. Acesso em: 05 jan. 2023.

PAN, G.; LIU, W.; ZHANG, H.; LIU, P. Morphophysiological responses and tolerance mechanisms of *Xanthium strumarium* to manganese stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 165, p. 654-661, dez. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.107>.

PAULA, B. V.; MARQUES, A. C. R.; RODRIGUES, L. A. T.; SOUZA, R. O. S.; KULMANN, M. S. S.; KAMINSKI, J.; CERETTA, C. A.; MELO, G. W. B.; MAYER, N. A.;

- ANTUNES, L. E.; RICACHENEVSKY, F. K.; NICOLOSO, F. T.; BRUNETTO, G. Morphological and kinetic parameters of the uptake of nitrogen forms in clonal peach rootstocks. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 239, n. 15, p. 205–209, set. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.038>.
- PAULA, B. V.; ROZANE, D. E.; MELO, G. W. B.; NATALE, W.; MARQUES, A. C. R.; BRUNETTO, G. Kinetic parameters estimation for increasing the efficiency of nutrient absorption in fruit trees. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 43, n. 3, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-29452021743>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/JHM3dfsntKVsqTVFVB3Mg6c/?lang=en>. Acesso em: 03 jan. 2023.
- PAZ, J. M.; RAMOS, C.; VISCONTI, F. Critical nitrogen dilution curve and dry matter production parameters for several Mediterranean vegetables. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 303, p. 1-13, set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111194>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423822003156?via%3Dihub>. Acesso em: 08 jan. 2023.
- PICCIN, R.; COUTO, R. R.; BELLINASSO, R. J. S.; GATIBONI, L. C.; CONTI, L.; RODRIGUES, L. A. T.; SOMAVILLA, L. M.; KULMANN, M. S. S.; BRUNETTO, G. Formas de fósforo em folhas e suas relações com a composição e rendimento do mosto em videiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília DF, v. 52, n. 5, p. 319–327, maio 2017. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/24960>. Acesso em: 02 fev. 2023.
- POIRIER, Y., JASKOŁOWSKI, A., CLÚA, J. Phosphate acquisition and metabolism in plants. **Current Biology**, [S. l.], v. 32, n. 12, p. PR623-PR629, jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.03.073>.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**, 2021.
- RICHARDSON, A. E.; HOCKING, P. J.; SIMPSON, R. J.; GEORGE, T. S. (2009) Plant mechanisms to optimise access to soil phosphorus. **Crop and Pasture Science**, Melbourne, v. 60, n. 2, p. 124-143, fev. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1071/CP07125>.
- SAENGWILAI, P.; TIAN, X.; LYNCH, J. P. Low crown root number enhances nitrogen acquisition from low-nitrogen soils in Maize. **Plant Physiology**, [S. l.], v. 166, n. 2, p. 581-589, out. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.113.232603>. Disponível em: <https://academic.oup.com/plphys/article/166/2/581/6113291>. Acesso em: 02 fev. 2023.
- SANCHEZ, D. L.; LIU, S.; IBRAHIM, R.; BLANCO, M.; LÜBBERSTEDT, T. Genome-wide association studies of doubled haploid exotic introgression lines for root system architecture traits in maize (*Zea mays* L.). **Plant Science**, [S. l.], v. 268, p. 30–38, mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.12.004>.
- SCHWARZ, S. F.; SOUZA, E. L. S. S.; OLIVEIRA, R. P. Características das variedades copa. In: EFROM, C. F. S.; SOUZA, P. V. D. (Org.). **Citricultura do Rio Grande do Sul: indicações técnicas**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI; DDPA, 2018. pp. 61-78. *E-book*. 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: 02 fev. 2023.

SHUKLA, V.; KAUR, M.; AGGARWAL, S.; BHATI, K. K.; KAUR, J.; MANTRI, S.; PANDEY, A. K. Tissue specific transcript profiling of wheat phosphate transporter genes and its association with phosphate allocation in grains. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 6, p. 1-12, dez. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep39293>.

SIDDIQUI, M. Y.; GLASS, A. D. M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, Londres, v. 4, n. 3, p. 289-302, 1981.

SILVA, F. C. S. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. 1983. **Statistical methods**. 6. ed. New Delhi: Oxford & IBH Co., 1983.

SVISTOONOFF, S.; CREFF, A.; REYMOND, M.; SIGOILLOT-CLAUDE, C.; RICAUD, L.; BLANCHET, A.; NUSSAUME, L.; DESNOS, T. Root tip contact with low-phosphate media reprograms plant root architecture. **Nature Genetics**, [S. l.], v. 39, p. 792–796, maio 2007. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng2041>.

SWIADER, J. M.; CHYAN, Y.; FREIJI, F. G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, Londres, v. 17, n. 10, p. 1687-1699, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1080/01904169409364840>.

TABALDI, L. A.; RUPPENTHAL, R.; CARGNELUTTI, D.; MORSCH, V. M.; PEREIRA, L. B.; SCHETINGER, M. R. C. Effects of metal elements on acid phosphatase activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 43-48, jan. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.10.009>.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 174p.

TEGEDER, M.; MASCLAUX-DAUBRESSE, C. Source and sink mechanisms of nitrogen transport and use. **New Phytologist**, Lancaster, v. 217, p. 35-53, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.14876>. Disponível em: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nph.14876>. Acesso em: 08 fev. 2023.

TICCONI, C. A.; LUCERO, R. D.; SAKHONWASEE, S.; ADAMSON, A. W.; CREFF, A.; NUSSAUME, L.; DESNOS, T.; ABEL, S. ER-resident proteins PDR2 and LPR1 mediate the developmental response of root meristems to phosphate availability. **PNAS**, Washington DC, v. 106, n. 33, p. 14174–14179, ago. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0901778106>. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0901778106>. Acesso em: 09 fev. 2023.

TORRES, L. G.; CAIXETA, D. G.; REZENDE, W. M.; SCHUSTER, A.; AZEVEDO, C. F.; SILVA, F. F. DELIMA, R. O. Genotypic variation and relationships among traits for root

morphology in a panel of tropical maize inbred lines under contrasting nitrogen levels. **Euphytica**, [S. l.], v. 215, fev. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2373-x>.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Foreign Agricultural Service**. Citrus semi-annual, 2022. Disponível em: <https://usdabrazil.org.br/relatorios/>. Acesso em: 02 ago. 2022.

VALADARES, S. V.; SILVA, L. F.; VALADARES, R. V.; FERNANDES, L. A.; NEVES, J. C. L.; SAMPAIO, R. A. Plasticidade fenotípica e frações fosfatadas em espécies florestais como resposta à aplicação de fósforo. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 39, n. 2, p. 225-232, mar./abr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-67622015000200002>.

VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G. D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, [S. l.], v. 153, p. 376–387, dez. 1981. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00384257>.

WANG, S.; KONG, L.; LONG, J.; SU, M.; DIAO, Z.; CHANG, X.; CHEN, D.; SONG, G.; SHIH, K. Adsorption of phosphorus by calcium-flour biochar: Isotherm, kinetic and transformation studies. **Chemosphere**, [S. l.], v. 195, p. 666-672, mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.101>.

XUAN, W.; BEECKMAN, T.; XU, G. Plant nitrogen nutrition: sensing and signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, [S. l.], v. 39, p. 57–65, out. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.05.010>.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S.; FATIBELLO-FILHO, O.; LEITE, O. D. (2008) Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 731–734, mar. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000400003>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/LMXtnWrKS9ShZ7gcWkB4TZs/?lang=pt>. Acesso em: 24 fev. 2023.

ZHU, Z.; WEI, G.; LI, J.; QIAN, Q.; YU, J. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, [S. l.], v. 167, n. 3, p. 527–533, set. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.04.020>.

ZONTA, E.; BRASIL, F. C.; GOI, S.; ROSA, M. M. T. O sistema radicular e suas interações com o ambiente edáfico, *In*: FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R.; SANTOS, L. A. (ed.). **Nutrição mineral de plantas**. 2. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. pp. 7–52.

5 ESTUDO 2 – PROPOSIÇÃO DE NÍVEIS CRÍTICOS E FAIXAS DE SUFICIÊNCIA DE NUTRIENTES EM FOLHAS DE CITROS, CULTIVADOS EM CLIMA SUBTROPICAL, PARA COMERCIALIZAÇÃO *IN NATURA*¹²

Resumo

Níveis críticos (NC) e faixas de suficiência (FS) de nutrientes em folhas de citrus para produção de frutos para consumo *in natura* podem auxiliar na definição da real necessidade de aplicação de adubos em pomares, como aqueles localizados em solos tropicais e subtropicais, que possuem baixa fertilidade natural. Este estudo objetivou estabelecer e comparar os padrões nutricionais obtidos pelo método CND em citros cultivados para consumo *in natura* em clima subtropical e, então, gerar NC e FS em folhas. Um banco de dados foi utilizado com a produção de frutos e os teores de nutrientes em folhas obtidos nas safras de 2016/17, 2017/18, 2019/20 e 2020/21 em pomares comerciais não irrigados de laranjas e tangerinas. O método de cálculo multivariado Diagnóstico Composicional de Nutrientes (CND) foi utilizado e se mostrou eficaz no diagnóstico do estado nutricional do citrus, em relação à concentração dos nutrientes N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn e B em concentrações deficientes, adequadas e excessivas. Os níveis críticos (NC) calculados foram de 18; 1,2; 9,0; 25; 2,8; 3,0 g kg⁻¹ de N, P, K, Ca, Mg e S, respectivamente, e de 117; 45; 97; 66; 19 mg kg⁻¹ de B, Cu, Fe, Mn e Zn, respectivamente. Mas, recomendação regional para os citros do estudo pode estar superestimando a necessidade de aplicação dos micronutrientes. As FS estabelecidas a partir do índice CND são diferentes das obtidas em outros países e regiões. A adoção das normas nutricionais para os macronutrientes obtidas neste estudo pode permitir o uso racional de fertilizantes em pomares de citros, com melhoria no equilíbrio nutricional das plantas que terão, por consequência, maiores rendimentos.

Palavras-chave: Estado nutricional. CND. Tangerina. Mandarina. Fertilização em pomares.

5.1 INTRODUÇÃO

Os citros é uma fruteira de grande importância econômica e um dos tipos de fruta mais populares em todo o mundo. Nos últimos anos, aproximadamente 146 milhões de toneladas de frutas cítricas foram produzidas anualmente no mundo todo, incluindo 16 milhões de toneladas no Brasil (FAO, 2019; IBGE, 2022). No Brasil, são cerca de 600 mil hectares

¹² A versão deste artigo em inglês, intitulada *Proposition of critical levels of nutrientes in citrus leaves, grown in a subtropical climate, for fresh market fruit production* (KRUG et al., no prelo), foi submetida e aceita pelo periódico internacional *Scientia Horticulturae*,

(USDA, 2021; IBGE, 2022) plantados com diversas variedades de citros destinadas à indústria (óleo essencial e suco) e para consumo *in natura*. Mandarinas, tangerinas e laranjas contribuem com 85% da quantidade total na produção brasileira de frutas cítricas (IBGE, 2022). As mandarinas, tangerinas e laranjas são consumidas em grandes quantidades por causa de seu sabor e aroma altamente valorizados, além de vários componentes promotores da saúde (CHHIKARA et al., 2018). As recomendações globais e nacionais incentivam o consumo de frutas como parte de uma alimentação saudável (OMS, 2003; ANGELINO et al., 2019).

As árvores cítricas requerem o fornecimento equilibrado e adequado de macronutrientes e micronutrientes para alcançar alta produtividade e qualidade dos frutos (CAO et al., 2022), pois é uma planta que permanece verde em todas as estações e brota ramos muitas vezes por ano, tendo como consequência demanda constante na absorção de nutrientes (DENG; PENG, 2013). Esta frutífera é cultivada, em geral, em solos com baixa fertilidade natural, como os solos tropicais e subtropicais. Assim, é necessário o uso de grandes quantidades de corretivos e fertilizantes para atender a elevada exigência nutricional da cultura (LOMINDZE et al., 2018). Um sistema de manejo adequado de nutrientes é importante para melhorar a resistência das plantas à geada (LOMINDZE et al., 2018). Estudos em tradicionais países produtores de citros indicam que o desequilíbrio nutricional é a principal causa da baixa produtividade e incidência de insetos-praga e doenças (DONG et al., 2021). Assim, aumentar a produtividade de citros, reequilibrando o estado de nutrientes das plantas, é um posicionamento fundamental para a cadeia citrícola mundial.

A análise química do tecido foliar é a principal ferramenta para detectar o desequilíbrio nutricional (OBREZA et al., 2020), e os teores de nutrientes podem ser interpretados usando métodos univariados, bivariados e multivariados (PARENT, 2020; PRADO; ROZANE, 2020). Entre os métodos mais difundidos está o Diagnóstico Composicional de Nutrientes (CND)¹³, proposto por Parent e Dafir (1992). Por considerar as interações entre os nutrientes no tecido foliar, esse método multivariado (CND) é o melhor indicador dos desequilíbrios nutricionais dos citros, em comparação ao método univariado, que considera um único nutriente por vez (RAGHUPATHI; SRINIVAS, 2014).

Nas culturas agrícolas, o estabelecimento de valores de referência nutricionais, como os níveis críticos (NC) e as faixas de suficiência (FS), facilita a interpretação dos resultados das análises de tecido das culturas e auxilia na tomada de decisão para a recomendação de

¹³ Em inglês, Composition Nutritional Diagnosis.

fertilizantes, pois informa valores de teores em que as plantas estarão nutricionalmente equilibradas (DIAS et al., 2013; KURIHARA et al., 2013). Dessa maneira, através do CND, é possível obter índices nutricionais, mas também níveis críticos (NC) e faixas de suficiência (FS) de nutrientes em folhas, com o objetivo de auxiliar no correto manejo da adubação. Assim, seguindo a recomendação adequada, é possível racionalizar o uso de nutrientes em pomares e evitar problemas de contaminação ambiental, como a eutrofização das águas (WANG et al., 2018). Portanto, o estabelecimento de padrões nutricionais pelo método CND para os citros, com destino principalmente *in natura*, permite maior precisão e confiabilidade no diagnóstico do estado nutricional das plantas, o que motivou a realização deste trabalho para estabelecer e comparar os padrões nutricionais obtidos pelo método CND para citros *in natura* e, assim, gerar NC e FS em folhas.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Área do estudo

Os níveis críticos (NC) e as faixas de suficiência (FS) para a cultura dos citros neste estudo foram determinados com base em um banco de dados amplo, originário de pomares distribuídos nas regiões Sudoeste e Metropolitana do RS, incluindo as seguintes cidades: Rosário do Sul, Pareci Novo e Montenegro (apêndice C). Os resultados foram derivados de amostras de folhas de ramos frutíferos, coletadas em quatro safras, nos anos de 2016/17, 2017/18, 2019/20 e 2020/21, em plantas amostradas em pomares comerciais não irrigados de laranjas e tangerinas cujas frutas são destinadas ao consumo *in natura*.

O conjunto de dados original era composto por 583 observações e constituído, na totalidade, por três porta-enxertos ('Citrange Troyer', 'Citrumelo Swingle' e 'Trifoliata') e dezessete variedades de copa ('Nadorcott', 'Ortanique', 'Murcot', 'Ellendale', 'Navelina', 'Cara Cara', 'Lane Late', 'Midnight', 'Ponkan', 'Salustiana', 'Sandupay', 'Nova', 'Montenegrina', 'Owari', 'Okitsu', 'Caí' e 'Pareci'). A densidade de plantio dos pomares amostrados variou entre 300 e 667 plantas por hectare.

A partir do banco de dados, a população de referência em termos de produção (kg planta⁻¹) foi determinada e os índices obtidos através do método CND. Após exclusão de *outliers*, o conjunto de dados final compreendeu 487 observações de variedades de dossel, conforme seguem: Caí (n=95), Cara Cara (n=22), Ellendale (n=13), Lane Late (n=18),

Midnight (n=14), Montenegrina (n=106), Murcot (n=63), Nadorcott (n=10), Navelina (n=16), Ortanique (n=17), Pareci (n=64), Ponkan (n=47) e Salustiana (n=2).

5.2.2 Amostragem de folhas e produção

As plantas foram amostradas aleatoriamente em talhões homogêneos, evitando plantas doentes e possíveis manchas. As árvores foram marcadas com fita amarela no caule, para possibilitar futuras avaliações de produtividade e coletar amostras de solo. Para constituir o banco de dados de folhas, quatro folhas maduras, com aproximadamente seis meses de idade, foram coletadas por árvore em ramos frutíferos (como a terceira ou quarta folha a partir do fruto), quando o diâmetro dos frutos estava entre 2-4 cm (QUAGGIO; MATTOS JR.; BOARETTO, 2010) (apêndice D), em altura na planta de 1 a 1,5 m, nos quatro lados da planta (apêndice E), em diferentes épocas do ano, conforme o período de frutificação de cada variedade (apêndice F).

A produtividade foi obtida através da colheita de todos os frutos de cada árvore marcada com fita amarela, na época de colheita de cada variedade, sendo pesadas as caixas com os frutos para a definição da produção.

5.2.3 Análises de nutrientes nas folhas

As amostras de folhas foram lavadas suave e sucessivamente com água destilada, solução detergente (0,1%), solução com ácido clorídrico (0,3%) e água deionizada. Em seguida, foram secas em estufa, a 65°C, entre 48 e 96 horas e, posteriormente, moídas até menos de 2 mm. As amostras de folhas foram analisadas para nitrogênio (N), enxofre (S), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), boro (B), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e ferro (Fe) usando procedimentos-padrão, conforme metodologia descrita por Tedesco et al. (1995), para a determinação do conteúdo total de nutrientes.

Uma subamostra do tecido foi digerida em digestão sulfúrica (TEDESCO et al., 1995) usando bloco digestor (Tecnal, Micro 42, Piracicaba, Brasil). O N foi determinado em destilador a vapor Kjeldahl drag (TE-0364, Tecnal, Piracicaba, Brasil). A outra parte do tecido foi submetida à digestão nitroperclórica (EMBRAPA, 1997). No extrato, as concentrações de Ca, Mg, Cu, Zn, Fe e Mn foram determinadas por espectrofotômetro de absorção atômica (AAS; Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA, AAnalyst 200) (TEDESCO et al., 1995). A concentração de P foi determinada por colorimetria, com base na metodologia descrita por

Murphy & Riley (1962), em espectrofotômetro (SF325NM, Bel Engineering, Monza, Itália). A concentração de K no extrato foi determinada em fotômetro de chama (B262 Micronal, São Paulo, Brasil). A concentração de B foi determinada pela queima de 0,5 g de amostra de tecido vegetal na mufla (600°C por 1 h). Depois do resfriamento, foram adicionados 10 ml de H₂SO₄ 0,18 mol l⁻¹, agitados intermitentemente por 1 hora e deixados em repouso para decantar por 3 horas. Em seguida, 4 ml do sobrenadante foram retirados e adicionados 4 ml de tampão azometina-H, sendo realizada a determinação em 435 nm em espectrofotômetro (SF325NM, Bel Engineering, Monza, Itália) (KRUG et al., 1981; GAINES; MITCHELL, 1979) (apêndice G).

5.2.4 Cálculos e análises estatísticas

O banco de dados dos nutrientes nas folhas, depois de composto, foi trabalhado na ferramenta Microsoft Excel (2016), utilizando o método CND (PARENT; DAFIR; 1992). Foram excluídos quatro dados discrepantes, ou *outliers* (dado que está muito distante das demais observações em uma distribuição de dados), pela distância de Mahalanobis (PARENT; NATALE; ZIADI, 2009). A avaliação da normalidade da variável produtividade foi realizada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (K-S = 0,1045; p>0,20) (HAIR; BLACK; SANT'ANNA, 2005). Portanto, aceito H₀, ou seja, os dados possuem distribuição normal.

Os dados experimentais brutos são coletados no espaço real entre (-) infinito e (+) infinito. Por outro lado, os dados composicionais são estritamente positivos e fornecem a informação relativa (AITCHISON, 1986). Em análise composicional, o tecido foliar é considerado um sistema fechado a 100%, formado por componentes conhecidos (N, P, K...) e por componentes desconhecidos (outros elementos não determinados, carboidratos etc.), reunidos num termo chamado R. Isso forma um arranjo de nutrientes *d*-dimensional, ou seja, um *simplex* (S^{*d*}) (Equação 1) oriundo das proporções de *d*+1 nutrientes que incluem os elementos *d* e um valor residual (R_{*d*}) (Equação 2):

(1)

$$S^d = [(N, P, K...R_d): N>0, P>0, K>0... R_d >0, N+P+K+\dots+R_d = 100]$$

em que: N, P, K... são as proporções de nutrientes determinados na matéria seca e R_{*d*} é calculado por diferença, como segue:

(2)

$$R_d = 100 - (N + P + K + \dots)$$

As proporções de nutrientes se transformam em escala invariada depois que são divididas pela média geométrica (G) (Equação 3) de $d+1$ componentes, incluindo R_d (AITCHISON, 1986):

(3)

$$G = [N * P * K * \dots * R_d]^{\frac{1}{d+1}}$$

Para expressar cada componente do *simplex* em relação a todos os outros (estudo de interação), é suficiente definir novas variáveis (V) (Equação 4) que sofrem transformação logarítmica centrada (logaritmo natural ou neperiano), ou seja, em relação à média geométrica dos valores observados, sendo expressas:

(4)

$$V_N = \ln \frac{N}{G}, V_P = \ln \frac{P}{G}, V_K = \ln \frac{K}{G} \dots \dots \dots V_{R_d} = \ln \frac{R_d}{G} \quad \text{e, por definição,}$$

$$V_N + V_P + V_K + \dots + V_{R_d} = 0$$

Assim, considerando um único desvio-padrão, tem-se uma única posição relativa de cada nutriente em relação a todos os outros. A vantagem das variáveis V_X é o acesso aos recentes instrumentos de análise multivariada, como a análise de componentes principais e a análise composicional. O passo seguinte é dividir a base de dados em duas subpopulações (alta e baixa produtividade) utilizando o procedimento de Cate-Nelson, uma vez que as observações foram classificadas em ordem decrescente de rendimento, como indicado por Khiari, Parent e Tremblay (2001).

Nas normas CND, são utilizadas as médias e o desvio-padrão que correspondem às relações da transformação logarítmica centrada de V_X de d nutrientes para espécimes de elevados rendimentos, isto é, V_N^* , V_P^* , V_K^* ... V_R^* e SD_N^* , SD_P^* , SD_K^* ... SD_R^* , respectivamente.

Depois que as normas CND foram desenvolvidas, a base de dados independente pode ser validada, conforme relatado por Parent & Dafir (1992), servindo para finalidades diagnósticas. Os índices CND para d elementos nutritivos são calculados (Equação 5):

(5)

$$I_N = \frac{(V_N - V_N^*)}{SD_N^*}, I_P = \frac{(V_P - V_P^*)}{SD_P^*}, I_K = \frac{(V_K - V_K^*)}{SD_K^*}, \dots, I_R = \frac{(V_R - V_R^*)}{SD_R^*}$$

em que: V_X^* e S_X^* são, respectivamente, a média e o desvio-padrão do elemento X na subpopulação de alto rendimento, e I_X é o índice CND do elemento X .

A independência entre os dados é garantida pela transformação logarítmica centrada (AITCHISON, 1986). Os Índices CND são normalizados e as variáveis tornadas lineares com dimensões de um círculo ($d + 1 = 2$), de uma esfera ($d + 1 = 3$), ou de uma grande esfera ($d + 1 > 3$) em um espaço dimensional de $d + 1$. O índice de desequilíbrio nutricional r^2 é distribuído como uma variável χ_d^2 se os índices CND são variáveis reduzidas independentes (ROSS, 1987), calculado pela equação 6:(6)

$$r^2 = I_N^2 + I_P^2 + I_K^2 + \dots + I_R^2$$

O seu raio r , computado no índice de nutriente do CND, caracteriza assim cada espécime.

Para encontrar a FS de cada nutriente, depois que o índice de nutrientes (In) = 0 (ponto de equilíbrio = BP) foi equacionado, (BPIn0) foi adicionado com (BPIn0) 2/3 do desvio-padrão do conteúdo de nutrientes na população de referência (KURIHARA et al., 2013; SOUZA et al., 2015). O NC corresponde ao BP das FS.

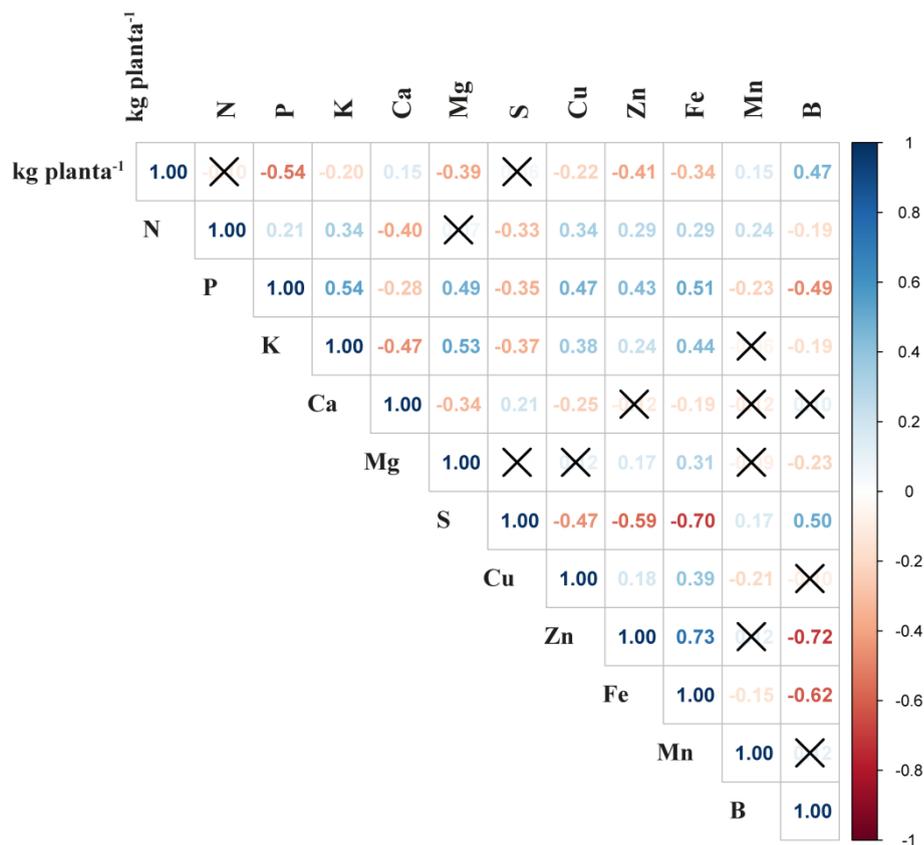
5.3 RESULTADOS

Constituiu-se o banco de dados com informações das concentrações de nutrientes em folhas e da produtividade de citros obtidas em 487 pomares, cujos frutos são destinados para o consumo *in natura*. A produtividade de citros nos pomares variou de 244,80 kg planta⁻¹ a 6 kg planta⁻¹, a média foi de 90,37 kg planta⁻¹, e o desvio-padrão, de 48,84 kg planta⁻¹.

A correlação linear de Pearson foi usada para explorar os resultados entre as concentrações de nutrientes em folhas e a produtividade dos citros (Figura 13). Entre as 66 correlações, 53 foram significativas. A intensidade da correlação dos coeficientes foi estabelecida considerando as faixas de classificação propostas por Dancey e Reidy (2006), sendo os valores de 0,10 - 0,30 considerados com grau de correlação fraco; 0,40 - 0,60, moderado; e 0,70 - 1,0, forte. Com base nesse sistema de classificação, ocorreu somente uma correlação forte positiva entre Zn-Fe. As correlações entre P-K, P-Mg, P-Cu, P-Zn, P-Fe, K-

Mg, K-Cu, K-Fe, S-B, Cu-Fe e B-produtividade foram classificadas como moderadas positivas.

Figura 13 – Matriz de correlação de Pearson entre as concentrações de nutrientes nas folhas e a produtividade em pomares de citros (n = 487)¹⁴.

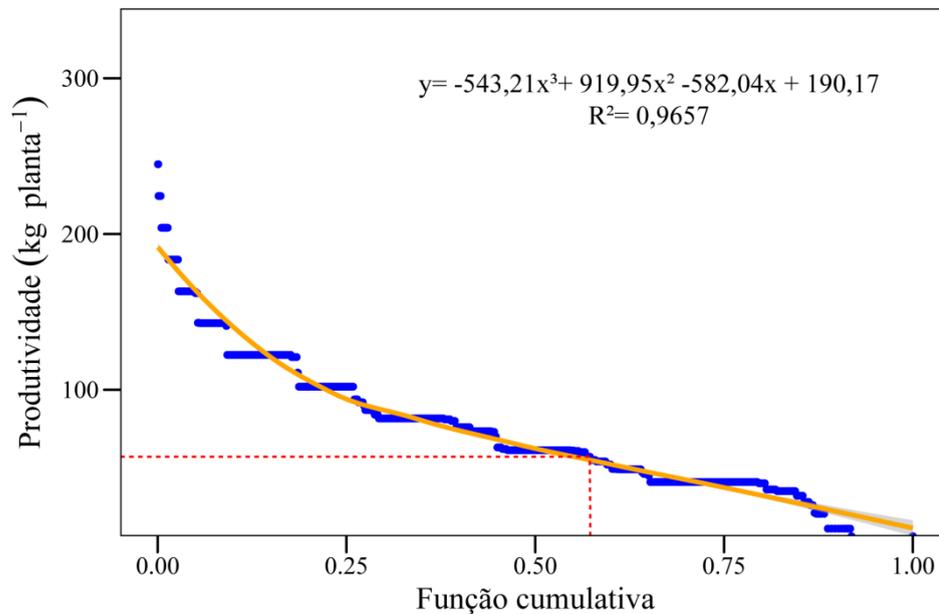


Fonte: Elaborado pela autora.

A divisão da população entre alta e baixa produtividade foi realizada de acordo com procedimento proposto por Khiari, Parent e Tremblay (2001). O ponto de inflexão da função cumulativa da produtividade foi de 57 kg planta⁻¹. Os pomares que apresentaram produtividade acima desse valor foram classificados como a subpopulação de alta produtividade (população de referência). Considerando o total de 487 pomares, 348 deles (71,45%) apresentaram produtividade acima de 57 kg planta⁻¹ e passaram a compor a subpopulação de alta produtividade. Os 139 pomares restantes (28,54%) formaram a subpopulação de baixa produtividade (Figura 14).

Figura 14 – Função cumulativa dos dados de produtividade (kg planta⁻¹), em pomares de citros (n = 487)¹⁵.

¹⁴ Em que X = valores não significativos a p < 0,005.



Fonte: Elaborado pela autora.

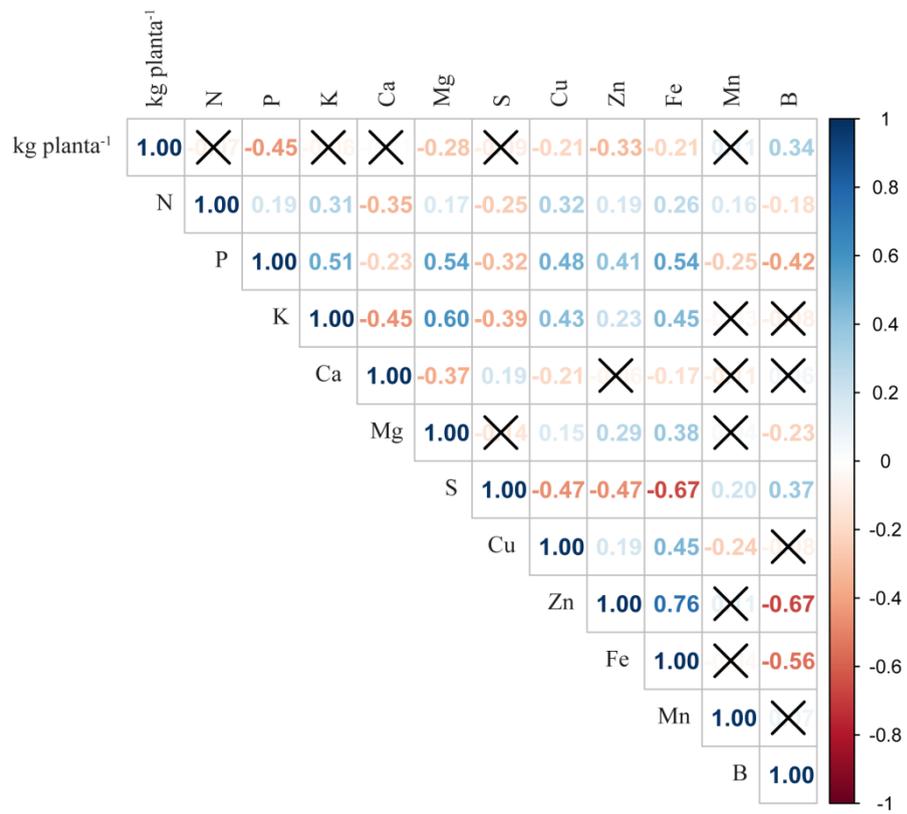
Depois de separar os pomares em alta e baixa produtividade, novas matrizes de correlação foram elaboradas utilizando os dados de concentrações de nutrientes nas folhas e a produtividade de cada uma das populações (Figuras 15 e 16). Na população de alta produtividade, foram obtidas 50 correlações significativas (Figura 15), sendo 3 fortes, 19 moderadas e 28 fracas (entre positivas e negativas).

A produtividade da população de alta produtividade apresentou correlação significativa e positiva com P, Mg, Cu, Zn, Fe e B (Figura 15). A produtividade da população de baixa produtividade apresentou correlação significativa e negativa com N, Zn, Fe (Figura 16). Os nutrientes que apresentaram correlações positivas fortes entre si foram Zn-Fe, dentro da população de alta produtividade (Figura 15). Por outro lado, na população de baixa produtividade, não foram observadas correlações fortes positivas entre os nutrientes (Figura 16).

Figura 15 – Matriz de correlação de Pearson entre as concentrações de nutrientes nas folhas e a produtividade na população de alta produtividade (n = 348) em pomares de citros¹⁶.

¹⁵ A linha tracejada em vermelho sinaliza o ponto de inflexão que separa a alta produtividade da baixa produtividade.

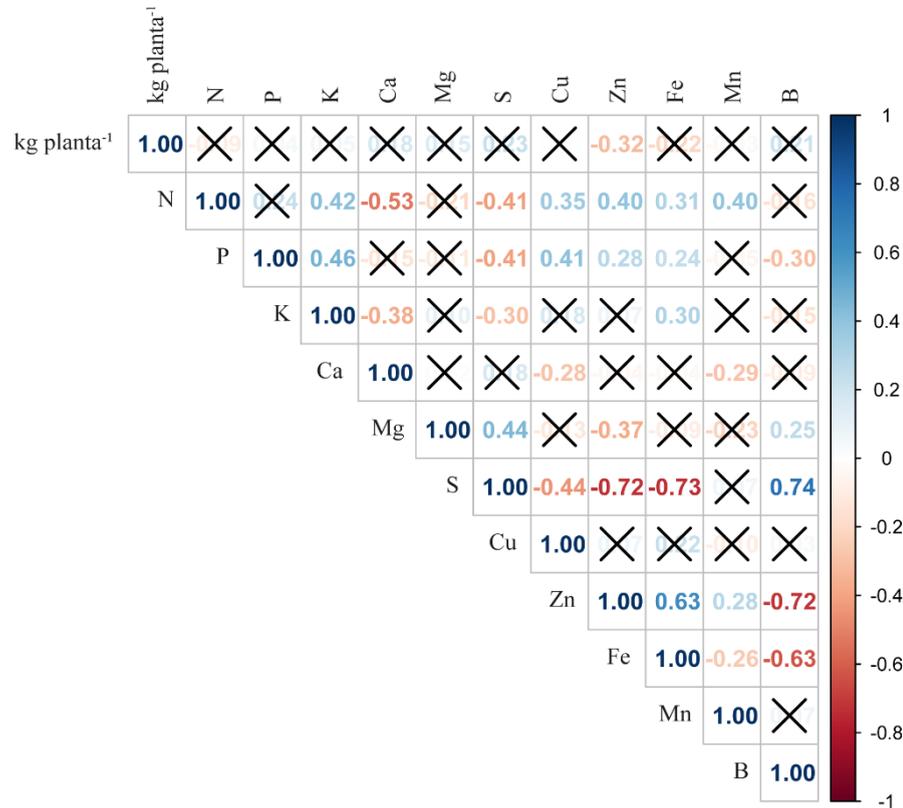
¹⁶ Em que X = valores não significativos a $p < 0,005$.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 16 – Matriz de correlação de Pearson entre as concentrações de nutrientes nas folhas e a produtividade na população de baixa produtividade (n = 139) em pomares de citros¹⁷.

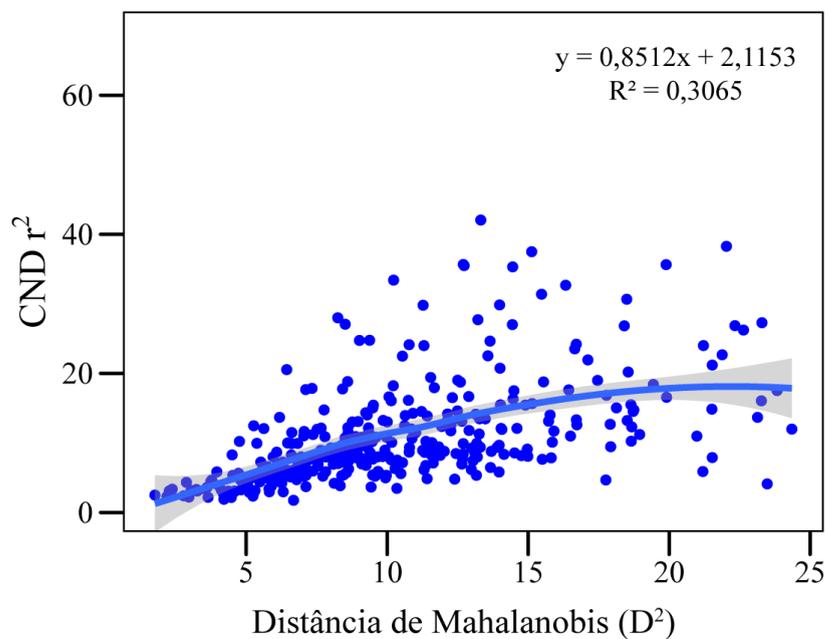
¹⁷ Em que X = valores não significativos a $p < 0,005$.



Fonte: Elaborado pela autora.

O índice de desequilíbrio nutricional (CND- r^2) e a distância de Mahalanobis (D^2) na população de alta produtividade foram relacionados (Figura 17). É importante destacar que quanto maior a distância (D^2) dos dados em relação à reta de tendência central, maior é o desequilíbrio nutricional das plantas (CND- r^2).

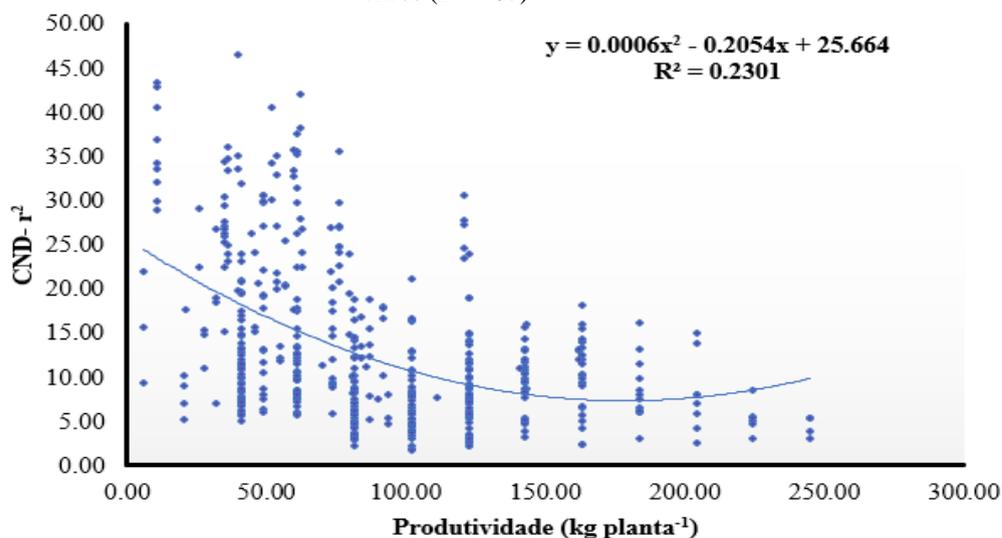
Figura 17 – Índice de desequilíbrio nutricional (CND- r^2) e distância de Mahalanobis (D^2) da população de alta produtividade (n = 348).



Fonte: Elaborado pela autora.

A equação quadrática da relação entre a produtividade de citros e o índice CND- r^2 de todos os pomares gerou um coeficiente de determinação (R^2) de 23,01% (Figura 18).

Figura 18 – Relação entre o índice de desequilíbrio nutricional (CND- r^2) e a produtividade da população de citros (n = 487).



Fonte: Elaborado pela autora.

Com a utilização do método CND, estabeleceram-se as normas das novas variáveis (V_x) para cada nutriente na cultura de citros a partir da média e dos desvios-padrão dos constituintes da matéria seca e das relações logarítmicas centradas na linha dos teores foliares de nutrientes da população de alta produtividade (Tabela 2). Observou-se que Ca, N e K

apresentaram os maiores valores da variável V_X , indicando que a sequência dos maiores teores de nutrientes e, conseqüentemente, das maiores exigências nutricionais de citros foram de Ca, N e K. Nessas normas, os valores negativos das médias verificados em P, Cu, Zn, Fe, Mn e B indicam apenas que a média geométrica da composição nutricional foi superior à concentração foliar do elemento na variável multinutriente.

Tabela 2 – Padrões do diagnóstico da composição nutricional (CND) da população de referência (n = 348).

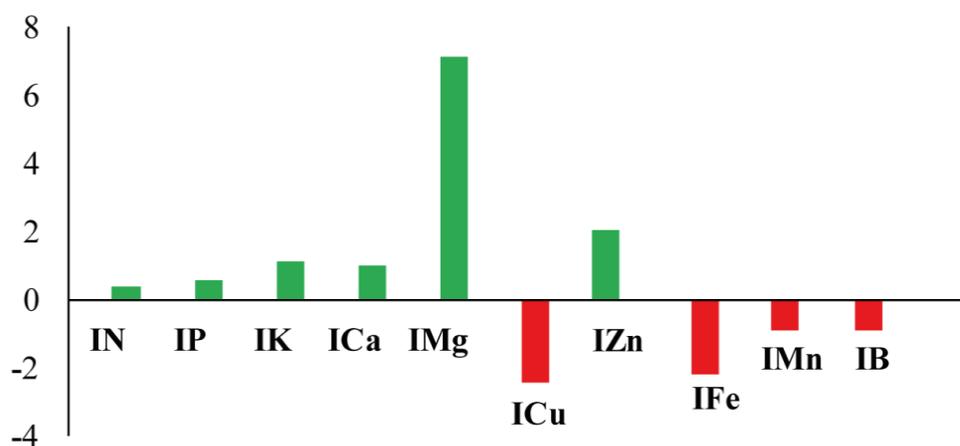
	V_N	V_P	V_K	V_{Ca}	V_{Mg}	V_S	V_{Cu}	V_{Zn}	V_{Fe}	V_{Mn}	V_B
Média	2,8	-0,2	1,9	3,1	0,7	0,9	-3,4	-4,3	-2,7	-3,0	-2,4
Desvio Padrão	0,17	0,31	0,26	0,30	0,35	0,44	0,78	0,43	0,40	0,52	0,55

Fonte: Elaborado pela autora.

Com o padrão dos índices CND estabelecido, foi realizada uma simulação do desequilíbrio nutricional de um pomar hipotético, utilizando a média dos índices de desequilíbrio de nutrientes (I_X) dos pomares de citros (Figura 19). O resultado CND- r^2 dessa simulação, que é o índice de desequilíbrio nutricional do pomar, foi de 70,71.

Observou-se que os nutrientes Cu, Fe, Mn e B estão em níveis abaixo do adequado para atingir elevadas produtividades, enquanto N, P, K, Ca, Mg e Zn estão acima do adequado (Figura 19). Quanto mais próximo do zero, mais equilibrado está o nutriente em relação ao conjunto dos demais, e quanto mais próximo de zero está o CND- r^2 , mais equilibrado nutricionalmente está o pomar analisado em relação aos padrões da população de alta produtividade.

Figura 19 – Simulação do índice de desequilíbrio (I_X) nutricional de um pomar hipotético em relação à população de alta produtividade.



Fonte: Elaborado pela autora.

Através do método CND, foram calculados os índices CND para cada nutriente que foi relacionado com a sua respectiva concentração em folhas. Os modelos matemáticos elaborados pela análise de regressão para os nutrientes P, K, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn (Tabela 2) obtiveram coeficientes de determinação superiores a 80% ($R^2 > 0,80$). Os NC, que correspondem às concentrações adequadas de cada nutriente no tecido vegetal, foram obtidos igualando os índices de cada equação a zero (Tabela 3).

Tabela 3 – Modelos estatísticos das relações entre os índices CND e as concentrações foliares de macro (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) usados para calcular os níveis críticos e as faixas de suficiência de nutrientes foliares em citros.

Nutriente	Modelo	R^2	Nível Crítico	Faixa de suficiência
				-----(g kg^{-1})----- -----
N	$I_N = 0,0002N - 3,5639$	0,33	23,4	21-26
P	$I_P = -6E^{-07} P^2 + 0,0035P - 3,2951$	0,88	1,2	0,9-1,5
K	$I_K = 2,7059 \ln(K) - 24,632$	0,82	9,0	7-11
Ca	$I_{Ca} = -2E^{-09} Ca^2 + 0,0003Ca - 6,2969$	0,78	25,1	25-33
Mg	$I_{Mg} = 2,249 \ln(Mg) - 17,826$	0,89	2,8	1,9-3,7
S	$I_S = -2E^{-07} S^2 + 0,0022S - 4,8188$	0,93	3,0	2,3-3,8

		------(mg kg ⁻¹)----- -----		
B	$I_B = 1,8675 \ln(B) - 8,9049$	0,95	117	85-149
Cu	$I_{Cu} = 1,1369 \ln(Cu) - 4,3363$	0,98	45	7-83
Fe	$I_{Fe} = -3E^{-05} Fe^2 + 0,0251Fe - 2,164$	0,94	97	50-145
Mn	$I_{Mn} = 1,8191 \ln(Mn) - 7,6186$	0,94	66	38-94
Zn	$I_{Zn} = -0,0008Zn^2 + 0,1313Zn - 2,1628$	0,93	19	8-29

Fonte: Elaborado pela autora.

Comparando os resultados das faixas de suficiência (FS) adequadas, obtidos neste estudo, com outras FS observadas na literatura (Tabela 4), verificaram-se diferenças. As FS propostas para a realização do diagnóstico nutricional a partir das concentrações de nutrientes em folhas foram confrontadas com as faixas indicadas para os citros cultivados no Brasil e constatou-se que as FS para N, K, Ca, Mg e Zn foram menores neste estudo do que aquelas encontradas na literatura.

Tabela 4 – Faixas de suficiência de nutrientes consideradas adequadas em amostras de folhas de citros obtidas pelo método CND no presente estudo em comparação com recomendações estabelecidas por outros autores para a mesma frutífera cultivada no Brasil.

Referências	N	P	K	Ca	Mg	S
	g kg ⁻¹					
CND-Citros RS ¹⁸	21-26	0,9-1,5	7-11	25-33	1,9-3,7	2,3-3,8
CND – Citros SP ¹⁹	25,9-26,5	1,4-1,5	13,8-14,3	34-35,4	3,8-4,0	2,7-2,9
Malavolta et al. ²⁰	25-27	1,2-1,6	12-17	30-49	3,0-5,0	1,5-2,0
CQFS-RS/SC ²¹	23-27	1,2-1,6	10-15	35-45	3,0-4,0	-
Referências	Cu	Zn	Fe	Mn	B	

¹⁸ Faixas encontradas neste estudo a partir da coleta da 3ª e/ou 4ª folha do ramo frutífero com frutos de 2 a 5cm.

¹⁹ Yamane, Danilo Ricardo (2018)

²⁰ Malavolta, Vitti e Oliveira (1997)

²¹ Manual de Calagem e Adubação dos Estados do RS e SC (CQFS-RS/SC, 2016).

	mg kg ⁻¹				
CND-Citros RS	7-83	8-29	50-145	38-94	84-149
CND – Citros SP	69-82	43-47	136-148	52-58	89-95
Malavolta et al.	5-16	25-100	60-120	25-100	36-100
CQFS-RS/SC	4,1-10	35-50	50-120	35-50	50-100

5.4 DISCUSSÃO

A correlação positiva entre os nutrientes nos mostra que uma possível alteração de um nutriente pode modificar, de forma proporcional, a composição de outro (PARENT et al., 2013; ROZANE et al., 2015). O alto número de correlações significativas (Figura 13) possibilita a identificação de padrões nutricionais para explicar a produtividade. Esta constatação demonstra que métodos de análise baseados em correlações univariadas são ineficientes para explicar a produtividade. Segundo Marschner (2012), métodos que avaliam a concentração de um único nutriente possuem baixa eficácia para prever a produtividade em culturas, o que pode também acontecer com citros.

Mesmo com a divisão entre as duas populações, as correlações mais significativas da população completa (Figura 13) permaneceram semelhantes à população de alta produtividade (Figura 15). Mais uma vez, os resultados demonstraram que a produtividade é dependente não somente das concentrações de um determinado nutriente no interior da planta, diagnosticado pela análise de folhas, mas, especialmente, das relações entre os nutrientes (MARSCHNER, 2012; ROZANE et al., 2016).

Detectou-se que não houve correlação positiva forte entre nenhum nutriente e a produtividade, mesmo na população de alta produtividade, o que demonstra que o equilíbrio adequado entre todos os nutrientes é o que garante maiores produtividades (MALAVOLTA, 2006; COSTA et al., 2022). O uso da distância de Mahalanobis (D^2), proposto por Parent e Dafir (1992), permite identificar e excluir as observações com grandes desequilíbrios, procedimento que não é possível de ser realizado com métodos bivariados, como o DRIS (ROZANE et al., 2013). Além disso, a relação entre a D^2 e o índice de desequilíbrio nutricional ($CND-r^2$) permite visualizar o nível de desequilíbrio nutricional de um pomar (Figura 17), mesmo que este pertença à população de alta produtividade, o que significa que, por mais que a produtividade esteja elevada, ainda convém rever o manejo nutricional desses

pomares com o objetivo de chegar o mais próximo possível do equilíbrio. Essa prática pode contribuir, inclusive, para uma economia financeira do produtor, pois as doses e a frequência de aplicações de fertilizantes podem ser reduzidas, caso seja constatado desequilíbrio causado pelo excesso de nutrientes (CHEN; LI; TANG, 2017; LUIZ et al., 2022).

Com o estabelecimento dos índices de desequilíbrio nutricional (CND-r²) dos pomares e relacionando-os com suas respectivas produtividades, obteve-se o coeficiente de determinação (R²). Convém destacar que o coeficiente de determinação significa a porcentagem em que a produtividade pode ser explicada pelos índices gerados, a partir das concentrações de nutrientes em folhas, que, no caso do presente estudo, foi de 23,01% (Figura 18). Este resultado pode ser considerado baixo quando analisado isoladamente, porém deve-se destacar que a produtividade de cultivos agrícolas é influenciada por mais de 52 fatores, que agem multiespectralmente sobre o crescimento, o desenvolvimento e a produtividade das plantas (TISDALE; NELSON; BEATON, 1985). Também pode ser explicado pela influência de outros fatores, como, por exemplo, o clima, principalmente com: a) a ocorrência de precipitações pluviométricas, que podem potencializar a incidência de doenças em folhas e frutos (CHEN et al., 2020); b) a ocorrência de elevados volumes e frequências de precipitações pluviométricas, que podem elevar as perdas de nutrientes por lixiviação ou escoamento superficial (SETE et al., 2015; WANG et al., 2019); c) a ocorrência de sinistros, como secas ou geadas, fora de época em períodos críticos para a cultura: florescimento e enchimento de fruto; d) temperaturas muito elevadas, entre outros.

Com a utilização do método CND, determinaram-se, no presente estudo, as maiores exigências nutricionais das plantas de citros, que foram de Ca, N e K, o que coincide com os nutrientes exportados em maiores quantidades pelos frutos de citros (BATAGLIA et al., 1977; BOARETTO et al., 2007). Isso se deve, provavelmente, pela maior demanda desses nutrientes pelas plantas. O N é vital para o crescimento dos tecidos, produção e qualidade dos frutos (ZEKRI; HANDAQ; CAIDI, 2016; OBREZA et al., 2020). Embora ele possa não afetar diretamente a defesa da planta, o fornecimento adequado de N pode reduzir as possíveis trocas entre a alocação de carboidratos para o crescimento e a reprodução *versus* a síntese das defesas da planta em citros (LI et al., 2019). O Ca é um componente muito importante da estrutura da planta e sua deficiência causa vazamento de nutrientes para o apoplasto (SPANN; SCHUMANN, 2009; AHMAD et al., 2011; RAMÍREZ-GODOY; PUENTES-PÉREZ; RESTREPO-DÍAZ, 2018). Por fim, o K ajuda no crescimento e na divisão celular de tecidos jovens. Ele intervém na hidratação dos tecidos e na transpiração da planta, condicionando a

resistência da árvore às ações do vento e das secas, influenciando no tamanho, qualidade e conservação dos frutos das plantas cítricas (EFROM; SOUZA, 2018).

Com base nas faixas de suficiência (FS) estabelecidas pelo método CND no presente estudo, as concentrações propostas para os teores de Cu, Fe, Mn e B foram superestimadas, quando comparadas com a recomendação oficial do Manual de Calagem e Adubação para os estados do Rio Grande do Sul (RS) e de Santa Catarina (SC) (CQFS-RS/SC, 2016). Destacamos que as FS propostas neste estudo foram originadas a partir de um banco de dados de análises foliares de pomares comerciais, sendo comum apresentar teores excessivos de micronutrientes nas análises (MATTOS JR. et al., 2009). Isso pode acontecer porque esses nutrientes podem estar aderidos à superfície das folhas, principalmente quando produtos são aplicados no ciclo de cultivo, como fungicidas à base de Cu, Zn e Mn e fertilizantes foliares à base de B, Zn e Mn (MATTOS JR. et al., 2009).

A recomendação regional para os citros do estudo pode estar superestimando a necessidade de aplicação dos micronutrientes, o que pode elevar seus teores em solos e em tecidos dos pomares. Os teores podem estar acima da demanda das plantas, o que pode potencializar as transferências por lixiviação, mas, especialmente, por escoamento superficial, uma vez que os pomares estão localizados em relevos leves a ondulados. Isso mostra que as FS dos micronutrientes, com exceção do Zn, propostas para as regiões do estudo pelo método CND não são adequadas.

Por outro lado, as FS propostas para N, K, Ca, Mg e Zn foram menores quando comparadas com a recomendação oficial (CQFS-RS/SC, 2016). Essas novas FS propostas indicam menor necessidade de adubação com esses nutrientes em citros nas regiões Sudoeste e Metropolitana do RS, podendo gerar até mesmo economia financeira para os produtores. Porém, as recomendações devem ser seguidas com parcimônia, evitando excessos e também deficiências. Uma situação de carência nutricional pode prejudicar a produtividade, a qualidade e a composição dos frutos cítricos, como também observaram Stefanello et al. (2021) e Ciotta et al. (2021) em videiras. É preciso cuidado especial em relação ao Zn, pois a sua deficiência em plantas cítricas pode ocasionar poucas brotações e redução do crescimento da copa e da produção (MATTOS JR. et al., 2009).

O método CND permitiu definir o NC e a FS para o S, o qual ainda não possui recomendação oficial para os estados do RS e de SC (CQFS-RS/SC, 2016). A FS proposta para o S foi levemente maior que a observada na literatura (Tabela 3), porém não extrapola o nível considerado excessivo ($> 5,0 \text{ g kg}^{-1}$) (MATTOS JR. et al., 2009).

Esses resultados demonstram que a proposta regional de interpretação das concentrações de nutrientes em folhas de citros, calculada pelo método CND, pode promover o balanço nutricional. Além disso, fica claro que apenas um padrão de recomendação para citros cultivados em dois estados do Brasil, como o RS e SC (BRUNETTO et al., 2006), é insatisfatório, reforçando a necessidade da geração de valores de referências foliares que permitam a interpretação regional (ROZANE et al., 2015; PAULA et al., 2021). Contudo, o uso da proposta para outros lugares no mundo em que não possuem faixas de nutrientes para as variedades de citros para consumo *in natura*, na falta de faixas de suficiência e níveis críticos, é encorajado, pois este método considera o rendimento das culturas para, então, definir os valores de referência, os quais indicam a resposta das culturas à adição de fertilizantes.

5.5 CONCLUSÕES

Neste estudo, constatamos que os índices CND- r^2 foram eficazes em estabelecer o estado nutricional das variedades de citros no Rio Grande do Sul em relação à concentração foliar dos nutrientes N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn e B em concentrações deficientes, adequadas e excessivas.

A metodologia CND estabeleceu os NC e FS de nutrientes adequados em folhas, contribuindo para o estabelecimento da real necessidade de aplicação de fertilizantes em pomares de citros, principalmente para macronutrientes.

As associações de multi-nutrientes foram mais eficazes do que a análise de um único nutriente ao expressar que a limitação de um determinado elemento pode reduzir a produtividade dos citros.

REFERÊNCIAS

AHMAD, K.; SIJAM, K.; HASHIM, H.; ROSLI, Z.; ABDU, A. Field assessment of calcium, copper and zinc ions on plant recovery and disease severity following infection of Huanglongbing (HLB) disease. **African Journal of Microbiology Research**, [S. l.], v. 5, n. 28, p. 4967–4979, nov. 2011. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR11.236>

AITCHISON, J. **The statistical analysis of compositional data**. Londres: Chapman and Hall, 1986. 416p.

ANGELINO, D.; GODOS, J.; GHELFI, F.; TIERI, M.; TITTA, L.; LAFRANCONI, A.; MARVENTANO, S.; ALONZO, E.; GAMBERA, A.; SCIACCA, S.; BUSCEMI, S.; RAY, S.; GALVANO, F.; DEL RIO, D.; GROSSO, G. Fruit and vegetable consumption and health outcomes: an umbrella review of observational studies. **International journal of food**

sciences and nutrition, Londres, v. 70, n. 6, p. 652-667, set. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1571021>.

BATAGLIA, O. C.; RODRIGUEZ, O.; HIROCE, R.; GALLO, J. R.; FURLANI, P. R.; FURLANI, Â. M. C. Composição mineral de frutos cítricos na colheita. **Bragantia**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 215–221, 1977.

BOARETTO, R. M.; MATTOS JR.; D.; TRIVELIN, P. C. O.; MURAOKA, T.; BOARETTO, A. E. Acúmulo de nutrientes e destino do nitrogênio (15N) aplicado em pomar jovem de laranjeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 600–605, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452007000300035>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/dbZMRSMYq6HX6vNm3tbNw8n/?lang=pt>. Acesso em: 15 nov. de 2021.

BRUNETTO, G.; KAMINSKI, J.; MELO, G. W.; SANTOS, D. R. Recuperação e distribuição do nitrogênio fornecido a videiras jovens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 8, p. 1299-1304, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000800013>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/mXhfYsxsqvSnDqyZ5LtkjK/?lang=pt>. Acesso em: 12 ago. 2022.

CAO, S.; YANG, S.; ZHOU, X.; GONG, B. Nutrient diagnosis and modeling of fruit quality and leaf mineral contents of sweet orange [*Citrus Sinensis* (L.) Osbeck]. [*S. l.*], 2022. Disponível em: <https://ssrn.com/abstract=4062732>. Acesso em: 12 ago. 2022.

CHEN, K.; LI, C.; TANG, R. Estimation of the nitrogen concentration of rubber tree using fractional calculus augmented NIR spectra. **Industrial Crops and Products**, [*S. l.*], v. 108, p. 831-839, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.069>.

CHEN, L.; WALLHEAD, M.; REDING, M.; HORST, L.; ZHU, H. Control of insect pests and diseases in an Ohio fruit farm with a laser-guided intelligent sprayer. **HortTechnology**, Alexandria, v. 30, n. 2, p. 168–175, 2020. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH04497-19>. Disponível em: https://journals.ashs.org/horttech/view/journals/horttech/30/2/article-p168.xml?tab_body=pdf. Acesso em: 9 jul. 2022

CHHIKARA, N.; KOUR, R.; JAGLAN. S.; GUPTA. P.; GAT. Y.; PANGHAL. A. Citrus medica: nutritional, phytochemical composition and health benefits - a review. **Food & Function**, [*S. l.*], v. 9, n. 4, p. 1978-1992, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7FO02035J>

CIOTTA, M. N.; CERETTA, A.; KRUG, A. V.; BRUNETTO, G.; NAVA, G. Grape (*Vitis vinifera* L.) production and soil potassium forms in vineyard subjected to potassium fertilization. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 43, n. 1, 2021. <https://doi.org/10.1590/0100-29452021682>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/Hg9BPjndxcM9x9HcnzMGThr/?lang=en>. Acesso em: 03 ago. 2022.

COSTA, A.; SILVA, B.; GUARÇONI, R.; NOGUEIRA, F.; CONDE, R. Diagnose foliar e nutrição de espécies agroflorestais conduzidas em cinturão verde. In: COSTA, A. (Org.). **Cinturão Verde: Sustentabilidade e contribuição no setor de produção de aço**. Ponta Grossa: Atena, 2022. pp. 87-123. *E-book*. Disponível em:

<https://www.atenaeditora.com.br/catalogo/post/7-diagnose-foliar-e-nutricao-de-especies-agroflorestais-conduzidas-em-cinturao-verde>. Acesso em: 9 jul. 2022

CQFS - RS/SC - COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO. **Manual de calagem e adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 11. ed. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - Núcleo Regional Sul [s.l.]: Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC, 2016. 376p. *E-book*. Disponível em: https://www.sbc-nrs.org.br/docs/Manual_de_Calagem_e_Adubacao_para_os_Estados_do_RS_e_de_SC-2016.pdf. Acesso em: 9 jul. 2022

DANCEY, C. P.; REIDY, J. **Estatística sem matemática para psicologia: usando SPSS para Windows**. Porto Alegre: Artmed, 2006.

DENG, X. X.; PENG, S.A. **Citrus**. Beijing, China: China Agriculture Press, 2013. pp. 172–174.

DIAS, J. R. M.; TUCCI, C. A. F.; WADT, P. G. S.; SILVA, A. M.; SANTOS, J. Z. L. Níveis críticos e faixas de suficiência nutricional em laranja-pêra na Amazônia Central obtidas pelo método DRIS. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 43, n. 3, p. 239-246, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aa/a/VtRt3ZGCQrHTKrrTKvY83kP/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 4 jun. 2022

DONG, Z.; MANAWASINGHE, I. S.; HUANG, Y.; SHU, Y.; PHILLIPS, A. J. L.; DISSANAYAKE, A. J.; HYDE, K. D.; XIANG, M.; LUO, M. Endophytic diaporthe associated with citrus grandis cv. Tomentosa in China. **Frontiers Microbiology**, [S. l.], v. 11, fev. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.609387>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.609387/full>. Acesso em: 4 jun. 2022

EFROM, C. F. S.; SOUZA, P. V. D. (Org.). **Citricultura do Rio Grande do Sul: indicações técnicas**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI; DDP, 2018. *E-book*. 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: 4 jun. 2022

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos (EMBRAPA-CNPq), 1997. 212p. *E-book*. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/169149/1/Manual-de-metodos-de-analise-de-solo-2-ed-1997.pdf>. Acesso em: 19 jun. 2022

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/home/en>. Acesso em: 12 jul. 2022.

GAINES, T. P.; MITCHELL, G. A. Boron determination in plant tissue by the azomethine H method. **Communication in Soil Science Plant Analytics**, Londres, v. 10, n. 8, p. 1099–1108, 1979. DOI: <https://doi.org/10.1080/00103627909366965>.

HAIR, J. J. F.; BLACK, W. C.; SANT'ANNA, A. S. **Análise multivariada de dados**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Indicadores IBGE**: estatística da produção agrícola. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=72415>. Acesso em: 24 abr. 2022.

KHIARI, L.; PARENT, L.-É.; TREMBLAY, N. Selecting the high-yield subpopulation for diagnosing nutrient imbalance in crops. **Agronomy Journal**, [S. l.], v. 93, n. 4, p. 802–808, jul. 2001. DOI: <https://doi.org/10.2134/agronj2001.934802x>.

KRUG, A. V.; PAPALIA, D. G.; MARQUES, A. L. L.; HINDERSMANN, J.; SOARES, V. M.; GRANDO, D. L.; MOURA-BUENO, J. M.; ROZANE, D. E.; NATALE, W. G.; BRUNETTO, G. Proposition of critical levels of nutrients in citrus leaves, grown in a subtropical climate, for fresh market fruit production. **Scientia Horticulturae**, no prelo.

KRUG, F. J.; MORTATTI, J.; PESSENDA, L.; ZAGATTO, E. A. G.; BERGAMIN, H. Flow injection spectrophotometric determination of boron in plant material with azomethine-H. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 125, p. 29–35, abr. 1981. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)85046-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)85046-7).

KURIHARA, C. H.; VENEGAS, V. H. A.; NEVES, J. C. L.; NOVAIS, R.F.; STAUT, L. A. Faixas de suficiência para teores foliares de nutrientes em algodão e soja, definidas em função de índices DRIS. **Revista Ceres**, Viçosa, v 60, n. 3, jun. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2013000300015>.

LI, J.; LI, L.; PANG, Z.; KOLBASOV, V. G.; EHSANI, R.; CARTER, E. W.; WANG, N. Developing citrus Huanglongbing (HLB) management strategies based on the severity of symptoms in HLB-endemic citrus-producing regions. **Phytopathology**, St. Paul, v. 109, p. 582–592, 2019. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0287-R>

LUIZ, W. G. G.; MESQUITA, G. L.; SOUZA, F. O.; MARTINS, M. L.; GIMENEZ, J. I.; ZAMBROSI, F. C. B. Suprimento de nitrogênio, estado nutricional, produção e qualidade da borracha de árvores de *Hevea brasiliensis*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 42, 2022. DOI: <https://doi.org/10.4336/2022.pfb.42e202002134>. Disponível em: <https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/2134>. Acesso em: 24 ago. 2022.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora Agronomica Ceres, 2006. 631p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3 ed. Londres: Academic Press, 2012.

MATTOS JR, D.; QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H.; BOARETTO, R. M. Citros: manejo da fertilidade do solo para alta produtividade. **Informações Agronômicas**, [S. l.], n. 128, p. 5–12, dez. 2009. Disponível em: <http://www.ipni.net/publication/ia->

brasil.nsf/0/0431445A9BC1C48F83257A900012439B/\$FILE/Page5-12-128.pdf. Acesso em: 02 ago.2022

MURPHY, J.; RILEY, J. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 27, p. 31–36, 1962. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5).

OBREZA, T. A.; ZEKRI, M.; HANLON, E. A. Nutrition of Florida citrus trees: chapter 4. Soil and leaf tissue testing. In: MORGAN, K. T.; KADYAMPAKANI, D. M. (Org.). **Nutrition of Florida Citrus Trees. 3 ed.** [s. l.]: UF/IFAS Extension, University of Florida, 2020. pp. 23-32.

OMS, 2003. Disponível em: <<http://165.158.1.110/spanish/hpp/hppota.htm>>. Acesso em: 28 jul. 2022.

PARENT, L. E.; DAFIR, M. A theoretical concept of compositional nutrient diagnosis. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, VA, v. 117, n. 2, p. 239-242, mar. 1992. DOI: <https://doi.org/10.21273/JASHS.117.2.239>. Disponível em: <https://journals.ashs.org/jashs/view/journals/jashs/117/2/article-p239.xml>. Acesso em: 28 jul. 2022.

PARENT, L. E.; NATALE, W.; ZIADI, N. Compositional nutrient diagnosis of corn using the Mahalanobis distance as nutrient imbalance index. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 89, n. 4, p. 383-390, ago. 2009. DOI: <https://doi.org/10.4141/cjss08050>. Disponível em: <https://cdsciencepub.com/doi/10.4141/cjss08050>. Acesso em: 28 jul. 2022.

PARENT, S. É. Why we should use balances and machine learning to diagnose ionomes. **Authorea**, Hoboken, jan. 2020. DOI: 10.22541/au.157954751.17355951.

PARENT, S. E.; PARENT, L. E.; ROZANE, D. E.; NATALE, W. Plant ionome diagnosis using sound balances: case study with mango (*Mangifera indica*). **Frontiers in Plant Science**, [S. l.], v. 4, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00449>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2013.00449/full>. Acesso em: 28 jul. 2022.

PAULA, B. V.; ROZANE, D. E.; MELO, G. W. B.; NATALE, W.; MARQUES, A. C. R.; BRUNETTO, G. Kinetic parameters estimation for increasing the efficiency of nutrient absorption in fruit trees. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 43, n. 3, p. 1-8, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452021743>. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/212280>. Acesso em: 28 jul. 2022.

PRADO, R. M.; ROZANE, D. E. 2020. Leaf analysis as diagnostic tool for balanced fertilization in tropical fruits, in: Elsevier (Ed.), **Fruit Crops**, [S. l.], p. 131–143, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818732-6.00011-3>.

QUAGGIO, J. A.; MATTOS JR., D.; BOARETTO, R. M. Capítulo 9 CITROS. In: PROCHNOW, L. I; CASARIN, V.; STIPP, S. R. (Org.). **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes: culturas**. Piracicaba: IPNI, 2010. p. 371-409.

RAGHUPATHI, H. B.; SRINIVAS, S. Spatial variability studies in banana for identification of nutrient imbalance using diagnosis and recommendation integrated system,

Communications in Soil Science and Plant Analysis, [S. l.], v. 45, n. 12, p. 1667-1686, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1080/00103624.2014.907914>.

RAMÍREZ-GODOY, A.; PUENTES-PÉREZ, G.; RESTREPO-DÍAZ, H. An evaluation of the use of calcium, potassium and silicon for the management of diaphorina citri populations in tahiti lime trees. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, Cluj-Napoca, v. 46, p. 546–552, 2018. DOI: <https://doi.org/10.15835/nbha46211152>. Disponível em: <https://www.notulaeobotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/11152/8128>. Acesso em:

ROSS, B. H. This is like that: The use of earlier problems and the separation of similarity effects. **Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition**, Washington DC, v. 13, n. 4, p. 629–639, 1987. DOI: <https://doi.org/10.1037/0278-7393.13.4.629>.

ROZANE, D. E.; MATTOS, D.; PARENT, S.-É.; NATALE, W.; PARENT, L. É. Meta-analysis in the selection of groups in varieties of citrus. **Communications in Soil Science Plant Analysis**, [S. l.], v. 46, p. 1948–1959, ago. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/00103624.2015.1069307>.

ROZANE, D. E.; PARENT, L. E.; NATALE, W. Evolution of the predictive criteria for the tropical fruit tree nutritional status. **Científica**, Jaboticabal, v. 44, n. 1, p. 102-112, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.15361/1984-5529.2016v44n1p102-112>. Disponível em: <http://cientifica.org.br/index.php/cientifica/article/view/788>. Acesso em: 02 jul. 2022.

ROZANE, D. E.; BRUNETTO, G.; MELO, G. W. B.; NATALE, W.; PARENT, S. E.; SANTOS, E. M. H.; ZALAMENA, J.; PARENT, L. E. Avaliação do estado nutricional de videiras pela Diagnose da Composição Nutricional - CND. In: MELO, G. W. B.; ZALAMENA, J.; BRUNETTO, G.; CERETTA, C. A. (Org.). **Calagem, adubação e contaminação em solos cultivados com videiras**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2016. pp. 45-60. *E-book*. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/147393/1/Doc100.pdf>. Acesso em: 2 jul. 2022.

ROZANE, D. E.; NATALE, W.; PARENT, L. E.; PARENT, S. E.; SANTOS, E. M. H. Universidade Estadual Paulista; Université Laval. **CND-Goiaba**. BR5120130003792. abr. 2013.

SETE, P. B.; MELO, G. W. B.; OLIVEIRA, B. S.; FREITAS, R. F.; MAGRO, R. D.; AMBROSINI, V. G.; TRAPP, T.; COMIN, J. J.; GATIBONI, L. C.; BRUNETTO, G. Perdas de nitrogênio do solo e resposta do pessegueiro à adição de composto orgânico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 4, p. 651–657, abr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131232>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/LNbQvjxCtpMFYSV6yp5x8WK/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 2 jul. 2022.

SOUZA, H. A.; ROZANE, D. E.; AMORIM, D. A.; DIAS, M. J. T.; MODESTO, V. C.; NATALE, W. Assessment of nutritional status of guava seedlings using preliminary DRIS norms and sufficiency ranges. **Journal of Plant Nutrition**, Londres, v. 38, n. 10, p. 1611–1618, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1017050>.

SPANN, T. M.; SCHUMANN, A. W. The role of plant nutrients in disease development with emphasis on citrus and huanglongbing. **Proc. Fla. State Hort. Soc.**, [S. l.], v. 122, p. 169–171, 2009. Disponível em: <https://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/database/pdf/00001871.pdf>. Acesso em: 2 jul. 2022.

STEFANELLO, L. O.; SCHWALBERT, R.; SCHWALBERT, R. A.; DRESCHER, G. L.; DE CONTI, L.; POTT, L. P.; TASSINARI, A.; KULMANN, M. S. S.; SILVA, I. C. B.; BRUNETTO, G. Ideal nitrogen concentration in leaves for the production of high-quality grapes cv ‘Alicante Bouschet’ (*Vitis vinifera* L.) subjected to modes of application and nitrogen doses. **European Journal of Agronomy**, [S. l.], v. 123, fev. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126200>.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos, UFRGS, 1995.

TISDALE, S. L.; NELSON, W. L.; BEATON, D. J. **Soil fertility and fertilizers**, 4. ed. Nova Iorque: Macmillan Publishing Company, 1985.

USDA - United States Department of Agriculture. **Citrus: World Markets and Trade**. Foreign Agricultural Service, 2021. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/citrus-world-markets-and-trade>. Acesso em: Janeiro de 2023

WANG, S.; KONG, L.; LONG, J.; SU, M.; DIAO, Z.; CHANG, X.; CHEN, D.; SONG, G.; SHIH, K. Adsorption of phosphorus by calcium-flour biochar: Isotherm, kinetic and transformation studies. **Chemosphere**, [S. l.], v. 195, p. 666-672, mar. 2018.

WANG, W.; WU, X.; YIN, C.; XIE, X. Nutrition loss through surface runoff from slope lands and its implications for agricultural management. **Agricultural Water Management**, [S. l.], v. 212, p. 226–231, fev. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.09.007>.

YAMANE, D. R. **Nutrient diagnosis of orange crops applying compositional data analysis and machine learning techniques**. 2018. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/180576>. Acesso em: 2 jul. 2022.

ZEKRI, N.; HANDAQ, N.; EL CAIDI, A.; ZAIR, T.; EL BELGHITI, M. A. Insecticidal effect of *Mentha pulegium* L. and *Mentha suaveolens* Ehrh. hydrosols against a pest of citrus, *Toxoptera aurantii* (Aphididae). **Research on Chemical Intermediates**, [S. l.], v. 42, p. 1639–1649, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11164-015-2108-0>.

6 DISCUSSÃO GERAL

Os resultados do estudo 1 mostram que o porta-enxerto ‘Trifoliata’ foi mais eficiente na absorção de P, pois este apresentou maiores taxas de influxo de P, concentrações de P nos tecidos, trocas gasosas, pigmentos, tendência de maior fotossíntese e menos estresse ou necessidade de ativação do sistema antioxidante. Isso contribui para nortear estudos futuros, que terão melhor entendimento do comportamento das plantas quanto à eficiência de absorção de P. Além disso, é possível compreender um pouco mais a razão pela qual este porta-enxerto tem tido sucesso na formação de pomares no Rio Grande do Sul (RS), pois, além da tolerância ao frio, demonstra eficiência em absorção de nutrientes, como o P. Os porta-enxertos de citros são normalmente selecionados de acordo com a facilidade de propagação, vigor, produtividade, resistência a doenças e adaptação a severas condições edafoclimáticas, desconsiderando a eficiência de P. Os resultados do estudo 1 demonstram que também é possível selecionar os porta-enxertos em relação à eficiência de absorção de nutrientes e verificar o comportamento de porta-enxertos implantados em variedades copa.

Os resultados do estudo 2 auxiliam no aprimoramento da recomendação de calagem e adubação de citros no RS, em que os dados foliares de pomares comerciais foram base para estabelecer o estado nutricional das variedades de citros utilizando o método CND, o que foi eficaz para determinar as faixas de suficiência e os níveis críticos dos nutrientes nas folhas de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn e B, apresentando as concentrações deficientes, adequadas e excessivas. A garantia de aprimoramento da recomendação também vem da relação multivariada que é possível realizar com o método CND. Esse método faz associações de multi-nutrientes, demonstrando o balanço nutricional das plantas e considerando o balanço na planta de citros, diferentemente de métodos univariados ou relações duais entre nutrientes dos métodos bivariados que analisam um único nutriente de modo individual. Quanto mais assertiva for a faixa de suficiência da cultura e de suas variedades, melhor será a recomendação da dose, considerando aspectos de posicionamento de adubação, mas também a diminuição do custo de produção e o potencial de contaminação de solos e água (WANG et al., 2018). Além disso, as reservas de alguns nutrientes, como o P, no mundo são finitas; desse modo, selecionar os porta-enxertos e enxertos de citros mais eficientes na absorção de P é um avanço na pesquisa para a cultura de citros.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dois estudos realizados permitiram avançar na pesquisa na área de fertilidade do solo, nutrição de plantas e de citricultura. Dois significativos porta-enxertos da citricultura mundial foram testados em relação à eficiência de absorção de P, o ‘Trifoliata’ e o híbrido ‘Citrumelo’, com duas variedades copas importantes, ‘Valência’ e ‘Montenegrina’, analisando parâmetros bioquímicos, fisiológicos, nutricionais e de biomassa. No estudo 1, a dificuldade em encontrar os parâmetros cinéticos de absorção (V_{max} , K_m e C_{min}) para o nutriente P já era esperada, contudo a pesquisa foi bem sucedida, considerando-se, principalmente, os parâmetros bioquímicos e fisiológicos, o que ajudou a entender o comportamento das variedades, em especial do porta-enxerto ‘Trifoliata’ ao demonstrar sua eficiente na absorção de P. Já se esperava que as variedades dos porta-enxertos implantados teriam uma diminuição na eficiência de absorção devido à técnica da enxertia.

O estabelecimento de faixas e níveis críticos para as variedades de citros no estudo 2 apresentou informações das concentrações deficientes, adequadas e excessivas para a cultura do citros comercializada *in natura*, o que atualizará a recomendação oficial de adubação para os citros no sul do Brasil.

8 PERSPECTIVAS DE ESTUDOS FUTUROS

Os resultados gerados nos dois estudos realizados contribuem para a obtenção de algumas conclusões, que permitiram avanço técnico-científico em relação ao conhecimento já estabelecido sobre a eficiência da absorção de P e a recomendação de calagem e adubação para os citros. No entanto, a geração dessas informações indica que novas pesquisas devem ser realizadas, destacando-se:

- I) Estudos para avaliar a eficiência de absorção de P em outras variedades ou mesmo em diferentes concentrações de P na solução, buscando aferir sobre diferentes porta-enxertos de citros que melhor se adaptem a diferentes ambientes com teores de P disponíveis às plantas;
- II) Estudos para verificar o efeito da enxertia na absorção de nutrientes, utilizando as plantas de porta-enxertos enxertadas nelas mesmas e variedades copa enxertadas nelas mesmas;
- III) Estudos para avaliar a eficiência de absorção de P, analisando o fracionamento de P nos tecidos das plantas, para verificar como ocorre o acúmulo e a remobilização do nutriente no tecido das plantas cítricas;
- IV) Estudos de parâmetros cinéticos com diferentes porta-enxertos de citros, avaliando a absorção dos demais nutrientes, como K, Ca e Mg. Isso poderá contribuir para a seleção de porta-enxertos de citros quanto à eficiência em absorção de um grupo de nutrientes;
- V) Estudos sobre as alterações químicas no ambiente rizosférico, provinda da exsudação de ácidos orgânicos de citros, quando cultivados em solos de baixa fertilidade natural. Isso contribuirá para melhor explicar a adaptabilidade dessas culturas em ambientes pobres em nutrientes, como solos com baixos teores de P;
- VI) Estudos para avaliar o estado nutricional de citros, determinando valores de referência nutricionais pelo método CND, utilizando amostras de tecidos florais e comparando com os resultados foliares;
- VII) Estudos com diferentes variedades de citros para agrupar as semelhantes com o objetivo de deixar o diagnóstico mais preciso e com uma interpretação mais correta dos resultados. Isso porque no Brasil, atualmente, os citros são tratados como um grupo e já foram verificadas especificidades entre as variedades cítricas.

VIII) Realizar estudos com banco de dados de folhas e solos, aplicando a inteligência artificial para encontrar níveis críticos e faixas de suficiência.

REFERÊNCIAS GERAIS

ANTELO, J.; AVENA, M.; FIOL, S.; LÓPEZ, R.; ARCE, F. Effects of pH and ionic strength on the adsorption of phosphate and arsenate at the goethite–water interface. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 285, n. 2, p. 476–486, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.12.032>.

ANTUNES, E.; VUPPALADADIYAM, A. K.; KUMAR, R.; VUPPALADADIYAM, V. S. S.; SARMAH, A.; ISLAM, M. A.; DADA, T. A circular economy approach for phosphorus removal using algae biochar. **Cleaner and Circular Bioeconomy**, [S. l.], v. 1, abr. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clcb.2022.100005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772801322000033?via%3Dihub>. Acesso em: 01 mar. 2021.

AVILAN, L. Sociedad Venezolana de Ingenieros Agronomos. Ciclo de vida productiva de los frutales de tipo arboreo en medio tropical y sus consecuencias agronomicas. **Jornadas Agronomicas**, Maracay, p. 11–16, 1987.

BEAUFILS, E. R. **Diagnosis and recommendation integrated system (DRIS):** a general scheme for experimentation and calibration based on principles develop from research in plant nutrition. Pietermaritzburgo: University of Natal, 1973. 132p.

BETEMPS, D. L.; PAULA, B. V.; PARENT, S. E.; GALARÇA, S. P.; MAYER, N. A.; MARODIN, G. A. B.; ROZANE, D. E.; NATALE, W.; MELO, G. W. B.; PARENT, L. E.; BRUNETTO, G. Humboldtian diagnosis of peach tree (*Prunus persica*) nutrition using machine-learning and compositional methods. **Agronomy**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. 900, jun. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy10060900>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/10/6/900>. Acesso em: 03. jul. 2022.

BEVERLY, R. B. Modified DRIS method for simplified nutrient diagnosis of ‘Valencia’ oranges. **Journal of Plant Nutrition**, Londres, v. 16, p. 1401-1408, 1987.

BHADURI; DEBARATI; PAL, S. Diagnosis and recommendation integrated system (DRIS): concepts and applications on nutritional diagnosis of plants – a review. **Journal of Soil and Water Conservation**, [S. l.], v. 12, p. 70–79, 2013.

BOITT, G.; SCHMITT, D. E.; GATIBONI, L. C.; WAKELIN, S. A.; BLACK, A.; SACOMORI, W.; CASSOL, P. C.; CONDRON, L. M. Fate of phosphorus applied to soil in pig slurry under cropping in southern Brazil. **Geoderma**, [S. l.], v. 321, p. 164–172, jul. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.GEODERMA.2018.02.010>.

CORDELL, D.; DRANGERT, J.; WHITE, S. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. **Global Environmental Change**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 292–305, maio 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>.

EFROM, C. F. S.; SOUZA, P. V. D. (Org.). **Citricultura do Rio Grande do Sul:** indicações técnicas. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI; DDP, 2018. *E-book*. 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: 18 abr. 2021.

EMMANOUILIDOU, M. G.; KYRIACOU, M. C. Rootstock-modulated yield performance, fruit maturation and phytochemical quality of ‘Lane Late’ and ‘Delta’ sweet orange. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 225, p. 112–121, nov. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.06.056>.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/home/en>. Acesso em: 12 jul. 2022.

HALLMARK, W. B.; WALWORTH, J. L.; SUMNER, M. E.; MOOY, C. J.; PESEK, J.; SHAO, K. P. Fertilizer use efficiency: separating limiting from non-limiting nutrients. **Journal of Plant Nutrition**, Londres, v. 10, n. 9-16, p. 1381–1390, 1987.

HUANG, X. Y.; SALT, D. E. Plant ionomics: from elemental profiling to environmental adaptation. **Molecular Plant**, [S. l.], v. 9, n. 6, p. 787–797, jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.05.003>. Disponível em: <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S1674-2052%2816%2930059-4>. Acesso em: 18 abr. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Indicadores IBGE: estatística da produção agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=72415>. Acesso em: 24 abr. 2022.

JOÃO, P. L.; CONTE, A. A citricultura no Rio Grande do Sul. In: EFROM, C. F. S.; SOUZA, P. V. D. **A citricultura no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI, 2018. pp. 1-2. *E-book*. 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: 25 abr. 2022.

KULMANN, M. S. S.; SETE, P. B.; PAULA, B. V.; STEFANELLO, L. O.; SCHWALBERT, R.; SCHWALBERT, R. A.; ARRUDA, W. S.; SANS, G. A.; PARCIANELLO, C. F.; NICOLOSO, F. T.; MELO, G. W. B.; SANTOS, H. P.; BRUNETTO, G. Kinetic parameters govern of the uptake of nitrogen forms in ‘Paulsen’ and ‘Magnolia’ grapevine rootstocks. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 264, abr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109174>.

LABAIED, M. B.; SERRA, A. P.; MIMOUN, M. B. Establishment of nutrients optimal range for nutritional diagnosis of mandarins based on DRIS and CND methods. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [S. l.], v. 49, n. 20, p. 2557-2570, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/00103624.2018.1526944>.

LADO, J.; RODRIGO, M. J. ZACARÍAS, L. Maturity indicators and citrus fruit quality. **Stewart Postharv**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 1–6, 2014.

LEGAZ, F.; SERNA, M. D.; PRIMO-MILLO, E. Mobilization of the reserve N in citrus. **Plant and Soil**, [S. l.], v. 173, n. 2, p. 205–210, 1995.

LIMA NETO, A.; DE DEUS, J. A. L.; RODRIGUES FILHO, V. A.; NATALE, W.; PARENT, L. E. Nutrient diagnosis of fertigated “Prata” and “Cavendish” Banana (*Musa* spp.)

at plot-scale. **Plants**, [S. l.], v. 9, n. 11, p. 1-21, out. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9111467>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/11/1467>. Acesso em: 5 fev. 2021.

MARTINEZ, H. E.; OLIVOS, A.; BROWN, P. H.; CLEMENTE, J. M.; BRUCKNER, C. H.; JIFON, J. L. Short-term water stress affecting NO₃⁻ absorption by almond plants. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 197, p. 50-56, dez. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.040>.

NATALE, W.; ROZANE, D. E. **Análise de solo, folhas e adubação de frutíferas**. Jaboticabal: Funep, 2018. 124p.

NOVAIS, S. V.; ZENERO, M. D. O.; BARRETO, M. S. C.; MONTES, C. R.; CERRI, C. E. P. Phosphorus removal from eutrophic water using modified biochar. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 633, p. 825-835, ago. 2015. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.246.

PARENT, L. E.; DAFIR, M. A theoretical concept of compositional nutrient diagnosis. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, VA, v. 117, n. 2, p. 239-242, mar. 1992. DOI: <https://doi.org/10.21273/JASHS.117.2.239>. Disponível em: <https://journals.ashs.org/jashs/view/journals/jashs/117/2/article-p239.xml>. Acesso em: 05 fev. 2021.

PARENT, S. É.; PARENT, L. E.; ROZANE, D. E.; NATALE, W. Plant ionome diagnosis using sound balances: case study with mango (*Mangifera Indica*). **Frontiers in Plant Science**, [S. l.], v. 4, p. 1-12, nov. 2013. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00449>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2013.00449/full>. Acesso em: 5 fev. 2021.

PAULA, B. V.; MARQUES, A. C. R.; RODRIGUES, L. A. T.; SOUZA, R. O. S.; KULMANN, M. S. S.; KAMINSKI, J.; CERETTA, C. A.; MELO, G. W. B.; MAYER, N. A. ANTUNES, L. E.; RICACHENEVSKY, F. K.; NICOLOSO, F. T.; BRUNETTO, G. Morphological and kinetic parameters of the uptake of nitrogen forms in clonal peach rootstocks. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 239, p. 205–209, maio 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.038>.

SILVA, G. P.; CHIAIA, H. L. J. Limitation due to nutritional deficiency and excess in sugarcane using the integral diagnosis and recommendation system (DRIS) and nutritional composition diagnosis (CND). **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [S. l.], v. 52, n. 12, p. 1458–1467, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/00103624.2021.1885690>.

PREVOT, P.; OLLAGNIER, M. Methode d'utilisation du diagnostic foliarie. In: PREVOT, P. (Ed.). **Plant analysis and fertilizer problems**. Paris: I.H.R.O, 1956. pp. 177-192.

PREZOTTI, L. C.; GUARÇONI, A. M. **Guia de interpretação de análise de solo e foliar**. Vitória: Incaper, 2013. 104p. Disponível em: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/40/1/Guia-interpretacao-analise-solo.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2022.

PU, J.; WANG, S.; NI, Z.; LIU, X.; WU, T.; WU, H. Implications of phosphorus partitioning at the suspended particle-water interface for lake eutrophication in China's largest freshwater

lake, Poyang Lake. **Chemosphere**, [S. l.], v. 263, jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.128334>.

QUAGGIO, J. A.; RAIJ, B. van; PIZA JUNIOR, T. C. Frutíferas. In: **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônômico - FUNDAG, 1997. pp. 119-154.

ROZANE, D. E.; PAULA, B. V.; MELO, G. W. B.; SANTOS, E. M. H.; TRENTIN, E.; MARCHEZAN, C.; SILVA, L. O. S.; TASSINARI, A.; DOTTO, L.; OLIVEIRA, F. N.; NATALE, W.; BALDI, E.; TOSELLI, M.; BRUNETTO, G. Compositional nutrient diagnosis (CND) applied to grapevines grown in subtropical climate region. **Horticulturae**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 1-13. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae6030056>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-7524/6/3/56>. Acesso em: 12 mar. 2021.

ROZANE, D. E.; MATTOS JR., D.; PARENT, S. E.; NATALE, W.; PARENT, L. E. Meta-analysis in the selection of groups in varieties of citrus. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [S. l.], v. 46, n. 15, p. 1948–1959, ago. 2015. <https://doi.org/10.1080/00103624.2015.1069307>.

ROZANE, D. E.; NATALE, W.; PARENT, L. E.; SANTOS, E. M. H. The CND-Goiaba 1.0 Software for nutritional diagnosis of guava (*Psidium guajava* L.) “Paluma”, in Brazil. **Acta Horticulturae**, [S. l.], v. 959, p. 161–166, 2012. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.959.19>.

SCHÄFER, G.; BASTIANEL, M.; DORNELLES, A. L. C. Porta-enxertos utilizados na citricultura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 4, p. 723–733, ago. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782001000400028>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/hbQ7CTFkX3C9hwwVHBytyHj/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 14 out. 2021.

SIQUEIRA, D. L.; SALOMÃO, L. C. C. **Citros do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2017. 278p.

SMITH, P. F. Mineral analysis of plant tissues. **Annual Review of Plant Physiology**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 81–108, jun. 1962. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.13.060162.000501>

SRIVASTAVA, A. K.; SINGH, S. Analysis of Citrus Orchard Efficiency in Relation to Soil Properties. **Journal of Plant Nutrition**, Londres, v. 30, n. 12, p. 2077–2090, dez. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1080/01904160701700566>.

ULRICH, A.; HILLS, F. J. Principles and practices of plant analysis, In: HARDY, G. M. (Ed.). **Soil Testing and Plant Analysis**. Plant Analysis, Part 11. Special Publication No. 2. Madison: Soil Science Society of America, 1967. pp. 11-24.

WANG, S.; KONG, L.; LONG, J.; SU, M.; DIAO, Z.; CHANG, X.; CHEN, D.; SONG, G.; SHIH, K. Adsorption of phosphorus by calcium-flour biochar: Isotherm, kinetic and transformation studies. **Chemosphere**, [S. l.], v. 195, p. 666-672, mar. 2018.

WEIL, R. R.; BRADY, N. C. **The Nature and Properties of Soils**. 15. ed. Harlow: Pearson Education Limited, 2017. 1104p.

YAMANE, D. R. **Nutrient diagnosis of orange crops applying compositional data analysis and machine learning techniques**. 2018. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/180576>. Acesso em: 03 jan. 2021.

YANG, T.; ZHU, L.; WANG, S.; GU, W.; HUANG, D.; XU, W.; JIANG, A.; LI, S. Nitrate uptake kinetics of grapevine under root restriction. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 111, n. 4, p. 358-364, fev.2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.11.005>.

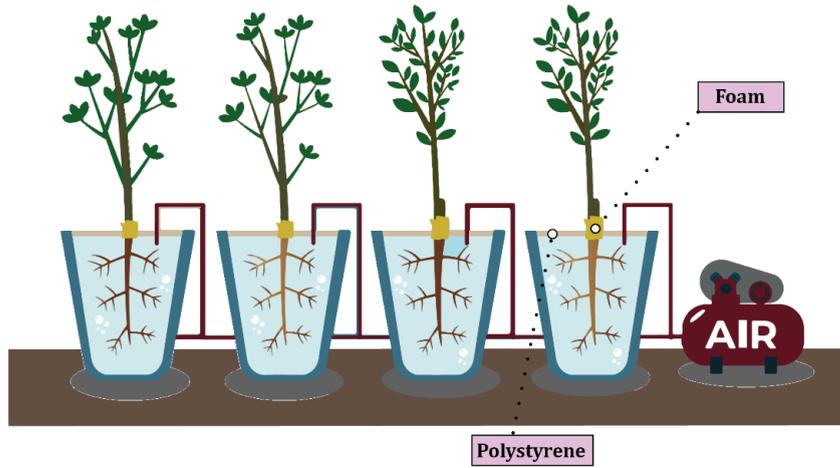
ZHOU, Q.; GIBSON, C. E; ZHU, Y. Evaluation of phosphorus bioavailability in sediments of three contrasting lakes in China and the UK. **Chemosphere**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 221–225, jan. 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00129-6](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00129-6).

APÊNDICE A – FOTOS DO EXPERIMENTO DE PARÂMETROS CINÉTICOS DE ABSORÇÃO DE P EM CASA DE VEGETAÇÃO (ESTUDO 1)



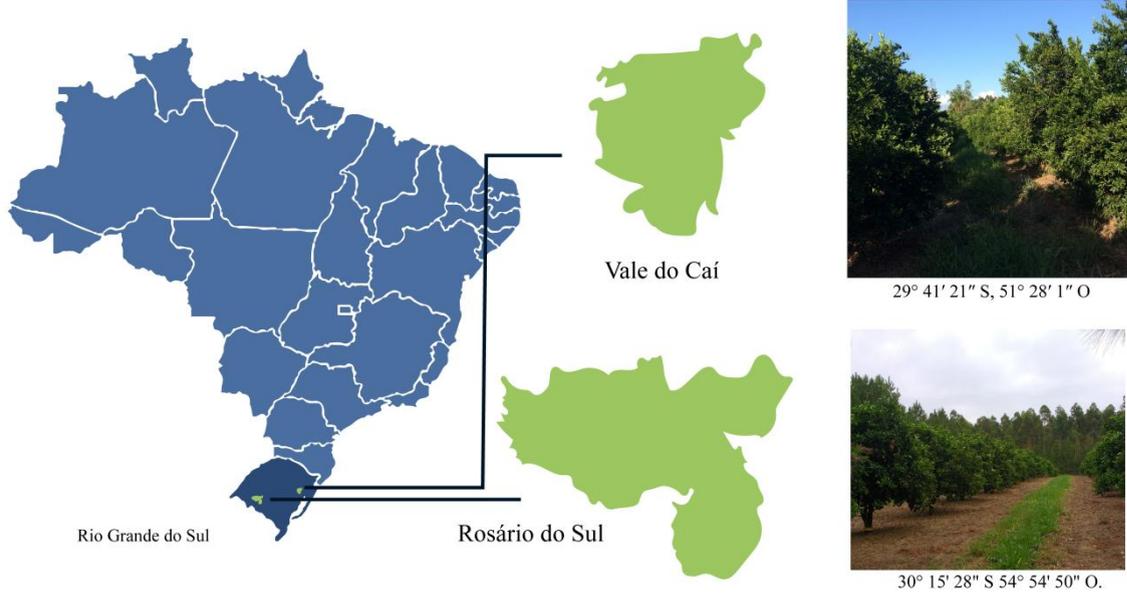
Fonte: Krug, 2020.

APÊNDICE B – ESQUEMA DO EXPERIMENTO DE PARÂMETROS CINÉTICOS DE ABSORÇÃO DE P EM CASA DE VEGETAÇÃO, MOSTRANDO A ESTRUTURA DE AERAÇÃO E SUSTENTAÇÃO DOS VASOS (ESTUDO 1)



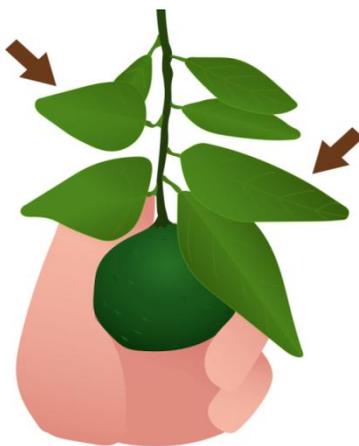
Fonte: Krug, G., 2021

**APÊNDICE C – LOCALIZAÇÃO DOS POMARES DE CITROS EM QUE FORAM
COLETAS AS AMOSTRAS (ESTUDO 2)**



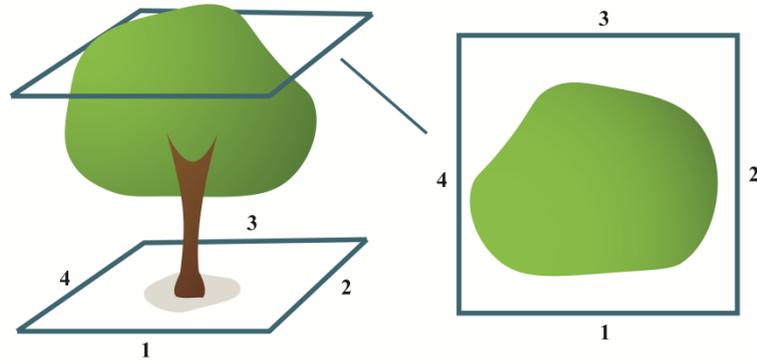
Fonte: Krug, G., 2022.

**APÊNDICE D – ILUSTRAÇÃO DEMONSTRANDO AS FOLHAS DIAGNÓSTICAS
COLETADAS PARA A ANÁLISE FOLIAR QUE GEROU O BANCO DE DADOS
PARA ENCONTRAR OS PADRÕES NUTRICIONAIS EM CITROS *IN NATURA* EM
CLIMA SUBTROPICAL (ESTUDO 2)**



Fonte: Krug, G., 2022.

APÊNDICE E – ILUSTRAÇÃO MOSTRANDO OS LOCAIS NA PLANTA ONDE FORAM OS PONTOS DE COLETA DE FOLHAS (ESTUDO 2)



Quadrantes

Fonte: Krug, G. A., 2022.

**APÊNDICE F – AMOSTRAGEM DAS PLANTAS DOS POMARES COMERCIAIS,
COLETAS DE FOLHAS E SOLO (ESTUDO 2)**



Fonte: Krug, A.V., 2020 e 2021.

APÊNDICE G – ANÁLISES DE LABORATÓRIO DOS ESTUDOS 1 E 2

Pesagem para Digestão sulfúrica-
Determinação de N total no tecido



Determinação de N no tecido pelo
método em destilador microKjeldahl



Amostras de tecido foliar na mufla
para determinação de B.



Preparo das amostras para leitura de B
em espectrofotômetro.



Imagem do sistema radicular do porta-
enxerto 'Trifoliata' obtida utilizando o
software WinRHIZO Pro.



Maceração de amostra foliar para
determinações bioquímicas.

Fonte: Krug, A. V., 2020, 2021, 2022.