

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

Betania Vahl de Paula

**ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR A RECUPERAÇÃO DE
NITROGÊNIO EM PESSEGUEIRO**

Santa Maria, RS

2019

Betania Vahl de Paula

**ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR A RECUPERAÇÃO DE
NITROGÊNIO EM PESSEGUEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Processos Químicos e Ciclagem de Elementos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Ciência do Solo.**

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Brunetto

Santa Maria, RS

2019

Ficha catalográfica

Paula, Betania V.
Estratégias para aumentar a recuperação de
nitrogênio em pessegueiro / Betania V. Paula.- 2019.
151 p.; 30 cm

Orientador: Gustavo Brunetto
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Ciência do Solo, RS, 2019

1. Adubação nitrogenada 2. Parâmetros cinéticos 3.
Fontes de N 4. Modos de parcelamento de doses de N
5. Isótopos de ¹⁵N I. Brunetto, Gustavo II.
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.

© 2019

Todos os direitos autorais reservados a Betania Vahl de Paula. A reprodução de partes ou do
todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

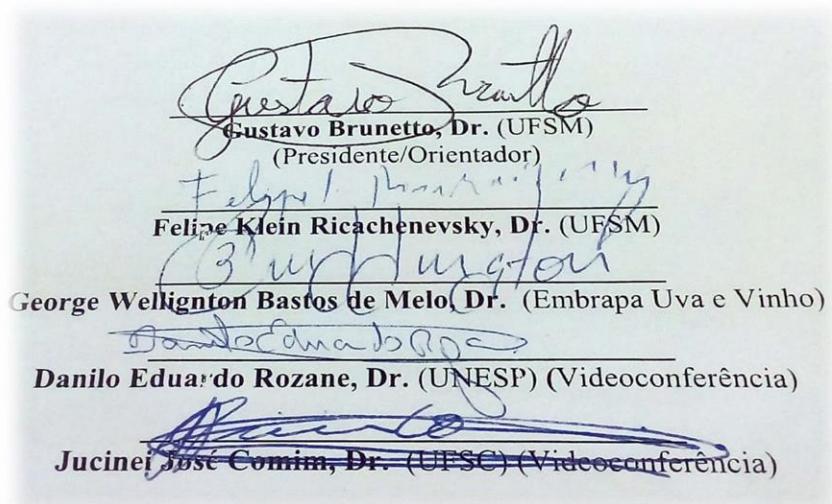
E- mail: behdepaula@hotmail.com

Betania Vahl de Paula

**ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR A RECUPERAÇÃO DE
NITROGÊNIO EM PESSEGUEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Processos Químicos e Ciclagem de Elementos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Ciência do Solo**

Aprovado em 27 de fevereiro de 2019:



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

Felipe Klein Ricachenevsky, Dr. (UFSM)

George Wellington Bastos de Melo, Dr. (Embrapa Uva e Vinho)

Danilo Eduardo Rozane, Dr. (UNESP) (Videoconferência)

Jucinei José Comim, Dr. (UFSC) (Videoconferência)

Santa Maria, RS
2019

“O laço essencial que nos une é que todos habitamos este pequeno planeta. Todos respiramos o mesmo ar. Todos nos preocupamos com o futuro dos nossos filhos. E todos somos mortais.”

(John Kennedy)

“Se você planeja para um ano, semeie arroz. Se planeja para dez anos, plante uma árvore. Se planeja para cem anos, eduque as pessoas.”

(Confúcio)

“Gostaria que você soubesse que existe dentro de si uma força capaz de mudar sua vida, basta que lute e aguarde um novo amanhecer.”

(Margaret Thatcher)

AGRADECIMENTOS

Ao longo da jornada, Deus me ensinou que na vida profissional conquistamos as vitórias com trabalho duro e perseverança, e que na caminhada da vida nos tornamos pessoas melhores através das dificuldades e das escolhas que fazemos perante elas. Então agradeço a Deus por estar sempre comigo e me ajudar a vencer cada desafio proposto.

À minha família, em especial a tia Jussara de Paula, tia Ângela de Melo, tio Rudinei de Melo e a minha querida avó Luiza por todo amor e carinho.

À minha amiga de fé, irmã e camarada, Tais de Melo e seu esposo Pablo Ibeiro por todos os anos de incentivo, carinho e companheirismo.

À minha amiga de infância, Rosali Koms e seu esposo Éder Maier, pela amizade, carinho e incentivo para seguir e vencer todas as dificuldades.

Ao professor e orientador Gustavo Brunetto, que sempre esteve presente em todas as etapas da Tese, sendo exemplo de dedicação, competência e comprometimento com a docência e a pesquisa. E especialmente, por sua infinita capacidade de extrair o melhor das habilidades de cada um e converter as dificuldades de cada pessoa em oportunidades de aprender.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela oportunidade de realização do curso de Doutorado e de conviver com excelentes profissionais dedicados à Ciência do Solo.

Ao corpo docente dos Programas de Pós-Graduação em Ciência do Solo e Pós-Graduação em Agrobiologia, onde tive a oportunidade de cursar várias disciplinas, em especial aos professores Carlos Alberto Ceretta, Leandro Souza da Silva, Celso Aita, Fernando Nicoloso e Felipe Ricachenevsky pelos conhecimentos compartilhados, auxílios e contribuições para qualificação deste trabalho.

À Embrapa Uva e Vinho, em especial ao pesquisador George Welington Bastos de Melo, pela contribuição no planejamento dos estudos e disponibilização da estrutura para realização dos estudos e das análises, bem como toda sua equipe: Volmir Scanagatta, Jovani Zalameña, bolsistas de iniciação científica e auxiliares de campo, que ajudaram na realização dos experimentos na Embrapa Uva e Vinho.

À Embrapa Clima Temperado, em especial aos pesquisadores Alex N. Mayer e Luís Eduardo Antunes pela disponibilização das mudas e auxílio.

Aos professores João Kaminski e Danilo Eduardo Rozane e o colega Eduardo Hartzmann pelo companheirismo e parceria, especialmente nos trabalhos de cinética.

Aos amigos do grupo Cevas, Anderson C. R. Marques, Rogério Piccin, Patrick Pinheiro, Gilmar Schaefer, Roque Junior, Alan Batistão, Lucas Telles, Catiele Piccin, Verônica Rossato e Ana Mezalira pela amizade e companheirismo em todos os momentos.

A todos que trabalham nos hospitais HUSM (Santa Maria) e Beneficência Portuguesa (Pelotas) e que cuidaram bem de mim quando precisei.

A todos os pós-graduandos, egressos e atuais, do grupo GEPACES e do Laboratório de Química e Fertilidade do Solo (LQFS), em especial Paula Beatriz Sete, Lincon Stefanello da Silva, Edicarla Trentin, Lessandro De Conti, Tadeu Tiecher, Carina Marchezan, Adriele Tassinari, Isley Bicalho, Gerson Drescher, Qamar Zarfaraz, Fabiane Severo e Janielly Moscoso, pelo convívio e conhecimentos compartilhados.

A todos os bolsistas de iniciação científica vinculados ao GEPACES (www.gepaces.com.br), em especial Rodrigo Schneider, Beatriz Vitto, Jacson Hindersmann, Amanda Krug, Luana Garlet, Vanessa Marques, Ricardo Vidal, Wagner de Arruda, Carolina Parcianello, João Pedro Jung e Gustavo Scopel pelo auxílio na condução dos experimentos, análises laboratoriais e companheirismo.

À Alexandra Asanovna Elbakyan, por facilitar o acesso ao conhecimento que muitas vezes está restrito.

À Embrapa pela concessão da bolsa de estudo durante o curso de Doutorado (Edital nº 015/2014), ao CNPq, CAPES e a FAPERGS pelo financiamento de projetos de pesquisa que auxiliaram na realização desta Tese.

A todos aqueles que não foram mencionados, mas que contribuíram na realização desse trabalho ou tiveram participação na minha formação pessoal e profissional.

Muito Obrigada!!!!

RESUMO

ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR A RECUPERAÇÃO DE NITROGÊNIO EM PESSEGUEIRO

Autor: Betania Vahl de Paula

Orientador: Gustavo Brunetto

O pêssego é um fruto apreciado no mundo porque quando consumido *in natura* possui sabor adocicado e agradável, e aparência de cor amarela avermelhada. Mas também, pode ser consumido em compotas e doces. Por isso, é produzido e gera impacto econômico e social positivo às propriedades, município, estados e países. Mas, como os pessegueiros (*Prunus persica*) são cultivados em solos com os mais diversos teores de matéria orgânica, em alguns deles, a quantidade de N nativo disponibilizada não supre a demanda das plantas pelo nutriente. Por isso, torna-se necessária a aplicação de fontes de nitrogênio (N), especialmente, na adubação de crescimento e manutenção. Porém, muitas vezes é baixa a percentagem de N recuperada pelo pessegueiro, o que pode diminuir a produtividade e afetar negativamente a composição dos frutos. Por isso, torna-se necessário a definição de estratégias para aumentar a recuperação de N pelo pessegueiro, como a seleção de porta-enxertos ou cultivares mais eficientes na absorção do nutriente, a escolha de fontes de N mais adequadas para pessegueiros jovens e as melhores épocas de aplicação de N em pessegueiros adultos em produção. O objetivo geral do estudo foi desenvolver estratégias para aumentar a recuperação de N em pessegueiros jovens e em produção. No estudo 1 buscou-se desenvolver uma metodologia que permitisse determinar os parâmetros cinéticos de absorção de N em pessegueiro. Para isso, foram testados 7, 15 e 30 dias de esgotamento de reservas internas de nutrientes, em pessegueiros cultivados em solução com CaSO_4 . No estudo 2 foram determinados os parâmetros cinéticos de três porta-enxertos de pessegueiros jovens em solução nutritiva. Parâmetros cinéticos (V_{\max} , K_m , C_{\min} e Influxo) e morfológicos dos pessegueiros foram avaliados. No estudo 3 se estudou a influência da copa nos parâmetros cinéticos de absorção de N. Para isso, porta-enxertos de pessegueiros com e sem enxerto da cultivar copa Chimarrita foram cultivados em solução nutritiva. No estudo 4, avaliou-se o uso de fontes de N com e sem plantas de cobertura como uma estratégia de manejo para aumentar a recuperação de N em pessegueiro. Para isso, cultivadas porta-enxertos de pessegueiro enxertados foram cultivadas em vasos em casa de vegetação, submetidos à aplicação de fontes de N (uréia e composto orgânico), com e sem presença de *Paspalum notatum*. Parâmetros nutricionais, morfológicos e fisiológicos foram avaliados. No estudo 5 foi avaliada a recuperação do N derivado do fertilizante marcado aplicado de forma parcelada e não parcelada em pessegueiros em produção. No estudo 1, observou-se que o esgotamento das reservas internos do pessegueiro durante 30 dias em CaSO_4 permite determinar os parâmetros cinéticos em pessegueiro. No estudo 2 observou-se que o porta-enxerto Tsukuba 1 é mais eficiente na absorção de N em relação aos porta-enxertos Aldrighi e Clone 15. No estudo 3 verificou-se que a cultivar copa Chimarrita aumentou a eficiência de absorção de N do porta-enxerto Okinawa. No estudo 4 observou-se que a adubação com ureia é mais eficiente, porém, a presença de plantas de cobertura, no caso o *Paspalum notatum*, possivelmente poderão competir pelo N, antecipando a senescência das folhas. No estudo 5 verificou-se que a aplicação de N de forma parcelada nos períodos de brotação e final da floração permite a maior recuperação de N pelo pessegueiro. Mas, a maior parte do N presente no interior do pessegueiro, no ano de aplicação do fertilizante e, especialmente, no ano posterior a aplicação é derivado de outras fontes que não do fertilizante aplicado.

Palavras-chave: Adubação nitrogenada, parâmetros cinéticos, fontes de N, modos de parcelamento de doses de N, isótopos de ^{15}N .

ABSTRACT

STRATEGIES TO INCREASE NITROGEN RECOVERY IN PEACH

Author: Betania Vahl de Paula

Advisor: Gustavo Brunetto

The peach is a fruit appreciated in the world because when consumed in natural it has a sweet and pleasant flavor and appearance of reddish yellow color. But also, it can be consumed in jams and candies. Therefore, the properties, municipality, states, and countries are produced and generate positive economic and social impact. However, as the peach trees (*Prunus persica*) are cultivated in soils with the most diverse organic matter content, in some of them, the amount of native N available does not supply the demand of the plants for the nutrient. Therefore, it becomes necessary to apply nitrogen sources (N), especially in fertilization of growth and maintenance. However, the percentage of N recovered by the peach tree is often low, which can decrease productivity and negatively affect fruit composition. Therefore, it is necessary to define strategies to increase the recovery of N by the peach tree, such as the selection of rootstocks or cultivars more efficient in nutrient absorption, the choice of N sources more suitable for young peach trees and the best times of application of N in adult peach trees in production. The overall objective of the study was to develop strategies to increase N recovery in young peach trees and in production. In study 1 we tried to develop a methodology that allowed to determine the kinetic parameters of N absorption in peach trees. For this, 7, 15 and 30 days of exhaustion of internal nutrient reserves were tested in peaches grown in CaSO₄ solution. In study 2 the kinetic parameters of three young peach rootstocks in nutrient solution were determined. Kinetic parameters (V_{max} , K_m , C_{min} , and Influx) and morphological parameters of the peach trees were evaluated. In study 3 we studied the influence of the canopy on the kinetic parameters of N. absorption. For this, peach rootstocks with and without grafting of the cultivar Chimarrita were cultivated in nutrient solution. In study 4, the use of N sources with and without cover crops was evaluated as a management strategy to increase the recovery of N in peach trees. For this, cultivated grafted peach rootstocks were cultivated in pots under greenhouse conditions, submitted to N sources (urea and organic compost), with and without *Paspalum notatum*. Nutritional, morphological and physiological parameters were evaluated. In study 5, the recovery of N derived from the fertilizer applied in a piecemeal manner and not parceled out in peach trees in production was evaluated. In study 1, it was observed that the depletion of the internal reserves of the peach tree for 30 days in CaSO₄ allows determining the kinetic parameters in the peach tree. In study 2 it was observed that the Tsukuba 1 rootstock is more efficient in N uptake in relation to the Aldrighi and Clone 15 rootstocks. In study 3 it was verified that the cultivar scion Chimarrita increased the absorption efficiency of N of the Okinawa rootstock. In study 4, it was observed that fertilization with urea is more efficient, however, the presence of cover crops, in the case of *Paspalum notatum*, could compete for N, anticipating leaf senescence. In study 5, it was verified that the application of N in a split way in the budding and final flowering periods allows for the greater recovery of N by the peach tree. But most of the N present inside the peach in the year of application of the fertilizer and especially in the year after the application is derived from sources other than fertilizer applied.

Keywords: Nitrogen fertilization, kinetic parameters, N sources, N rate splitting modes, ¹⁵N isotopes.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 CULTIVO DE PESSEGUEIROS E ADUBAÇÃO NITROGENADA	17
2.2. SELEÇÃO DE PORTA-ENXERTOS EFICIENTES NA ABSORÇÃO DE N.....	19
2.3. FONTES DE N NA ADUBAÇÃO DE CRESCIMENTO DE PESSEGUEIROS	22
2.4. ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE N EM PESSEGUEIROS EM PRODUÇÃO E SUA RECUPERAÇÃO	23
3. HIPÓTESES.....	26
4. OBJETIVOS.....	27
4.1 OBJETIVO GERAL	27
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
5. RESULTADOS	28
5.1 ESTUDO I	29
5.2 ESTUDO II.....	51
5.3 ESTUDO III	69
5.4 ESTUDO IV	86
5.5 ESTUDO V	116
6. DISCUSSÃO GERAL	137
7. PERSPECTIVAS DE ESTUDOS FUTUROS	141
8. REFERÊNCIAS.....	142
9. APENDICES	146

1. INTRODUÇÃO

O maior produtor mundial de pêssego é a China, enquanto o Brasil é o décimo terceiro maior produtor de pêssegos do Mundo, com 248.583 toneladas, possuindo uma área cultivada de 17.116 hectares (FAO, 2019). O Rio Grande do Sul (RS) é o maior produtor de pêssegos do Brasil, produzindo aproximadamente 55% da produção nacional (AGRIANUAL, 2019). As maiores áreas cultivadas são localizadas nos municípios do entorno de Pelotas (RS) e na Serra Gaúcha do RS.

O pessegueiro (*Prunus persica*) pode ser cultivado em solos onde a disponibilidade de N nativo do solo não supre a necessidade das plantas, diminuindo a produtividade e afetando negativamente a composição dos frutos. Quando isso acontecer, torna-se necessário a aplicação de fertilizantes nitrogenados nas adubações de plantio, mas especialmente, de crescimento e produção, a fim de atingir desenvolvimento e colheitas economicamente compensatórias. Porém, algumas vezes a recuperação do N aplicado pelos pessegueiros é baixa, potencializando as perdas de N ao ambiente, o que não é desejado. Essa baixa recuperação N pode se refletir em baixa produtividade de pêssego. Por isso, torna-se necessário a escolha de estratégias, como seleção de porta-enxertos, de fontes de N e épocas de aplicação de N mais adequadas para aumentar a recuperação de N pelos pessegueiros, seja derivado do fertilizante, do solo ou de resíduos de espécies de plantas de cobertura em decomposição.

Os porta-enxertos de pessegueiros e cultivares normalmente são selecionados com base na compatibilidade com a copa, vigor, desenvolvimento, época de florescimento, época e qualidade da frutificação, longevidade e adaptação das plantas a determinadas condições edafoclimáticas (Martins et al., 2014; Picolotto et al., 2012; Warschefsky et al., 2016). Porém, não são considerados parâmetros cinéticos (velocidade máxima - V_{max} , constante de afinidade - K_m , concentração mínima de nutriente na solução - C_{min}), que determinam a eficiência de absorção de nutrientes, entre eles o N, pois ainda não há na literatura uma metodologia adequada para determinar esses parâmetros em fruteiras. Espera-se que plantas, por exemplo, de porta-enxertos, que possuem menores valores de C_{min} e K_m , e maiores valores de Influxo máximo (I_{max}) sejam mais eficientes em absorver o N.

Após a seleção de porta-enxertos, as plantas são transplantadas em solos que normalmente já receberam adubação de pré-plantio. Quando diagnosticada a necessidade da aplicação de fertilizantes nitrogenados na adubação de crescimento, por exemplo, através da análise do teor de matéria orgânica do solo, fertilizantes são aplicados sobre a superfície do

solo, sem incorporação, na projeção da copa das plantas. A ureia é o fertilizante nitrogenado mais utilizado, porque possui elevado teor de N e menor custo por unidade do nutriente. Porém, possui rápida hidrólise, potencializando as perdas de N por volatilização ou mesmo por lixiviação, o que pode diminuir a recuperação de N pelo pessegueiro. Por isso, alternativamente, resíduos orgânicos, como o composto orgânico, derivado da compostagem aeróbia, pode ser aplicado como fonte de N aos pessegueiros. Espera-se que o composto orgânico apresente decomposição e mineralização mais gradual ao longo do ciclo do pessegueiro, em relação à ureia, o que pode potencializar a recuperação de N pelas plantas, diminuindo as perdas ao ambiente. Porém, parte do N aplicado, seja na forma de ureia ou composto orgânico, pode ser absorvido pelas plantas que coabitam o pomar. Caso isso aconteça, a quantidade de N recuperada pelos pessegueiros poderá ser menor.

Em pomares adultos e em produção, quando diagnosticada a necessidade de aplicação de N, normalmente através da análise de folhas, crescimento vegetativo e produtividade esperada, fertilizantes nitrogenados, como a ureia são aplicados sobre o solo, sem incorporação, em mais de um estágio fenológico. Porém, algumas vezes a quantidade de N do fertilizante recuperada pelos pessegueiros é pequena. Isso pode acontecer porque o N pode estar sendo aplicado em um estágio fenológico com pequena emissão de raízes jovens, responsáveis pela absorção de água e nutrientes, e pequena divisão celular e incremento de matéria seca de órgãos da parte aérea, o que aumenta a demanda de N. Por isso, torna-se necessária a definição dos estágios fenológicos de maior demanda de N em pessegueiro, por exemplo, em cultivares que produzem pêssego destinado a produção *in natura*, como a Chimarrita.

Por tudo isso, torna-se necessário a realização de estudos para desenvolver estratégias, como a seleção de porta-enxertos ou cultivares copa mais eficientes em absorver N, uso de fontes de N com mineralização mais gradual e aplicação de N em estágios fenológicos de maior demanda de N, para aumentar a recuperação de N em pessegueiros jovens em crescimento ou adultos em produção, potencializando o aumento de produtividade e a redução de perdas de N ao ambiente.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CULTIVO DE PESSEGUEIROS E ADUBAÇÃO NITROGENADA

O pessegueiro pertencente à família Rosácea e é originário da China. Ele é considerado uma frutífera típica de zona de clima temperado. Há vários séculos vem sendo cultivado no Oriente, na Europa e nas Américas, em latitudes elevadas, onde ocorrem genericamente, desde 300 até 2000 horas anuais de frio abaixo de 7,2°C. O pessegueiro ao ser introduzido em regiões de latitudes baixas teve que ser adaptado ao clima subtropical predominante, pois nessas condições ecológicas, as temperaturas inverniais amenas impediam a quebra de dormência das gemas e o consequente desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas. No Brasil, a cultura do pessegueiro foi introduzida em 1532, por meio de mudas vindas da ilha da Madeira e plantadas na Capitania São Vicente, atualmente, São Paulo (Raseira et al. 2015).

O principal produtor mundial de pêssego é China com cerca de 14 milhões de toneladas produzidas por ano, seguida por Espanha e Itália. O Brasil é o décimo terceiro maior produtor de pêssegos do Mundo, com 248.583 toneladas, possuindo uma área cultivada de 17.116 hectares (FAO, 2019). Segundo a FAO, o Brasil não é exportador da fruta e no ano de 2018 importou, aproximadamente 7.917 toneladas de pêssego, de países da América do Sul, como Argentina e Chile; da Europa, entre eles, Espanha e Grécia; e da Ásia, especialmente da China. O volume de importação demonstra que mesmo o consumo per capita de conserva de pêssego no Brasil sendo baixo, aproximadamente, 0,25 kg habitante ano⁻¹, quando comparado com países como Itália, Espanha, França e Inglaterra, onde o consumo é de 5 kg habitante ano⁻¹, há um grande mercado interno a ser explorado (Farias et al., 2003).

Convém destacar que o Brasil ocupa a décima segunda posição em produção de pêssego do Mundo, mas a vigésima segunda em produtividade por hectare, com média de 12 Mg ha⁻¹. Enquanto países como a França, Estados Unidos da América (EUA), Grécia, Espanha e Itália, possuem produtividades médias superiores a 18 Mg ha⁻¹ (FAO, 2019). No Brasil, o Rio Grande do Sul (RS) é o maior produtor de pêssegos do país, especialmente, porque a cultura se adaptou perfeitamente às condições climáticas. O estado produz 55,19% da produção nacional de pêssegos, em uma área de 12.442 hectares (AGRIANUAL, 2019). A produção é concentrada em municípios no entorno de Pelotas (RS) e na Serra Gaúcha do RS. Segundo dados da EMATER (2016), em 2016, o RS possuía uma área de 5.968 hectares com cultivares em que

os frutos foram destinados ao processamento e 4.530 hectares, em que os frutos foram destinados ao consumo *in natura*. Assim, a produção de pêssego para indústria foi de 65.000 Mg e para o consumo *in natura* foi de 58.850 Mg. Na produção de pêssegos para indústria e consumo *in natura*, estavam envolvidos 3.783 produtores, que em sua grande maioria são produtores familiares. Depois do RS, destacam-se São Paulo (SP), Santa Catarina (SC) e Minas Gerais (MG) como maiores produtores (IBGE, 2013).

A cultura do pessegueiro tem uma área de abrangência desde o Sudeste até a região Sul do Brasil. A cadeia produtiva nacional movimenta entre R\$ 300 e 400 milhões ano⁻¹. Cada hectare de pessegueiro utiliza a mão de obra de pelo menos uma pessoa durante todo o ciclo produtivo (Raseira et al. 2015), e gera mais de 2,5 milhões de empregos diretos e indiretos anualmente (ASCAR/EMATER-RS, 2010).

Dentre os nutrientes que os pessegueiros mais utilizam, nas mais diferentes regiões do Mundo, está o nitrogênio (N). O N é um elemento essencial para o crescimento e desenvolvimento de todos os organismos vivos, pois é um constituinte do DNA, RNA, ATP e proteínas. Nas plantas, o N é também um componente essencial de outros compostos chave, incluindo clorofila, auxinas, citocininas, alcalóides e glucosinolatos e é um elemento extremamente importante para o desenvolvimento das frutíferas. As plantas são a melhor fonte de N e carbono para todos os animais, incluindo seres humanos (Halford et al., 2011; Andrews et al., 2013). A deficiência de N prejudica o desenvolvimento das plantas, a produtividade e a frutificação efetiva, pois os principais componentes de produção no pessegueiro, por exemplo, são o número de frutos por planta e a massa desses frutos na maturação, ambas variáveis fortemente influenciadas pelo N; além disso, favorece o desfolhamento precoce e a alternância anual da produção (Campos et al., 1996; Serrat et al., 2004). Por outro lado, O excesso de N também é prejudicial, pois estimula o desenvolvimento vegetativo excessivo, com reflexos negativos na qualidade das gemas e dos frutos, principalmente coloração, firmeza da polpa e o teor de sólidos solúveis totais, bem como o aparecimento de distúrbios fisiológicos (Campos et al., 1996; Serrat et al., 2004).

O pessegueiro pode ser cultivado em solos em que a disponibilidade de N nativo não supre a necessidade das plantas, diminuindo a produtividade e afetando negativamente a composição dos frutos (Jordan et. al., 2015). Quando isso acontecer, torna-se necessária a aplicação de fertilizantes nitrogenados nas adubações de pré-plantio, crescimento e produção. Na adubação de pré-plantio e crescimento, a definição da necessidade e da dose de N pode ser definida com base no teor de matéria orgânica do solo (CQFS/RS-SC, 2016). Na adubação de pré-plantio, o fertilizante nitrogenado, orgânico ou mineral, preferencialmente, deve ser

aplicado na cova ou no sulco de plantio. Normalmente, as doses de N recomendadas na adubação de pré-plantio são pequenas, porque as plantas transplantadas possuem pequeno volume de sistema radicular, capaz de absorver água e nutrientes, como o N (Brunetto et al., 2016) e, além disso, sofrem estresse, no processo de retirada da embalagem que estava no viveiro até seu transplante na área do pomar. Na adubação de crescimento, os fertilizantes nitrogenados, orgânicos ou minerais são aplicados sobre a superfície do solo, na projeção da copa das plantas. Os fertilizantes normalmente não são incorporados para evitar danos físicos ao sistema radicular, o que pode potencializar a incidência de doenças fúngicas. Esta prática pode diminuir a eficiência de absorção de água e nutrientes e reduzir as reservas, tanto de nutrientes como de carboidratos (Salazar & Melgarejo, 2005; Steenwerth & Belina, 2008; Guerra et al., 2012). Por outro lado, quando as plantas iniciam a produção de frutos, passa-se a realizar a adubação de produção ou manutenção. A necessidade de aplicação de N pode ser definida com base no teor de matéria orgânica no solo, teor de N em folhas, avaliação de parâmetros de crescimentos e produtividade esperada (CQFS-RS/SC, 2016). A dose de N pode ser aplicada sobre a superfície do solo na projeção da copa das plantas, sem incorporação.

No entanto, normalmente é baixa a percentagem de N recuperado pelos pessegueiros, especialmente quando este for aplicado na adubação de crescimento e produção (NARIO et al., 2003), o que pode afetar negativamente o estado nutricional das plantas, a produtividade e a composição de frutos (Jordan et al., 2015), potencializando as perdas de N para águas superficiais adjacentes aos pomares, principalmente em pomares localizados em relevo ondulado ou para águas subsuperficiais, especialmente em solos arenosos, com lençol freático superficial (Zhang et al., 2015; Baram et al., 2016; García-Díaz et al., 2017). Por isso, torna-se necessário a escolha de estratégias para aumentar a recuperação de N pelos pessegueiros, em que se pode destacar a seleção de porta-enxertos, escolha de fontes de N com liberação mais gradual, em pessegueiros jovens em crescimento e escolha das melhores épocas (estágios fenológicos) de fornecimento de N em pessegueiros adultos em produção.

2.2. SELEÇÃO DE PORTA-ENXERTOS EFICIENTES NA ABSORÇÃO DE N

O programa de melhoramento iniciado no RS na década de 50 possibilitou o lançamento de um grande número de cultivares de melhor qualidade e expansão do período de colheita de 15 para 90 até 100 dias. A criação do Banco de Germoplasma de Prunóideas na década de 50, atualmente com cerca de 850 acessos, também contribuiu para a obtenção de cultivares que atendam necessidades em distintas regiões do Brasil (Lima et al., 2003; Madail & Raseira, 2008).

Posteriormente, na década de 90, na Universidade Federal de Pelotas (UFPel), foram iniciadas intensas pesquisas com porta-enxertos das cultivares Capdeboscq (em razão da facilidade de obtenção de caroços e facilidade de germinação) e Aldrighi (por apresentar afinidade com a maioria das cultivares copa), os quais são amplamente utilizados na indústria conserveira. Mas, ao longo dos anos, estudos foram investidos em outros porta-enxertos, como Okinawa, Tsukuba, Flordaguard, Nemared, Nemaguard, GF 677, entre outros (Chalfun & Hoffmann, 1997; Rossi, 2004, Picolotto et al., 2009).

O porta-enxerto pode ser determinante para o desenvolvimento da cultivar, alterando a área da seção do caule, altura, formato e crescimento da planta, volume da copa, ângulo de abertura dos ramos, fenologia, qualidade dos frutos, precocidade produtiva, produção, resistência a doenças e, especialmente, o estado nutricional das plantas (Comiotto et al., 2012; Mayer & Pereira, 2006; Rato et al., 2008; Remorini et al., 2008; Nava et al., 2009).

Na seleção de porta-enxertos normalmente se considera a compatibilidade com a copa, vigor, desenvolvimento, época de florescimento, época e qualidade da frutificação, longevidade e adaptação das plantas a determinadas condições edáfoclimáticas (Picolotto, et al., 2012; Martins et al., 2014). Porém, não tem sido considerada a eficiência de absorção de nutrientes, entre eles o N, que pode ser determinada pelos parâmetros cinéticos de absorção (Warschefsky et al., 2016). Com isso, será possível selecionar porta-enxertos, por exemplo, mais adaptados a solos com menor ou maior fertilidade natural ou que possuem maior ou menor necessidade da aplicação de fertilizantes nitrogenados.

Os parâmetros cinéticos de absorção de nutrientes são representados pela velocidade máxima de absorção – V_{max} , pela constante de Michaelis-Menten – K_m , pela concentração mínima – C_{min} e pelo influxo (I). O valor de V_{max} refere-se à quantidade do nutriente absorvida quando todos os sítios dos carregadores presentes nas membranas das células das raízes estiverem saturados. O K_m indica a concentração de nutriente/íon em solução na qual é atingida a metade da velocidade máxima de absorção, sendo que, quanto menor o seu valor, maior a afinidade do íon com os sítios de absorção. O C_{min} corresponde à concentração mínima na qual as raízes podem extrair um nutriente a partir da solução e o influxo (I) equivale à quantidade de nutriente absorvido por unidade de massa de raiz, por unidade de tempo (Marschner, 2012).

As formas de N, como o $N-NH_4^+$ e $N-NO_3^-$ se aproximam das raízes por fluxo de massa (Ernani, 2003). No fluxo de massa, os nutrientes se movimentam em direção às raízes acompanhando o fluxo de água. A transpiração das plantas gera um déficit hídrico no interior da planta, possibilitando a absorção da água (solução) do solo. Assim, a quantidade de N que se aproxima das raízes é dependente das condições de transpiração, da concentração do

nutriente na solução do solo e do teor de água no solo. Em épocas de estiagem, o movimento é prejudicado e pode ser que a quantidade de N que chega às raízes não seja suficiente para atender a demanda das plantas, mesmo em situações em que ocorra boa disponibilidade de N no solo (Ernani, 2003; Taiz & Zeiger, 2013).

O N é absorvido pelas raízes principalmente nas formas de amônio (N-NH_4^+) e nitrato (N-NO_3^-), mais ou menos na proporção em que elas se encontram na rizosfera (Ernani, 2003). A forma amoniacal é incorporada às proteínas com menor gasto energético, diferentemente da forma nítrica, que tem que ser reduzida antes de ser incorporada ao metabolismo vegetal. A redução do nitrato envolve um gasto energético de duas moléculas de NADH para cada molécula de nitrato (Mota et al., 2011; Marschner, 2012). Essa redução é intermediada pela enzima nitrato redutase, que é dependente de molibdênio. Algumas espécies vegetais se desenvolvem melhor quando absorvem o N-NH_4^+ ; outras, quando absorvem o N-NO_3^- ; e para muitas delas, o desenvolvimento não é influenciado pela forma com que o N é absorvido. As razões para essas preferências ainda não estão bem conhecidas, mas podem estar relacionadas com o pH da rizosfera. A absorção de N-NH_4^+ provoca a acidificação da rizosfera, porque as plantas liberam íons de H^+ , enquanto a absorção de N-NO_3^- eleva o pH ao redor das raízes, porque as plantas liberam moléculas de hidroxila ou de bicarbonato (Ernani, 2003; Marschner, 2012; Taiz & Zeiger, 2013).

Após a chegada dos nutrientes às raízes, os parâmetros cinéticos de absorção dependem do tipo de transportador presente nas membranas das células localizadas na epiderme. Esses transportadores podem ter alta afinidade com o nutriente (HATS), tendo sua expressão induzida especialmente em situação de deficiência de nutriente, ou podem ter baixa afinidade com o nutriente (LATS), tendo sua expressão induzida em situação de suficiência de nutrientes. Há plantas que possuem ainda, transportadores de dupla afinidade (Marschner, 2012). Assim, materiais genéticos distintos podem apresentar diferentes valores de V_{\max} , K_m , C_{\min} e influxo, o que reflete em diferenças na capacidade de absorção de um determinado nutriente. Assim, por exemplo, em solos com baixa disponibilidade de N seria ideal plantar cultivares (genótipos) com transportadores com alta afinidade pelo N (baixo K_m), possibilitando a absorção pela planta mesmo em baixas concentrações de N (baixo C_{\min}), o que também pode propiciar a máxima absorção de N (alto influxo).

2.3. FONTES DE N NA ADUBAÇÃO DE CRESCIMENTO DE PESSEGUEIROS

A adubação de crescimento é realizada para estimular o crescimento das raízes e da parte aérea das frutíferas (Baldi et al 2010; Martínez-Alcántara et al., 2016) e, por isso, normalmente é realizada apenas a aplicação de fertilizantes nitrogenados, uma vez que se assume que outros nutrientes, como fósforo (P), potássio (K) e micronutrientes já foram adicionados na adubação de pré-plantio. A adubação de crescimento é realizada após o plantio das mudas e durante o crescimento das plantas, antes que as plantas iniciem a produção de frutos, o que é dependente da espécie e pode variar de 2 a 4 anos. Normalmente são usadas fontes minerais ou orgânicas de nutrientes, que devem ser aplicadas na linha ou projeção da copa das plantas, sobre a superfície do solo e sem incorporação (Brunetto et al, 2016).

A ureia é o fertilizante mais usado porque possui alto teor de N (45%) e pode apresentar baixo custo por unidade do nutriente. A ureia possui alta solubilidade (Mattos Junior et al., 2002) e, por causa disso, quando aplicada ao solo é rapidamente hidrolisado por enzimas ureases extracelulares produzidas por microrganismos, tais como bactérias e fungos do solo, produzindo carbonato de amônio (NH_4^+) 2CO_3 , que não é estável no solo. Em contato com a água, se decompõe em HCO_3^- , OH^- e N-NH_4^+ . O HCO_3^- pode, em seguida, decompor-se em CO_2 e OH^- . Se o N-NH_4^+ reage com OH^- , uma parte do N-NH_3 pode ser transferido para a atmosfera. Mas, parte do N-NH_4^+ restante é transformado através da oxidação biológica em nitrito (N-NO_2^-), seguido de N-NO_3^- , que pode ser absorvido pelas raízes das plantas ou perdido por lixiviação, especialmente, em solos com textura arenosa (Brunetto et al, 2016).

Como alternativa pode-se utilizar adubos orgânicos, como o composto orgânico que pode ser obtido pela compostagem aeróbica de diversos resíduos como, por exemplo, o de agroindústrias e de abatedouro de animais e serragem (Sete et al., 2015). Assim, o composto orgânico é uma fonte heterogênea constituída por duas frações químicas (fração lábil e fração estável), com taxas de decomposição distintas. Por exemplo, amido, proteínas e celulose são moléculas para as quais a grande maioria dos microrganismos possui enzimas que permitem a sua degradação e utilização como fonte de carbono e energia. Já a lignina, que é um polímero complexo e outros compostos fenólicos são de mais difícil degradação e, por isso, permanecerão no solo por mais tempo, até serem completamente mineralizados. Poucos microrganismos são capazes de sintetizar as enzimas necessárias à degradação da lignina. A composição bioquímica de resíduos que deram origem ao composto afeta a sua decomposição no solo, porque esse processo microbiano não ocorre no resíduo como se ele tivesse uma constituição única. Ao invés disso, os diversos grupos de compostos orgânicos presentes nos

resíduos são seletivamente atacados por uma fração dos microrganismos do solo, cada um deles produzindo um conjunto particular de enzimas degradativas atuantes sobre polímeros insolúveis (Aita et al., 1997; Aita et al., 2014). Por isso que o composto orgânico se caracteriza pela liberação gradativa de nutrientes, que reduz processos como lixiviação e volatilização, tendo potencial para aumentar o teor de carbono orgânico total (COT) em solos e, por consequência, a matéria orgânica do solo (Bustamante et al., 2011). Assim, se espera que boa parte do N mineralizado por resíduos orgânicos, como o composto orgânico, possa ser absorvido pelos pessegueiros e caso isso aconteça, poderá ocorrer incremento de parâmetros morfológicos, como altura e diâmetros de caule; melhoria no estado nutricional das plantas, diagnosticado pelo teor de nutrientes ou outro parâmetro fisiológico, e até antecipando a produtividade (Baldi et al., 2010; Baldi et al., 2014; Sete et al., 2015).

No entanto, considerando que nas linhas e entrelinhas existem plantas de cobertura espontâneas ou implantadas que coabitam com as frutíferas; elas poderão absorver parte do N mineralizado de fontes minerais ou orgânicas, diminuindo a disponibilidade de formas de N aos pessegueiros (Celette et al., 2009; Teravest et al., 2010; Swanton et al., 2015). Caso isso aconteça, os pessegueiros poderão, ao longo do crescimento, apresentar lento incremento de altura, diâmetro de caule e até atraso do início da produtividade (Belding et al., 2004; Tworowski & Glenn, 2010; Forey et al., 2016).

2.4. ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE N EM PESSEGUEIROS EM PRODUÇÃO E SUA RECUPERAÇÃO

A adubação nitrogenada de manutenção ou produção é realizada anualmente após o início da produção de frutos para, ao menos, repor ao solo a quantidade de N os nutrientes exportados pelos frutos no ano anterior (Brunetto et al., 2016). A necessidade e dose de N em geral são definidas com base no teor de matéria orgânica do solo, teor de N em folhas, parâmetros de crescimento e produtividade esperada (CQFS-RS/SC, 2016). Atualmente, na adubação de manutenção se recomenda aplicar 50% da dose de N estabelecida na brotação, 30% da dose de N no período de raleio dos frutos e 20% da dose de N após a colheita dos frutos, sendo o N aplicado sobre o solo, sem incorporação, normalmente na forma de ureia. Porém, a definição dos modos de fornecimento ou parcelamento de N em pessegueiros foi estabelecida com base em estudos realizados em tradicionais países produtores de pessegueiro do Mundo, e não no Brasil, que possui solos e condições climáticas muito distintas.

Por exemplo, Nario et al. (2003), em um estudo com pessegueiro no Chile durante dois anos, verificaram que as plantas recuperaram as maiores quantidades de N do fertilizante, quando a dose 100 kg N ha^{-1} foi aplicada no final do verão (aplicação pós-colheita) e 100 kg N ha^{-1} em dois momentos, metade da dose no final do verão e outra metade da dose na primavera. Neste mesmo estudo os autores relatam que a distribuição relativa do N total dentro da árvore mostrou padrões semelhantes durante ambos os anos. A maior proporção do N, inclusive derivado do fertilizante, foi observada em órgãos vegetativos, como folhas; mas também em órgãos estruturais, como ramos e caule. Porém, a recuperação de N derivado do fertilizante foi pequena nos dois anos, 8,3 e 2,7% do fertilizante aplicado.

Também, outros estudos com frutíferas, que não o pessegueiro, como o realizado por Zhang et al. (2012), relatam que em estudo conduzido durante dois anos em um pomar de macieira Red Fuji na China, que a maior parte do N foi absorvido quando aplicado no final da floração, sendo a maior parte do nutriente acumulado no caule e raízes. No primeiro ano a recuperação de N derivado do fertilizante foi de 9,9% e no segundo ano de 12,2%, respectivamente.

No Brasil, os estudos avaliando a melhor época ou modo de parcelamento de N em pessegueiro ainda são escassos e usando isótopos de ^{15}N são inexistentes. O uso da técnica isotópica é baseado no fato de que o ^{14}N e o ^{15}N ocorrem naturalmente no ambiente numa razão quase constante de 273:1 átomos (0,3663% em átomos de ^{15}N ou 3,663 ppm). Assim, a técnica isotópica de N tem sido usada há mais de 50 anos para a avaliação, na planta, da quantidade de N derivado do fertilizante (Ndff), do N derivado do solo (Ndfs) e da recuperação (R) de N do fertilizante aplicado. Normalmente se utiliza compostos nitrogenados enriquecidos em ^{15}N , que é estável. A técnica da utilização dos isótopos estáveis como traçadores consiste no princípio de fornecer à planta em um estudo, um composto químico no qual a razão isotópica do elemento considerado é diferente da normal e, em seguida, é procurado em que fração dos produtos sintetizados é encontrada também aquele elemento com razão isotópica alterada (Trivelin et al., 1973; Hardarson, 1990; Brunetto et al., 2014).

O uso de isótopos estáveis de N permite, e tem como vantagem, a determinação da utilização do nutriente antes de se obter os resultados de produção das plantas, ou quando não são obtidas diferenças destas entre os tratamentos. Além disso, os isótopos estáveis não causam danos por radiação e, por serem estáveis, é indeterminado o tempo de duração dos experimentos, assim como para armazenamento de amostras de solo e/ou de tecido vegetal enriquecidas com ^{15}N (Ambrosano et al., 1996). Vários estudos têm sido realizados utilizando o isótopo ^{15}N para entender a demanda do N em diferentes estádios fenológicos, bem como a

sua distribuição dentro da planta. Porém, no Brasil, em pessegueiros, estes estudos ainda não foram realizados.

3. HIPÓTESES

- I. O cultivo de porta-enxertos de pessegueiros durante 30 dias em solução de CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) possibilita o esgotamento de reservas internas de nutrientes, permitindo a obtenção dos valores de parâmetros cinéticos;
- II. A cultivar porta-enxerto Tsukuba I possui maior eficiência de absorção de N por que pode possuir crescimento mais rápido da parte aérea e do sistema radicular, em relação as cultivares de porta-enxerto Aldrighi e Clone 15;
- III. A cultivar copa Chimarrita aumenta a eficiência de absorção de N do porta-enxerto Okinawa;
- IV. No solo submetido à aplicação de ureia, em relação solo com adição de composto orgânico, os pessegueiros cultivados com plantas de cobertura (*Paspalum notatum*), apresentam menores valores de parâmetros de crescimento, fisiológicos e teores de nutrientes, por causa da maior competição do *Paspalum notatum* pelo N disponível no solo;
- V. Os pessegueiros recuperam maior quantidade de N aplicado, quando a dose de ureia é aplicada parceladamente no solo. Porém, a maior parte do N presente nos pessegueiros, independentemente do modo de parcelamento é derivado de outras fontes, que não a do N do fertilizante.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer estratégias para aumentar a recuperação de N por pessegueiros em crescimento e em produção.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Definir o período de esgotamento de reservas internas para avaliar os parâmetros cinéticos de absorção de N (Influxo, V_{max} , K_m , C_{min}), em cultivares de porta-enxertos de pessegueiro, com e sem enxertia;
- II. Avaliar parâmetros de crescimento, fisiológico e estado nutricional, em pessegueiros jovens, em crescimento, submetidos à aplicação de fontes de N, com e sem presença de plantas de cobertura;
- III. Avaliar a recuperação e destino do N derivado do fertilizante em pessegueiros adultos, em produção, aplicado em diferentes épocas.

5. RESULTADOS

Para estudar as estratégias para aumentar a recuperação de N pelo pessegueiro foram conduzidos cinco estudos, como segue:

- I. Methodological adjustment for nitrogen absorption kinetic parameters evaluation in peach rootstocks.
- II. Morphological and kinetic parameters of the uptake of nitrogen forms in clonal peach rootstocks.
- III. Kinetic parameters related to nitrogen uptake in 'Okinawa' peach rootstocks are altered by scion 'Chimarrita'.
- IV. *Paspalum notatum* co-cultivation and nitrogen sources application effects on nitrogen absorption and physiological parameters of peach trees.
- V. Contribuição anual e residual do nitrogênio derivado da uréia na nutrição de pessegueiros.

5.1 ESTUDO I

Methodological adjustment for nitrogen absorption kinetic parameters evaluation in peach rootstocks¹

ABSTRACT

Background and aims

In rootstock selection, kinetic parameters N absorption kinetic parameters (V_{\max} , K_m and C_{\min}) are not been considered, due to the absence of adequate methodology for kinetic parameters determination in peach rootstocks, since this fruit has greater internal nutrient reserves and therefore requires longer periods of internal reserve depletion and kinetic gait evaluation than annual crops, for which Claassen and Barber (1974) methodology has been efficient. Objective of this study was to determine internal reserves exhaustion period and necessary evaluation in order to determine N uptake kinetic parameters in peach rootstocks.

Methods

Cultivars were acclimated in Hoagland solution at 50% strength, tested at 7, 15 and 30 days internal reserves depletion in CaSO_4 solution and subsequently evaluated for 60 hours kinetic gait.

Results

The best time for N internal reserves exhaustion in evaluated cultivars is 30 days in CaSO_4 solution. And the best kinetic gait to reach C_{\min} for Aldrighi, Tsukuba 1 and Clone 15 peach rootstocks is 54 hours for NO_3^- and 39 hours for NH_4^+ .

Conclusions

The methodological adjustment allowed to determine that the most efficient peach rootstock in NO_3^- and NH_4^+ uptake was Tsukuba 1, since it presented the lowest values of C_{\min} and K_m , as well as higher values of V_{\max} and I_{\max} .

Keywords

Nitrate; ammonium; nutrient uptake efficiency; maximum nitrogen influx; *Prunus persica*.

Abbreviations

V_{\max}	Maximum Uptake speed
K_m	Michaelis-Menten constant
C_{\min}	Minimum concentration
I	Influx
N	Nitrogen

¹ Artigo elaborado de acordo com as normas da Revista Plant and Soil.

INTRODUCTION

Peach (*Prunus persica* L.) rootstock cultivars are commonly selected in the world for compatibility with scion, ease propagation, vigor, development, flowering season, yield, low cold requirement, disease resistance, effects on fruits physical-chemical characteristics, plant longevity and adverse climatic conditions adaptation (Martins et al. 2014; L Picolotto, Schmitz, and Pasa 2012; Warschefsky et al. 2016). However, due to low natural fertility of soils in many countries in the world, which are dependent on chemical fertilizers to maintain current production bases, it is necessary to consider kinetic parameters related to nutrient absorption efficiency, nitrate (NO_3^-) and / or ammonium (NH_4^+), which represents main nutrients affecting fruit growth, productivity and composition, as in peach trees (Karavin, Yildirim, and Cansaran 2016; Zhang et al. 2016).

Nutrient uptake kinetic parameters are represented by Maximum Uptake speed (V_{\max}), which refers to the amount of nutrient absorbed when all specific transporters in root cell membrane are saturated, as well as by Michaelis-Menten constant (K_m), which indicates nutrient/ion concentration present in solution when half of maximum uptake speed is reached. Lower K_m values indicate a higher ion affinity with absorption sites, while minimum concentration (C_{\min}) corresponds to the minimum concentration at which roots can extract a nutrient from solution, as well as influx (I) which means the amount of nutrient absorbed by roots mass unit by time unit (Martinez et al. 2015; Yang et al. 2007). In this way, cultivars presenting lower C_{\min} e K_m together with higher V_{\max} and I can adapt to low natural fertility soils or even being cultivated with lower N doses, reducing fertilization cost and optimizing financial resources, as well as reducing environmental contamination risks, especially by NO_3^- (Raseira, Herter, and Posser 2003; Scariotto et al. 2013).

Kinetic parameters studies commonly evaluate annual plants and employ Claassen & Barber (1974) methodology, where plants are cultivated in nutrient solution at 50% of recommended strength along approximately 15 days and, after that, plants are conditioned on distilled water for 24 hours in order to reduce nutrient intern reserves, as N. Following this period, it is expected the plant use its full nutrient uptake capacity from a complete nutritive solution adjusted to depletion gait.

From this experimental system, containing both plant and nutritive solution, hourly aliquots are collected across 24 hours and nutrients of interest are analyzed. However, in the case of fruit species, there is a methodological caveat related to kinetic parameters evaluation, as fruit trees, as peach rootstocks, possible have increased internal nutrient reserve as N,

allocated in organs as stems and roots (Brunetto et al. 2016; Jordan et al. 2014; Jordan 2015), compared to young plants from annual species, for which, Claassen & Barber (1974) methodology has been properly employed.

Therefore, adjusting both internal reserves exhaustion time and kinetic gait evaluation times in order to obtain an evaluation methodology for nutrient uptake kinetic parameters appropriate to fruit species, as peach trees, is of great importance. These parameters can contribute for cultivar selection with increased nutrient uptake capacity as well as for zoning of cultivars which are better adapted to soil condition from different regions, contributing to increased yield and fruit quality as well as lower environmental risks and reduced production costs. The present study aimed to determine the period for internal reserve exhaustion and necessary evaluation for N uptake kinetic parameters determination in peach tree rootstocks.

Material and Methods

Experiment Preparation and Installation

Experiment was conducted in a greenhouse at the Soils Department (Departamento de Solos) from Federal University of Santa Maria (Universidade Federal de Santa Maria - UFSM), in Santa Maria, RS, Brazil's south region. Three rootstocks (hypobiotes) were used: Aldrighi compact (good adaptation to distinct edaphic conditions), Clone 15 (resistant to some nematodes species and produces fruits with greater weight and concentration of total soluble solids) and Tsukuba-1 (resistant to some nematodes species and is tolerant to high humidity soil). For plants obtainment, herbaceous branches from respective cultivars were collected in November 2012, from six-year-old adult matrices belonging to Prunus rootstock collection, Embrapa Clima Temperado, in Pelotas, southern Brazil.

Branches were 12cm long and had between three and five upper buds with whole leaves. Following collection, approximately five centimeters from branches base were submerged for 5 minutes in indolebutyric acid hydroalcoholic solution, 3.000 mg L⁻¹, being immediately inserted to a depth of 6-8 cm of its base in vermiculite containing wood boxes. Branches remained in vermiculite for 60 days in an intermittent mist chamber, with 25°C average temperature and 70% relative humidity. Root containing branches were transplanted to perforated plastic bags (30 x 18 cm), containing commercially available plant substrate based on pinus (30%) and peat (70%). Clonal rootstocks were cultivated along 18 months, conducted on a single tufted stem and were not grafted.

Clonal rootstocks Aldrichi, Clone 15 and Tsukuba 1 were removed from the packaging substrate. Each individual plant was put up in a 5 Liter vase, containing Hoagland nutrient solution at 25% strength (Jones Junior, 1983). Whole Hoagland nutritional solution contained (mg L^{-1}): $\text{N-NO}_3^- = 196$, $\text{N-NH}_4^+ = 14$, $\text{P} = 31$, $\text{K} = 234$, $\text{Ca} = 160$, $\text{Mg} = 48.6$, $\text{S} = 70$, $\text{Fe-EDTA} = 5$, $\text{Cu} = 0.02$, $\text{Zn} = 0.15$, $\text{Mn} = 0.5$, $\text{B} = 0.5$ and $\text{Mo} = 0.01$. On the surface of each vase, a styrofoam sheet with a central hole was fitted to allow passage of the plant, which was later fixed with foam. Styrofoam sheet allowed plant fixation and reduced solution evaporation. Vases containing nutritive solution and plants were disposed over a metallic table, in a greenhouse, with 25°C average temperature and 60% relative humidity. During acclimation period, plants remained in Hoagland's solution for 21 days, with solution changes at each three days. Solution aeration in each vase was made by PVC microtubes, which were connected to oil free air compressor. In first 7 acclimation days, Hoagland's solution at 25% strength was used, while in the last 15 acclimation days, a 50% strength Hoagland's solution was used. All solution's pH was daily adjusted by adding, when necessary, $\text{HCl } 1.0 \text{ mol L}^{-1}$ or $\text{NaOH } 1.0 \text{ mol L}^{-1}$, in order to maintain $6,0 \pm 0.2$ values.

During the long reserve depletion period in distilled water, there is no positive charges in root cells exterior and this potential electric charge variation is responsible for plasmatic membrane depolarization and inhibits electrochemical gradient formation which, in turn, is responsible for nutrient uptake. Due to that, in order to avoid root cells death, a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ CaSO_4 solution was used along the reserve depletion period in distilled water. Thus, following acclimation period, plants were sort out in three groups. Five plants of each different rootstock composed each group. Groups remained in CaSO_4 solution ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) for different times: the first one for 7 days, the second one for 15 days and the third one along 30 days. In order to deplete internal nutrient reserves, Ca sulfate solution was used. Except Ca and S, which were maintained to provide Ca^{2+} and SO_4^{2-} charges preserving membrane's electrochemical potential as well as cell wall integrity. Cell wall integrity is kept due to Ca's characteristic, when deposited on cell wall, to form Ca's pectates, increasing pectic matrix stability (Proseus & Boyer, 2006). And so, 7,15 and 30 days were the periods of nutrient reserve depletion, except Ca^{2+} and SO_4^{2-} . After each period, plants returned to Hoagland's nutritive solution at 50% of its original concentration. Plants remained in this solution for one hour, until system reaches a condition of steady state of absorption, which is required for application of Claassen e Barber (1974) kinetic model.

Nutritive solution was once again replaced, keeping same nutrient concentration as original Hoagland at 50%, starting aliquot collection. Fifty milliliters from each solution were

collected at time zero, before plants were adjusted in vases with initial solution. Aliquots were collected hourly during the first 24 hours, followed by aliquot collection at each 3 hours, up to 48 hours. Finally, from 48 to 60 hours, solution aliquots were collected at each 6 hours.

Evaluation and analysis

After 60 hours evaluation, plants were removed from vase and separated in leaves, stems and roots. Root length and diameter were determined with help of a digital pachymeter, while fresh matter (MF) was determined by a digital scale. Remaining nutritive solution volume, in vases, was measured using a graduated beaker. Organs were dried in a forced air circulation incubator at 65°C until constant weight for dry matter (DM) determination. Dried fractions were ground, prepared and subjected to sulfur digestion (Tedesco et al. 1995). To do so, 0.200g dry matter from each fraction was added in a digestion tube (25 × 250 mm). In next step, 1 mL H₂O₂, 2 mL H₂SO₄ and 0.7 g digestion mixture (90.9% Na₂SO₄ + 9.1% CuSO₄ 5H₂O) were added to tubes, which were heated in a gradually raising temperature digestion block up to 350°C and kept at that temperature for 1 hour, until complete tissue digestion. Following digestion, digestion tube sample volume was adjusted to 50 ml, using distilled water. Ten mL of this extract were added to a 100 mL digestion tube, following by addition of 10 mL NaOH 10 mol L⁻¹ and sample was then distilled in a Kjeldahl steam distillation apparatus. After distillation, extract was collected in a recipient containing 5 mL boric acid followed by titration with 0.005 mol L⁻¹ H₂SO₄, allowing further calculation of total N content (Tedesco et al., 1995).

Collected solution was analyzed according to Tedesco et al. (1995). In order to do so, 20 mL from extract were collected in digestion tubes and 0.7 g MgO was immediately added to it followed by Kjeldahl semi-micro steam distillation. Subsequent to distillation, approximately 35mL extract were collected in 5mL boric acid. Extract was immediately titrated with H₂SO₄ 0.0025 mol L⁻¹, allowing N-NH₄⁺ content quantification. In the same sample with distilled MgO, 0.7 g Devarda alloy was added and promptly submitted to distillation process as previously described. Distillate was collected in a boric acid containing beaker and NO₃ concentration was immediately titrated with H₂SO₄, 0.0025 mol L⁻¹.

Kinetic Parameters Determination

From nutrients concentration determined as a function of time in each aliquot collected, initial and final solution vase volumes and root fresh matter, V_{max} and K_m were then calculated, using Influx software. For C_{min} value, N concentration present in 60 hour time depletion

solution was considered. Liquid Influx (IL) was calculated according to equation 1 by Michaelis-Menten and modified by Nielsen & Barber (1978).

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

Where: I = Nutrient influx rate, C = Nutrient concentration in each collected period, V_{max} = maximum uptake rate, K_m = Michaelis-Menten constant, and C_{min} = minimum concentration.

Statistical Analysis

Results obtained were submitted to analysis of variance in statistical environment R (R Core Team 2018) and, when treatment effect was significant, C_{min} , K_m and Influx means reached for each different rootstock were compared by Scott Knott test, with 1% significance alpha.

RESULTS

Morphological and Nutritional Parameters

As a function of time (7, 15 and 30 days) in which Aldrighi and Tsukuba 1 rootstocks were submitted to internal nutrient reserve exhaustion, they presented, compared to 'Clone 15', a longer root length and higher dry matter ratio between shoot and root. Besides, rootstock cultivar 'Tsukuba 1' presented increased root and shoot dry matter yield, as well as higher N concentration in leaves, when compared to the other cultivars evaluated. Rootstock 'Aldrighi' presented the highest N concentration in stem and roots, while 'Clone 15' the highest stem diameter (Table 1).

Table 1. Morphological parameters of 'Aldrichi', 'Clone 15' and 'Tsukuba 1' rootstocks grown in Hoagland solution after 7, 15 and 30 days internal reserves reduction (DRR) in CaSO₄.

Morphological parameters	Tsukuba 1			Aldrichi			Clone 15			P (anova)
	7 DRR	15 DRR	30 DRR	7 DRR	15 DRR	30 DRR	7 DRR	15 DRR	30 DRR	
RDM(g)	2.19aB	2.39aA	2.24aB	1.79bB	1.99bA	1.84bB	1.58cB	1.78cA	1.63cA	0.00
SDM (g)	5.66aA	5.61aA	5.51aB	4.70bA	4.65bA	4.55bB	4.50cB	4.45cA	4.35cB	0.00
Relationship R/SDM (g)	0.38aB	0.42aA	0.40aB	0.38aB	0.42aA	0.40aB	0.35bB	0.40bB	0.37bB	0.97
Height (cm)	56.34aA	56.24aA	56.14aA	52.12cA	52.02cA	51.92cA	54.48bB	54.38bB	54.28bB	0.00
Root length (cm)	33.98aB	34.08aB	34.28aA	33.92aB	34.02aB	34.22aA	25.90bB	26.00bB	26.20bA	0.00
Stem diameter (cm)	0.80bA	0.80bA	0.75bB	0.75cA	0.75cA	0.70cB	0.95aA	0.95aA	0.90aB	0.00
N total in Leaf (%)	3.54aA	3.51aA	3.66aA	2.12bB	2.09bB	2.24bB	2.01bA	1.98bA	2.13bA	0.00
N total in Stem (%)	1.54bA	1.51Ab	1.66bA	1.84aA	1.81aA	1.96aA	1.51bA	1.48bA	1.63bA	0.00
N total in Root (%)	2.64cB	2.61Cc	2.76cA	2.83aB	2.80aC	2.95aA	2.68bB	2.65bC	2.80bA	0.00

¹ Means followed by lowercase letters are significant different between cultivars in each time point; while means followed by uppercase letters are significant different between times within the same cultivar $P = 0.01$ (Scott Knot's test). RDM = Root dry matter, SDM = Shoot dry matter.

N reserves exhaustion time

Considering N-NO₃, Tsukuba 1 and Aldrichi presented the highest V_{max} values and lowest K_m values in the 30 days internal reserve depletion period when compared to 7 and 15 days (Figure 1). However, despite the lowest V_{max} value presented, 'Clone 15' also showed the lowest K_m at 30 days internal reserve depletion period. Besides, no visual symptoms of N deficiency could be observed in cultivars evaluated in this study; so, 30-day period was defined as most adequate for internal nutrient reserves exhaustion.

Results regarding V_{max} suggest 'Tsukuba 1' plants as the ones possessing higher NO₃⁻ absorption sites concentration by root unit, compared to other rootstocks cultivars analyzed (Batista, et al., 2016; Cerezo et al. 2007; Tomasi et al. 2015; Yang et al. 2007). On the other hand, lowest K_m values indicate increased NO₃⁻ affinity by absorption site, being, therefore, more efficient in its absorption (Cerezo et al. 2007; Yang et al. 2007). Furthermore, 'Tsukuba

1' presented lowest C_{\min} values evidencing that this rootstock can be cultivated in both nutritive solution or in low NO_3^- availability soils. Considering that, as lower the critical levels of nutrient were needed lower are application rates of nitrogen fertilizers required by this cultivar, reducing inputs acquisition associated costs, as well as potential N losses to the system and negative environmental impacts, observed result is very advantageous to producer (Bednorz et al. 2016; Bindraban et al. 2015).

'Tsukuba 1'' also stood out in NH_4^+ absorption, presenting lowest K_m e C_{\min} values at 30 days internal reserve depletion period for N (Figure 2). These results show that 'Tsukuba 1' also has a great affinity for NH_4^+ when compared to the other two cultivars. In this way, greater influx may have contributed to better shoot and root dry matter yield observed for 'Tsukuba 1', while lowest yields were presented by 'Clone 1' (Table 1).

Taking into account that NH_4^+ is a N form absorbed and assimilated with lower energy expenditure, whose supply mechanism occurs by mass flow, where water moves towards roots carrying in nutrients dissolved in it (Zhou, Bai, and Song 2015), in a nutrient-rich environment, there is a tendency for plant to increase shoot and root dry matter production, which in turn will require a greater demand for water and nutrients, thus increasing NH_4^+ influx (Craine et al. 2015; Topp et al. 2016). Furthermore, it worth take into account that higher shoot dry matter yield may have increased plants transpiration, leading to a greater hydric gradient between nutrient solution, plant and atmosphere, stimulating approximation of all N forms to roots and, consequently, their absorption and transport, justifying higher N concentration in plant organs (Table 1) (El-Jendoubi, Abadía, and Abadía 2013; Jordan et al. 2014; Rivera, Bañados, and Ayala 2016).

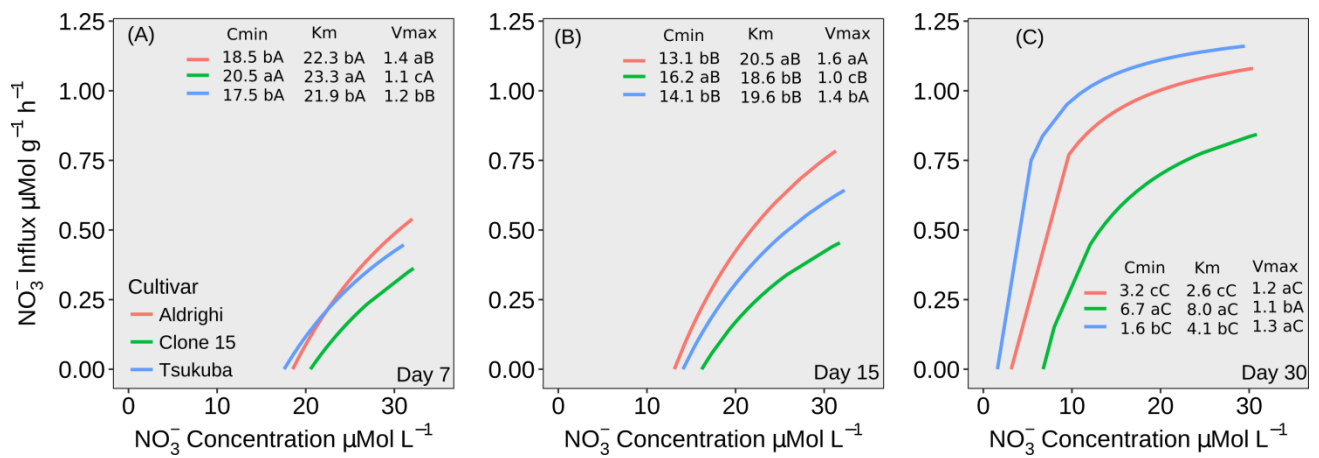


Figure 1. Influx rate, C_{\min} , K_m and V_{\max} of NO_3^- in 'Aldrichi', 'Clone 15' and 'Tsukuba 1' rootstocks, grown in Hoagland solution after 7, 15 and 30 days internal reserves reduction in CaSO_4 . Means followed by lowercase letters are significant different between cultivars at each time point and means followed by uppercase letters are significant different between times points within each different cultivar $\alpha = 0.01$ (Scott Knot's test).

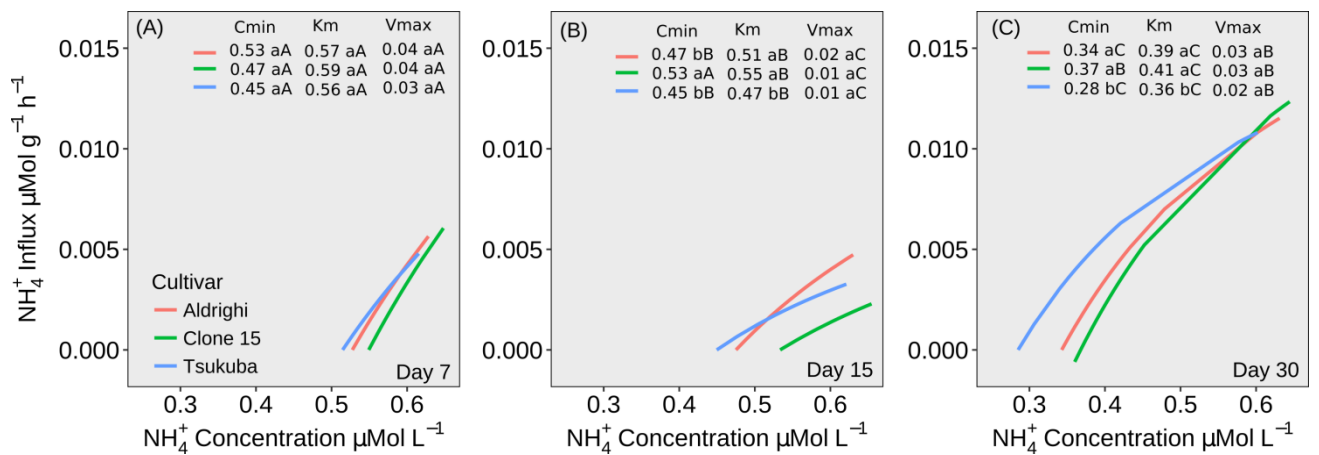


Figure 2. NH_4^+ Influx rate, C_{\min} , K_m and V_{\max} in 'Aldrichi', 'Clone 15' and 'Tsukuba 1' rootstocks, grown in Hoagland solution after 7, 15 and 30 days internal reserves reduction in CaSO_4 . Means followed by lowercase letters are significant different between cultivars at each time point and means followed by uppercase letters are significant different between times points within each different cultivar $\alpha = 0.01$ (Scott Knot's test).

Best evaluation time for N absorption kinetic gait

Once defining best N internal reserves depletion period in peach trees, another important result in order to evaluate kinetic parameters regarding sample collection time to set N absorption kinetic gait. NO_3^- uptake gait results show a more intense NO_3^- absorption initially (Figure 3), possibly due to low plant reserves and high nutrient demand (Fageria, 2016). However, transporters NO_3^- uptake decreases over time until reaching C_{\min} , and it is prudent to

say that, after 54 hours of evaluation, NO_3^- concentrations in solution were already very low, and all cultivars reached the minimum concentrations required for NO_3^- absorption (Figure 3). This result indicates that peach tree is able to absorb NO_3^- more slowly, reaching C_{\min} at different collection time for each cultivar, being important to collect samples in a higher time range than the 24 hours used for annual species, as corn (Claassen and S. A. Barber 1974; Horn et al. 2006).

After 60 hours collection, it was observed that $\text{NH}_4^+ C_{\min}$ was reached much earlier than for NO_3^- , and it was correct to state that in 39 hours after starting evaluation, all cultivars had reached their $\text{NH}_4^+ C_{\min}$ (Figure 4). This result demonstrates that solution's NH_4^+ concentration is also a relevant factor, since there was less NH_4^+ than NO_3^- in Hoagland nutrient solution at 50% strength. Adding to that, peach trees reached $\text{NH}_4^+ C_{\min}$ early, possibly due to different transporters responsible for NH_4^+ and NO_3^- absorption, which are referred to, in literature, as belonging to NRT gene family, for NO_3^- uptake (Dechorgnat et al. 2011; Segonzac et al. 2007; Tomasi et al. 2015), while AMT gene family is responsible for NH_4^+ absorption (Loqué and Wirén 2004).

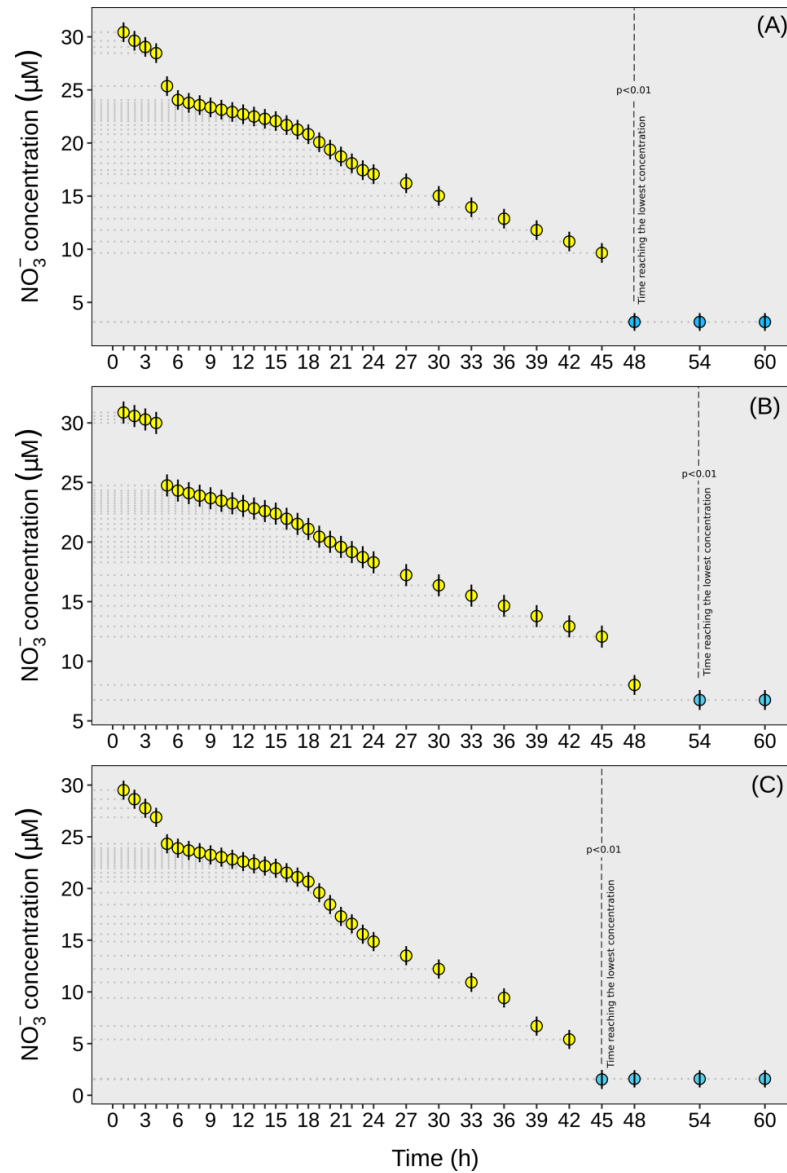


Figure 3. NO_3^- concentration in Hoagland nutrient solution at 50% ionic strength after 30 days internal reserves reduction, and over 60 hours of collection. NO_3^- concentration in 'Aldrichi' (A), 'Clone 15' (B) and 'Tsukuba 1' (C) after 30 days internal reserves reduction. Mean concentrations of NO_3^- in blue differ significantly from averages of concentrations in yellow $\alpha = 0.01$ (Scott Knot's test).

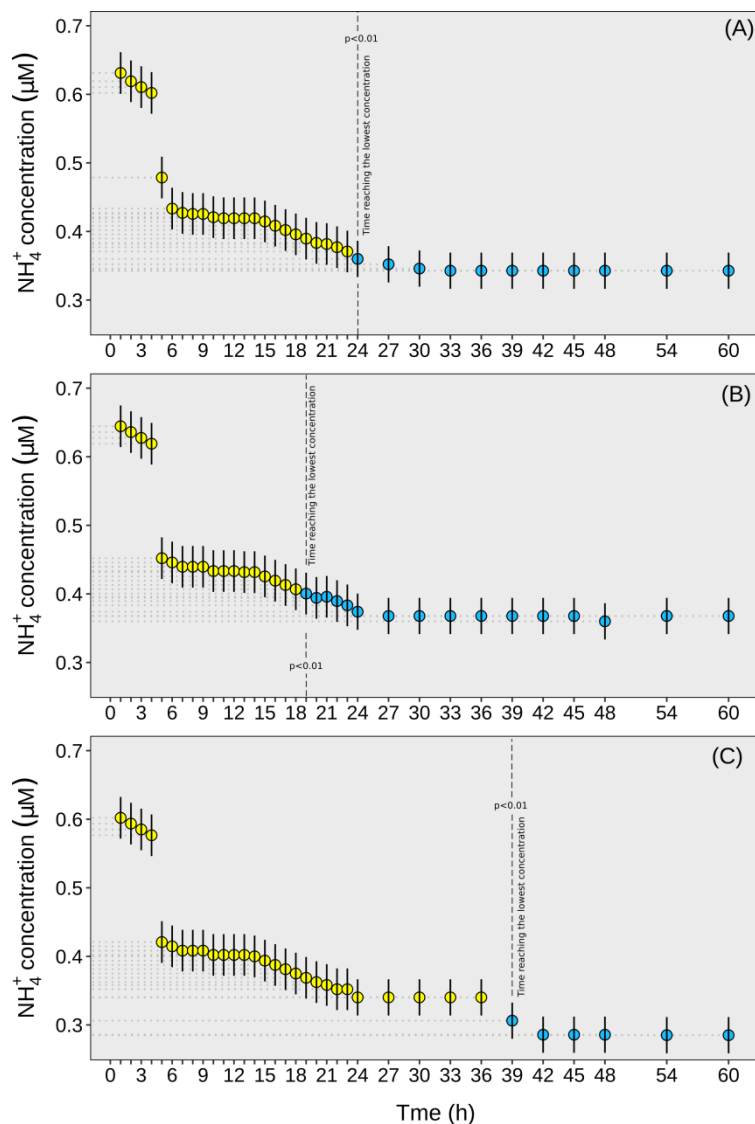


Figure 4. NH_4^+ concentration in Hoagland nutrient solution at 50% ionic strength after 30 days internal reserves reduction, and over 60 hours collection. NH_4^+ concentration in 'Aldrighi' (A), 'Clone 15' (B) and 'Tsukuba 1' (C) after 30 days internal reserves reduction. Mean concentrations of NH_4^+ in blue differ significantly from averages of concentrations in yellow $\alpha = 0.01$ (Scott Knot's test).

CONCLUSION

Results presented here, demonstrates that minimum time for kinetic gait evaluation to reach C_{\min} in peach rootstock 'Aldrighi', 'Tsukuba-1' and 'Clone 15' is 54 hours for NO_3^- and 39 hours for NH_4^+ .

Also, the best N internal reserves depletion period for 'Aldrighi', 'Tsukuba-1' e 'Clone 15' peach rootstocks was 30 days in CaSO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) solution.

Based on data obtained, we conclude Tsukuba 1 as the most efficient peach rootstock for NO_3^- and NH_4^+ absorption, as observed by lowest C_{min} and K_m values as well as higher V_{max} and I_{max} for NO_3^- and NH_4^+ observed for the cultivar.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (Capes) - Financial Code 001, and in part by the National Council of Scientific and Technological Development (CNPq) and the Foundation for Research Support of Rio Grande do Sul (FAPERGS).

REFERÊNCIAS

- Ahmad, W. et al. 2014. "Role of Nitrogen Fertilizer in Crop Productivity and Environmental Pollution." 4(3):201–6.
- Andrade, Bianca O., Camila L. Bonilha, Pedro Maria A. Ferreira, Ilsi I. Boldrini, and Gerhard E. Overbeck. 2016. "Highland Grasslands at the Southern Tip of the Atlantic Forest Biome: Management Options and Conservation Challenges." *Oecologia Australis* 20(02):175–99. Retrieved (<https://revistas.ufrj.br/index.php/oa/article/view/8358>).
- Baldi, Elena, Graziella Marcolini, Maurizio Quartieri, Giovambattista Sorrenti, and Moreno Toselli. 2014. "Effect of Organic Fertilization on Nutrient Concentration and Accumulation in Nectarine (*Prunus Persica* Var. *Nucipersica*) Trees: The Effect of Rate of Application." *Scientia Horticulturae* 179(3):174–79. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.029>).
- Basche, Andrea D. et al. 2016. "Simulating Long-Term Impacts of Cover Crops and Climate Change on Crop Production and Environmental Outcomes in the Midwestern United States." *Agriculture, Ecosystems and Environment* 218:95–106. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2015.11.011>).
- Batista, RO, AE Furtini Neto, and SFC DECCETTI. 2016. "Root Morphology and Nutrient Uptake Kinetics by Australian Cedar Clones." *Revista* 29(1):153–63. Retrieved July 26, 2017(http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1983-21252016000100153&script=sci_arttext).
- Bechaieb, Rim, Zohra B. Lakhdar, and Hélène Gérard. 2018. "DFT and TD-DFT Studies of

Mg-Substitution in Chlorophyll by Cr(II), Fe(II) and Ni(II).” *Chemistry Africa* 1(1–2):79–86. Retrieved January 21, 2019 (<http://link.springer.com/10.1007/s42250-018-0003-y>).

Bednorz, D., N. Tauchnitz, O. Christen, H. Rupp, and R. Meissner. 2016. “The Impact of Soil Heterogeneity on Nitrate Dynamic and Losses in Tile-Drained Arable Fields.” *Water, Air & Soil* 227(10):395. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11270-016-3095-5>).

Bindraban, PS, C. Dimkpa, L. Nagarajan, A. Roy, and R. Rabbinge. 2015. “Revisiting Fertilisers and Fertilisation Strategies for Improved Nutrient Uptake by Plants.” *Biology and Fertility of Soils* 51(8):897–911. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s00374-015-1039-7>).

Bravo, Katherine et al. 2012. “Effect of Organic Fertilization on Carbon Assimilation and Partitioning in Bearing Nectarine Trees.” *Scientia Horticulturae* 137:100–106. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2012.01.030>).

Brunetto, G., CA Ceretta, GWB de Melo, and E. Giroto. 2016. “Contribution of Nitrogen from Urea Applied at Different Rates and Times on Grapevine Nutrition.” *Scientia* 207:1–6. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423816302278>).

Brunetto, Gustavo et al. 2017. “Fruit Yield and Composition in Orange Trees Cv. ‘Lane Late’ in Response to Nitrogen Fertilization in Sandy Typic Hapludalf Soil.” *Ciência Rural* 47(3). Retrieved January 22, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782017000300253&lng=en&tlng=en).

Brunetto, Gustavo et al. 2018. “Nitrogen Availability in an Apple Orchard with Weed Management.” *Ciência Rural* 48(5). Retrieved January 17, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782018000500251&lng=en&tlng=en).

Carranca, Corina, Gustavo Brunetto, and Massimo Tagliavini. 2018. “Nitrogen Nutrition of Fruit Trees to Reconcile Productivity and Environmental Concerns.” *Plants* 7(1):4. Retrieved January 22, 2019 (<http://www.mdpi.com/2223-7747/7/1/4>).

Centinari, M., JE Vanden Heuvel, M. Goebel, and M. S. Smith. 2016. “Root-zone Management

- Practices Impact above and Belowground Growth in Cabernet Franc Grapevines.” *Australian Journal Of* 22(1):137–48. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ajgw.12162/full>).
- Cerezo, M., G. Camañes, V. Flors, E. Primo-Millo, and P. García-Agustín. 2007. “Regulation of Nitrate Transport in Citrus Rootstocks Depending of Nitrogen Availability.” *Plant Signaling & Behavior* 2(5):337–42. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/psb.2.5.4578>).
- Claassen, N. and S. A. Barber. 1974. “A Method for Characterizing the Relation between Nutrient Concentration and Flux into Roots of Intact Plants.” *PLANT PHYSIOLOGY* 54(4):564–68. Retrieved (<http://www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.54.4.564>).
- Claassen, N. and SA Barber. 1974. “A Method for Characterizing the Relation between Nutrient Concentration and Flux into Roots of Intact Plants.” *Plant Physiology* 54(4):564–68. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.plantphysiol.org/content/54/4/564.short>).
- Corrêa, Márcio Cleber de Medeiros et al. 2018. “Surface Application of Lime on a Guava Orchard in Production.” *Revista Brasileira de Ciência Do Solo* 42(0). Retrieved January 22, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832018000100522&lng=en&tlng=en).
- Couturier, J. et al. 2007. “The Expanded Family of Ammonium Transporters in the Perennial Poplar Plant.” *New* 174(1):137–50. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2007.01992.x/full>).
- CQFS-RS/SC. 2016. *Manual de Calagem e Adubação Do RS/SC*. 11th ed. edited by Comissão de Quimica e Fertilidade. Porto Alegre.
- Craine, J. M. et al. 2015. “Ecological Interpretations of Nitrogen Isotope Ratios of Terrestrial Plants and Soils.” *Plant and Soil* 396(1–2):1–26. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11104-015-2542-1>).
- Dechorgnat, J. et al. 2011. “From the Soil to the Seeds: The Long Journey of Nitrate in Plants.” *Journal Of* 62(4):1349–59. Retrieved July 27, 2017 (<https://academic.oup.com/jxb/article-abstract/62/4/1349/463855>).
- El-Jendoubi, Hamdi, Javier Abadía, and Anunciación Abadía. 2013. “Assessment of Nutrient

Removal in Bearing Peach Trees (*Prunus Persica* L. Batsch) Based on Whole Tree Analysis.” *Plant and Soil* 369(1–2):421–37. Retrieved February 2, 2017 (<http://link.springer.com/10.1007/s11104-012-1556-1>).

Fachinetto, Juliana Maria, Miguel Dall’Agnol, Cleber Henrique Lopes de Souza, Roberto Luis Weiler, and Carine Simioni. 2017. “Genetic Diversity of a *Paspalum Notatum* Flüge Germplasm Collection.” *Revista Brasileira de Zootecnia* 46(9):714–21. Retrieved January 17, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982017000900714&lng=en&tlng=en).

Forey, Oswaldo, Aurélie Metay, and Jacques Wery. 2016. “Differential Effect of Regulated Deficit Irrigation on Growth and Photosynthesis in Young Peach Trees Intercropped with Grass.” *European Journal of Agronomy* 81:106–16. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2016.09.006>).

George, TS, LK Brown, L. Ramsay, and PJ White. 2014. “Understanding the Genetic Control and Physiological Traits Associated with Rhizosheath Production by Barley (*Hordeum Vulgare*).” *New Phytologist* 203(1):195–205. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nph.12786/full>).

Ghimire, Bardan et al. 2017. “A Global Trait-Based Approach to Estimate Leaf Nitrogen Functional Allocation from Observations.” *Ecological Applications* 27(5):1421–34. Retrieved January 9, 2019 (<http://doi.wiley.com/10.1002/eap.1542>).

Hagemann, Nikolas, Claudia I. Kammann, Hans-Peter Schmidt, Andreas Kappler, and Sebastian Behrens. 2017. “Nitrate Capture and Slow Release in Biochar Amended Compost and Soil” edited by J. Paz-Ferreiro. *PLOS ONE* 12(2):e0171214. Retrieved January 22, 2019 (<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0171214>).

Hernández, Teresa, Carmen Chocano, José-Luis Moreno, and Carlos García. 2016. “Use of Compost as an Alternative to Conventional Inorganic Fertilizers in Intensive Lettuce (*Lactuca Sativa* L.) Crops—Effects on Soil and Plant.” *Soil and Tillage Research* 160:14–22. Retrieved January 22, 2019 (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167198716300162>).

Hoekstra, NJ, M. Suter, JA Finn, S. Husse, and A. Lüscher. 2015. “Do Belowground Vertical Niche Differences between Deep- and Shallow-Rooted Species Enhance Resource Uptake

- and Drought Resistance in Grassland Mixtures?” *Plant and Soil* 394(1–2):21–34. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11104-014-2352-x>).
- Horn, D., P. R. Ernani, L. Sangoi, C. Schweitzer, and P. C. Cassol. 2006. “Parâmetros cinéticos e morfológicos da absorção de nutrientes em cultivares de milho com variabilidade genética contrastante.” *Revista Brasileira de Ciência Do Solo* 30(1):77–85.
- Jones Junior, JB. 1983. *A Guide for the Hydroponic & Soilless Culture Grower*. Retrieved July 27, 2017 (https://scholar.google.com.br/scholar?q=A+Guide+for+the+hydroponic+%26+soil+less+culture+grower&btnG=&hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5).
- Jordan, M. O., G. Vercambre, L. Gomez, and L. Pages. 2014. “The Early Spring N Uptake of Young Peach Trees (*Prunus Persica*) Is Affected by Past and Current Fertilizations and Levels of C and N Stores.” *Tree Physiology* 34(1):61–72. Retrieved February 2, 2017 (<https://academic.oup.com/treephys/article-lookup/doi/10.1093/treephys/tpt109>).
- Jordan, Marie-Odile. 2015. “C Depletion and Tree Dieback in Young Peach Trees: A Possible Consequence of N Shortage?” *Annals of Forest Science* 72(5):529–37. Retrieved (<http://link.springer.com/10.1007/s13595-015-0466-9>).
- Karavin, N., C. Yildirim, and A. Cansaran. 2016. “Effects of Traffic Based Pollution on Nitrogen Use Proficiency, Carbon Content and Litter c: N Ratio in *Prunus Persica* (L.)” *FEB-FRESENIUS*. Retrieved July 26, 2017 (https://www.researchgate.net/profile/Svetlana_Acic/publication/309317654_Ecological_features_of_vascular_flora_on_ski_trails_on_NP_Kopaonik_mountain_Serbia/links/5820339508aeccc08af639d2/Ecological-features-of-vascular-flora-on-ski-trails-on-NP-Kopaonik-m).
- Klodd, AE, DM Eissenstat, TK Wolf, and M. Centinari. 2016. “Coping with Cover Crop Competition in Mature Grapevines.” *Plant and Soil* 400(1–2):391–402. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11104-015-2748-2>).
- Kunz, Ch, D. J. Sturm, D. Varnholt, F. Walker, and R. Gerhards. 2016. “Allelopathic Effects and Weed Suppressive Ability of Cover Crops.” *Plant, Soil and Environment* 62(2):60–66.
- Lee, JM, NR Hemmingson, EMK Minnee, and C. E. CLARK. 2015. “Management Strategies

for Chicory (*Cichorium Intybus*) and Plantain (*Plantago Lanceolata*): Impact on Dry Matter Yield, Nutritive Characteristics and Plant Density.” *Crop and Pasture Science* 66(2):168–83. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.publish.csiro.au/CP/CP14181>).

Li, H. et al. 2012. “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* 63(17):6173–85. Retrieved February 2, 2017 (<https://academic.oup.com/jxb/article-lookup/doi/10.1093/jxb/ers271>).

Lichtemberg, Paulo S. F., Walmes M. Zeviani, Themis J. Michailides, and Louise L. May De Mio. 2016. “Comparative in Vivo and in Vitro Study on *Monilia Fructicola* Causing Brown Rot of Stone Fruit in Brazil and California.” *Tropical Plant Pathology* 41(2):98–106. Retrieved January 16, 2019 (<http://link.springer.com/10.1007/s40858-016-0074-8>).

Loqué, D. and N. von Wirén. 2004. “Regulatory Levels for the Transport of Ammonium in Plant Roots.” *Journal of Experimental Botany* 55(401):1293–1305. Retrieved July 27, 2017 (<https://academic.oup.com/jxb/article-abstract/55/401/1293/478982>).

Martinez, Herminia E. P. et al. 2015. “Short-Term Water Stress Affecting NO₃- Absorption by Almond Plants.” *Scientia Horticulturae* 197(August 2016):50–56.

Martins, Antonio Sidnei, Valmor João Bianchi, Ilisandra Zanandrea, Victor Mousinho Spinelli, and José Carlos Fachinello. 2014. “Efeito Da Estratificação de Sementes Na Emergência e Desenvolvimento Inicial de Plântulas de Porta-Enxertos de Pessegueiro Effects of Seeds Stratification on Seedling Emergence and Initial Development of Peach Rootstock.” *Recebido Aceito* 42(4):366–75. Retrieved July 26, 2017 (<http://cientifica.org.br/index.php/cientifica/article/viewFile/538/357>).

Masilionyte, Laura et al. 2017. “Effect of Cover Crops in Smothering Weeds and Volunteer Plants in Alternative Farming Systems.” *Crop Protection* 91:74–81. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.09.016>).

Mayer, NA, FM Pereira, and VY Koba. 2006. “Desenvolvimento Inicial No Campo de Pessequeiros’ Aurora-1’ enxertados Em Clones de Umezeiro e’Okinawa’ propagados Por Estacas Herbáceas.” *Revista Brasileira de Fruticultura* 28(2):231–35. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.scielo.br/pdf/%0D/rbf/v28n2/a17v28n2.pdf>).

Nario, Adriana, Inés Pino, Felipe Zapata, María Paz Albornoz, and Pedro Baherle. 2003.

- “Nitrogen (N) Fertiliser Use Efficiency in Peach (*Prunus Persica* L.) Cv. Goldencrest Trees in Chile.” *Scientia Horticulturae* 97(3–4):279–87. Retrieved (<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030442380200211X>).
- Nielsen, NE, SA Barber-Agronomy Journal, and undefined 1978. n.d. “Differences Among Genotypes of Corn in the Kinetics of P Uptake 1.” *DL.Sciencesocieties.Org*. Retrieved December 30, 2018 (<https://dl.sciencesocieties.org/publications/aj/abstracts/70/5/AJ0700050695>).
- Oliveira, Bruno Salvador et al. 2016. “Nutrition, Productivity and Soil Chemical Properties in an Apple Orchard under Weed Management.” *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 104(2):247–58.
- Pérez-Gonzalez, S. 2001. “Importance of brazilian peach germplasm for the mexican subtropics.” *Acta Horticulturae* 565(565):75–78. Retrieved (https://www.actahort.org/books/565/565_11.htm).
- Pescie, Maria A., Marcela P. Borda, Daniela P. Ortiz, Maria R. Landriscini, and Raul S. Lavado. 2018. “Absorption, Distribution and Accumulation of Nitrogen Applied at Different Phenological Stages in Southern Highbush Blueberry (*Vaccinium Corymbosum* Interspecific Hybrid).” *Scientia Horticulturae* 230:11–17. Retrieved January 22, 2019 (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423817306775>).
- Picolotto, L. et al. 2009. “Características Vegetativas, Fenológicas e Produtivas Do Pessegueiro Cultivar Chimarrita Enxertado Em Diferentes Porta-Enxertos.” *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44(6):583–89. Retrieved July 27, 2017 (<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/2072/5731>).
- Picolotto, L., J. Dutra Schmitz, and M. Da Silveira Pasa. 2012. “Desenvolvimento Vegetativo e Produtivo Da Cultivar ‘Maciel’ em Diferentes Porta-Enxertos.” *Ciência Rural*. Retrieved July 26, 2017 (<http://www.scielo.br/pdf/cr/2012nahead/a16212cr5830.pdf>).
- Picolotto, Luciano, Juliano Dutra Schmitz, Mateus da Silveira Pasa, Valmor Carlos Bianchi, and José Carlos Fachinello. 2012. “Desenvolvimento Vegetativo e Produtivo Da Cultivar ‘ Maciel ’ Em Diferentes.” *Ciência Rural* 42:1–6.
- Pii, Youry, Massimiliano Alessandrini, Katia Guardini, Anita Zamboni, and Zeno Varanini. 2014. “Induction of High-Affinity NO₃- Uptake in Grapevine Roots Is an Active Process

Correlated to the Expression of Specific Members of the NRT2 and Plasma Membrane H⁺-ATPase Gene Families.” *Functional Plant Biology* 41(4):353–65.

Proseus, Timothy E., and John S. Boyer. "Calcium pectate chemistry controls growth rate of *Chara corallina*." *Journal of experimental botany* 57.15. 3989-4002. 2006.

Raseira, M. C. B., R. C. Franzon, J. F. M. Pereira, and C. Scaranari. 2015. “The first peach cultivars protected in brazil.” *Acta Horticulturae* (1084):39–43. Retrieved January 9, 2019 (https://www.actahort.org/books/1084/1084_3.htm).

Raseira, M. C. B., F. Herter, and C. A. S. Posser. 2003. “The Embrapa/ Clima Temperado Peach Breeding Program and Adaptation to Subtropical Regions.” *Acta Horticulturae* (606):45–50. Retrieved July 27, 2017 (http://www.actahort.org/books/606/606_7.htm).

Rivera, René, Pilar Bañados, and M. Ayala. 2016. “Distribution of 15N Applied to the Soil in the ‘Bing’/‘Gisela®6’ Sweet Cherry (*Prunus Avium* L.) Combination.” *Scientia Horticulturae* 210:242–49.

Rocuzzo, Giancarlo et al. 2017. “Seasonal Dynamics of Root Uptake and Spring Remobilisation of Nitrogen in Field Grown Orange Trees.” *Scientia Horticulturae* 226:223–30. Retrieved January 22, 2019 (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423817304892#bib0105>).

Scariotto, S., I. Citadin, MCB Raseira, and MR Sachet. 2013. “Adaptability and Stability of 34 Peach Genotypes for Leafing under Brazilian Subtropical Conditions.” *Scientia* 155:111–17. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423813001337>).

Segonzac, C. et al. 2007. “Nitrate Efflux at the Root Plasma Membrane: Identification of an Arabidopsis Excretion Transporter.” *The Plant Cell Online* 19(11):3760–77. Retrieved (<http://www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.106.048173>).

Sorgonà, Agostino, Maria Rosa Abenavoli, and Giovanni Cacco. 2005. “A Comparative Study between Two Citrus Rootstocks: Effect of Nitrate on the Root Morpho-Topology and Net Nitrate Uptake.” *Plant and Soil* 270(1):257–67.

Souza, A. G. et al. 2014. “Behavior of Peach and Mume Rootstocks to the Nematode *Meloidogyne Enterolobii*.” *Amazonian Journal of Agricultural and Environmental*

- Sciences* 57(2):108–13. Retrieved July 27, 2017 (<https://periodicos.ufra.edu.br/index.php/ajaes/article/view/1479>).
- Tedesco, MJ, C. Gianello, CA Bissani, and H. Bohnen. 1995. *Análises de Solo, Plantas e Outros Materiais*. UFRGS. Porto Alegre. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=AGB.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=107906>).
- Thurrow, Liane Bahr, Maria Do Carmo Bassols Raseira, Sandro Bonow, Luis Willian Pacheco Arge, And Caroline Marques Castro. 2017. “Population Genetic Analysis Of Brazilian Peach Breeding Germplasm.” *Revista Brasileira de Fruticultura* 39(5). Retrieved January 16, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452017000500802&lng=en&tlng=en).
- Tomasi, N., R. Monte, Z. Varanini, S. Cesco, and Roberto Pinton. 2015. “Induction of Nitrate Uptake in Sauvignon Blanc and Chardonnay Grapevines Depends on the Scion and Is Affected by the Rootstock.” *Australian Journal of Grape and Wine Research* 21(2):331–38.
- Topp, CN, AL Bray, NA Ellis, and Z. Liu. 2016. “How Can We Harness Quantitative Genetic Variation in Crop Root Systems for Agricultural Improvement?” *Journal of Integrative Plant* 58(3):213–25. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jipb.12470/full>).
- Warschefsky, EJ, LL Klein, MH Frank, and DH Chitwood. 2016. “Rootstocks: Diversity, Domestication, and Impacts on Shoot Phenotypes.” *Trends in Plant* 21(5):418–37. Retrieved July 26, 2017 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138515002885>).
- White, P. J. et al. 2013. “Matching Roots to Their Environment.” *Annals Of* 112(2):207–22. Retrieved July 27, 2017 (<https://academic.oup.com/aob/article-abstract/112/2/207/163460>).
- Yang, Tianyi et al. 2007. “Nitrate Uptake Kinetics of Grapevine under Root Restriction.” *Scientia Horticulturae* 111(4):358–64.
- Zamboni, Maurizio et al. 2016. “Vegetative, Physiological and Nutritional Behavior of New Grapevine Rootstocks in Response to Different Nitrogen Supply.” *Scientia Horticulturae*

202:99–106.

Zhang, CH, BB Zhang, ML Yu, and RJ Ma. 2016. “Isolation, Cloning, and Expression of Five Genes Related to Nitrogen Metabolism in Peach (*Prunus Persica* L. Batsch).” *The Journal Of* 91(4):448–55. Retrieved July 26, 2017 (<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14620316.2016.1167325>).

Zhou, Y., L. Bai, and CP Song. 2015. “Ammonium Homeostasis and Signaling in Plant Cells.” *Science Bulletin* 60(8):741–47. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11434-015-0759-2>).

Zufferey, V., F. Murisier, and S. Belcher. 2015. “Nitrogen and Carbohydrate Reserves in the Grapevine (*Vitis Vinifera* L.’Chasselas’): The Influence of the Leaf to Fruit Ratio.” *VITIS-Journal of Grapevine Research* 54(4):183–88. Retrieved July 27, 2017 (https://www.researchgate.net/profile/Vivian_Zufferey/publication/283449118_Nitrogen_and_carbohydrate_reserves_in_the_grapevine_Vitis_vinifera_L_'Chasselas'_The_influence_of_the_leaf_to_fruit_ratio/links/5638817408ae78d01d39a4d1/Nitrogen-and-carbohydrate-r).

5.2 ESTUDO II

Morphological and kinetic parameters of the uptake of nitrogen forms in clonal peach rootstocks²

Abstract

Peach (*Prunus persica* L.) rootstock cultivars are typically selected for scion compatibility, ease of propagation, vigor, development, flowering season, yield, low need for cold temperatures, resistance to diseases, effects on the physical-chemical characteristics of the fruit, plant longevity and adaptation to adverse edaphoclimatic conditions. However, kinetic parameters related to nutrient uptake efficiency are usually not considered, such as those of nitrate (NO_3^-) and ammonium (NH_4^+). N is the nutrient that most impacts growth and yield. The objective of this study was to show the importance of the kinetic parameters of NO_3^- and NH_4^+ uptake as additional criteria for selecting peach rootstocks. The experiment was conducted in a greenhouse. Three rootstock ('Aldrichi', 'Tsukuba1' and 'Clone 15') were grown for 30 days in a pot containing 0.1 mol L^{-1} CaSO_4 solution to reduce internal reserves of N. Afterwards, the plants were placed in Hoagland nutrient solution, where periodic collections of the nutrient solution were carried out for three days and the concentrations of NO_3^- and NH_4^+ were determined. After the third day of collecting the solution, the plants were collected and then separated into leaves, roots and stems. Dry matter and total N content were assessed. The kinetic parameters related to NO_3^- and NH_4^+ uptake (maximum uptake rate - V_{max} , affinity constant - K_m , Minimum concentration - C_{min} , Influx - I) were calculated using Cinética software. The most efficient rootstock for NO_3^- and NH_4^+ uptake was 'Tsukuba1', as it showed the lowest values of C_{min} and K_m and the highest values of V_{max} and I_{max} for NO_3^- and NH_4^+ . NO_3^- uptake in 'Tsukuba1' and 'Aldrichi' showed a two-phase uptake pattern, suggesting the presence of low and high affinity transport systems. On the other hand, NH_4^+ uptake in the three cultivars apparently followed a one-phase uptake pattern, suggesting the presence of a high affinity transport system. The kinetic parameters of NO_3^- and NH_4^+ uptake are additional criteria that can be used in selecting peach rootstocks, as they directly influence shoot and root dry matter production and N accumulation in leaves.

Keywords: Ammonium; nitrate; nutrient uptake efficiency; maximum nitrogen influx; *Prunus persica* L.

² Artigo publicado na Revista Scientia Horticulturae. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.05.038

1. Introduction

Peach (*Prunus persica* L.) rootstock cultivars are commonly selected for scion compatibility, ease of propagation, vigor, development, flowering season, yield, low cold requirement, resistance to diseases, effects on the physicochemical characteristics of the fruits, plant longevity and adaptation to adverse climatic conditions (Martins et al. 2014; Luciano Picolotto et al. 2012; Warschefsky et al. 2016). However, kinetic parameters related to nutrient uptake efficiency are not typically considered, such as nitrogen (N) forms nitrate (NO_3^-) and ammonium (NH_4^+), as N is the nutrient that most affects growth, yield and fruit composition (Karavin et al. 2016; Zhang et al. 2016).

The kinetic parameters of nutrient uptake are represented by the maximum uptake rate (V_{\max}), Michaelis-Menten constant (K_m), minimum concentration (C_{\min}) and influx (I) (Martinez et al. 2015; Yang et al. 2007). They allow the prediction of higher or lesser ion uptake efficiency by the plant roots (of NO_3^- and NH_4^+ , for instance) at a given concentration in the medium. V_{\max} refers to the amount of nutrient taken up when all the transporter sites present in the membranes of the root cells are saturated. K_m indicates the concentration of nutrient/ion in solution in which half of the maximum uptake rate is reached, and the lower its value, the higher the affinity of the ion with the uptake sites. Minimum concentration (C_{\min}) corresponds at which the roots can extract a nutrient from the solution, which is given by the amount of nutrient absorbed per unit mass of roots per unit of time. Thus, the ideal peach rootstock cultivar is one with lower values of C_{\min} and K_m , and higher values of V_{\max} and I (Martinez et al. 2015). Kinetic parameters can aid in breeding and evaluating rootstocks to identify the most suitable edaphoclimatic conditions for species and cultivars. Rootstock cultivars more efficient in nutrient uptake could be grown in soils with low fertility, while rootstock cultivars less efficient in nutrient uptake, but with other characteristics important to the market, could be used soils with high fertility, thus optimizing the financial resources and efficiency of the scion/rootstock combination in the environment (Raseira et al. 2003; Scariotto et al. 2013).

Studies on kinetic parameters related to nutrient uptake in plants typically use the methodology proposed by Claassen and Barber (1974). The plant is acclimatized in Hoagland nutrient solution (Jones Junior 1983) for a certain period, and the plants are then placed in a container with distilled water for 24 hours to reduce internal nutrient reserves. Afterwards, the plant is expected to be able to use all its uptake capacity to absorb the nutrient from the solution adjusted for the depletion period. Aliquot parts of the nutrient solution containing the plant are collected periodically over time and then prepared for nutrient analysis. However, this

methodology (Claassen and S. Barber 1974) was proposed for corn crop, using small plants with lower root volume and rapid growth. This justifies the 24 hours suggested for the plant to reach its period of ideal nutritional depletion, which represents the period of decreased nutrient reserves inside the plant, but without symptoms of deficiency. However, in fruit trees such as the peach tree, the accumulation of N in the reserve organs (e.g., roots and stems) is expected to be greater than in annual crops, even in early stages (Brunetto et al. 2016; Jordan 2015; Jordan et al. 2014). Thus, it is very likely that the period of nitrogen depletion in the plant is longer, and as a result the methodology proposed by Claassen and Barber (1974) may require adjustments.

‘Aldrighi’ was selected in 1940 because of its adaptability and fruit quality for industrialization. On the other hand, ‘Clone 15’ is resistant to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*, ease of cloning ability by herbaceous cuttings, graft compatibility with peach cv. Aurora-1 and increased fruit size (Mayer, Pereira, and Koba 2006). ‘Tsukuba1’ is tolerant to excess water in the soil and resistant to some nematode species (Picolotto et al. 2009; Souza et al. 2014). However, the kinetic parameters related to the uptake efficiency of N forms are not yet known in these peach cultivars and other commonly grown rootstocks. Therefore, the study aimed to show the importance of kinetic parameters of NO_3^- and NH_4^+ uptake as additional criteria in selecting young peach rootstocks.

2. Material and methods

2.1 Rootstocks

Herbaceous branches of peach ‘Aldrighi’, ‘Tsukuba1’ and ‘Clone 15’ were collected in November 2012 from six-year-old adult parent plants for the preparation of the cuttings. The adult plants belonged to the *Prunus* rootstock collection of Embrapa Clima Temperado, located in the city of Pelotas, state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. The branches were 12 cm long and had three to five upper buds with whole leaves. The base of the branches was immersed for 5 minutes in a hydroalcoholic solution of indolebutyric acid at $3,000 \text{ mg L}^{-1}$. The branches were immediately placed in pots containing vermiculite. The branches remained 60 days in an intermittent mist chamber with an average temperature of 25°C and 70% average humidity. The branches with roots were transplanted into perforated plastic bags (30 x 18 cm) containing commercial substrate (30% husk; 70% peat). The clonal rootstocks were cultivated for 18 months, conducted on a single stem and were not grafted.

‘Aldrighi’, ‘Clone 15’ and ‘Tsukuba1’ clonal rootstocks (aged 18 months) were removed from the substrate contained in the bags. Each plant was conditioned in an 8L pot

containing half-strength Hoagland nutrient solution (Jones Junior 1983). The full-strength Hoagland nutrient solution consisted of (in mg L⁻¹) N-NO₃⁻ = 196, N-NH₄⁺ = 14, P = 31, K = 234, Ca = 160, Mg = 48.6, S = 70, Fe-EDTA = 5, Cu = 0.02, Zn = 0.15, Mn = 0.5, B = 0.5 and Mo = 0.01. A styrofoam sheet was placed on the surface of each pot with a hole in the middle to allow the plant to pass through. The styrofoam sheet allowed the fastening of the plant and the reducing of the evaporation of the solution. The pots containing the nutrient solution and the plants were placed on a metal table, in a greenhouse, with an average temperature of 25°C and an average relative humidity of 60%. The plants remained in the solution for 15 days, and the solution was changed every three days. The aeration of the solution in each pot was performed using PVC tubes connected to an air compressor. The tubes were inserted into the solution through the styrofoam sheet of each pot. After 15 days, the half-strength Hoagland nutrient solution was replaced by the full-strength solution. Plants were grown in pots for 7 days. The pH of each solution was adjusted daily to obtain values of 6.0±0.2, and 1.0 mol L⁻¹ HCl or 1.0 mol L⁻¹ NaOH was added whenever necessary.

2.2 Collection of the solution to determine the kinetics of NO₃⁻ and NH₄⁺ uptake, and chemical analyses

After the acclimation period of 21 days, the kinetic parameters of NO₃⁻ and NH₄⁺ uptake in 'Aldrichi', 'Clone 15' and 'Tsukuba1' were determined by the methodology proposed by Claassen and Barber (1974), adapted to completely drain the internal reserves of N in the plants. The adaptations were obtained in preliminary experimental trials. Thus, rootstock plants were cultivated in 8L pots containing distilled water and 0.1 mol L⁻¹ of CaSO₄ for 30 days. After this period, the solution containing CaSO₄ was removed from each pot. The half-strength Hoagland nutrient solution was added to each pot for 1 h in order for the system to reach the steady state of uptake required for the application of the kinetic model. After 1 h, the half-strength Hoagland nutrient solution was replaced with a new solution containing the same concentration. At this point, 50 mL of solution was collected every 1 hour, up to 24 hours. After 24 hours, 50 mL of solution was collected every 3 hours, up to 48 hours. From 48 to 60 hours, 50 mL of solution was collected every 6 hours. After 60 hours of evaluation, the plants were removed from the pots and separated into leaves, stems and roots.

Root length and stem diameter were evaluated using a digital caliper. Root and shoot fresh mass was evaluated in digital scale. The volume of nutrient solution remaining in each pot was measured using a graduated cylinder. The organs were dried in an oven with forced air at 65°C until constant weight. The organs were then milled, prepared and subjected to sulfuric

acid digestion. Subsequently, the sample was distilled by a semi-micro Kjeldahl steam distillation apparatus (Tedesco et al., 1995).

NO_3^- and NH_4^+ contents in the solution collected over time were analyzed according to methodology proposed by Tedesco et al. (1995). Therefore, 20 mL of the collected sample was added into digestion tubes with 0.7 g of MgO and distilled by a Kjeldahl steam distillation unit. After distillation, the extract (± 35 mL) was collected in 5 mL of boric acid and immediately titrated using $0.0025 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, which allowed us to determine NH_4^+ concentration. In the sample with cooled distilled MgO, 0.7 g of Devarda's alloy was added and it was then subjected to distillation again. After distillation, the extract (± 35 mL) was collected in 5 mL of boric acid and immediately titrated using $0.0025 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, which allowed us to determine NO_3^- concentration.

2.3 Calculations and statistical analysis

Based on the NO_3^- and NH_4^+ concentrations in the solution, on the initial and final solution volumes in the pots, and on the fresh matter of the roots, I_{max} and K_m were calculated using Cinética 2.0 software (Ruiz, 1985). For the C_{min} value, the concentration of NO_3^- and NH_4^+ in the depletion solution at 60 hours was considered. The influx (I) was calculated according to equation 1, proposed by Michaelis-Menten and modified by Nielsen & Barber (1978).

$$I = [V_{\text{max}} \times (C - C_{\text{min}})] / [K_m + (C - C_{\text{min}})] \quad \text{Equation 1}$$

Where: V_{max} refers to the maximum uptake rate of the membrane transporters; C refers to the concentration present in the solution at a given moment; C_{min} refers to the minimum concentration at 60 hours and K_m refers to the affinity coefficient. The experimental design was completely randomized with five replicates per treatment. Each replicate consisted of one plant.

The results obtained were submitted to analysis of variance and when significant the means of C_{min} , K_m and I in each rootstock cultivar were compared by the Tukey test at 5% of error probability.

3. Results and Discussion

3.1 Morphological parameters

'Tsukuba1' rootstock had the highest dry matter production of roots and shoots, and the highest concentration and accumulation of N in leaves and roots (Table 1). This may have happened because the organs served as sinks for nutrients (such as N), because they had intense division and cellular elongation, which is reflected in increased dry matter (Lee et al. 2015;

Zufferey, Murisier, and Belcher 2015). ‘Aldrichi’ rootstock presented the highest concentration of N in stems and roots, and together with ‘Tsukuba1’ presented increased root length and N accumulation in stems. ‘Clone 15’ rootstock exhibited larger stem diameter in comparison to the other rootstocks.

The results of the morphological parameters suggest that ‘Tsukuba1’ and ‘Aldrichi’ rootstocks are the ones with the highest number of characteristics favorable to nutrient uptake. This possibly happened because some cultivars may develop different mechanisms such as the emission of roots and modifications in root architecture to increase access to resources (nutrients and water), and tolerance to abiotic stress (George et al. 2014; Sorgonà, Abenavoli, and Cacco 2005; Topp et al. 2016; White et al. 2013). Species or cultivars with higher dry matter yield and increased root length may explore a larger volume of soil, which facilitates the approximation of nutrients or their forms (such as NO_3^- and NH_4^+) to the roots (Craine et al. 2015). In addition, the root is a carbohydrate reserve organ, which can be used to withstand stress conditions or be redistributed along with nutrients (e.g., N) to growing organs (Centinari et al. 2016; Hoekstra et al. 2015; Klodd et al. 2016).

3.2 Kinetic parameters of NO_3^- and NH_4^+ uptake

The importance of ‘Tsukuba1’ in regards to the morphological parameters can be justified by the fact that it presented the highest V_{\max} and the lowest K_m (Table 2). The results of V_{\max} suggest that the plants of ‘Tsukuba1’ have a higher concentration of NO_3^- uptake sites per root unit compared to the other rootstock cultivars (Batista et al. 2016; Cerezo et al. 2007; Tomasi et al. 2015; Yang et al. 2007). On the other hand, the lower values of K_m show that its uptake sites have higher affinity for NO_3^- , and are therefore more efficient in absorbing it in the solution (Cerezo et al. 2007; Yang et al. 2007). In addition, ‘Tsukuba1’ and ‘Aldrichi’ rootstocks showed the lowest values of C_{\min} . This indicates that these rootstocks can be grown in solution or soil with lower nutrient availability, which is desired to reduce the amount of nitrogen fertilizer needed, thereby saving the grower input costs and reducing the risk of surface and groundwater contamination (Ahmad et al. 2014; Bednorz et al. 2016; Bindraban et al. 2015).

‘Tsukuba1’ and ‘Aldrichi’ absorbed NO_3^- in a more linear fashion at low concentrations of NO_3^- in solution ($<6 \mu\text{mol L}^{-1}$) (figure 1a), because these two cultivars had the lowest values of K_m (Table 2). The two cultivars possibly possess two distinct NO_3^- uptake mechanisms (Figure 1a), indicating the possible performance of a high affinity transport system (HATS) and a low affinity transport system (LATS) (Pii et al. 2014; Zamboni et al. 2016). The operation of

these systems is dependent on the concentration of the ion in the solution (Dechorgnat et al. 2011). This result suggests that a cultivar that requires more N, due to its greater growth capacity, is more frequently deficient and therefore needs to develop a more efficient mechanism to supply its nutrient demand (Batista et al. 2016; Cerezo et al. 2007). The molecular basis of these systems has been identified, mainly in *Arabidopsis*, demonstrating the participation of transporters belonging to the NRT1 and NRT2 transporter families, respectively, for LATS and HATS, with the exception of NRT1.1, which is a dual affinity transporter. In addition, the NAXT1 protein, which also belongs to the large NRT1 family, has been identified and characterized as being involved in the efflux of NO_3^- to the outer cell membrane (Dechorgnat et al. 2011). Such mechanisms were also mentioned by Tomásí et al. (2015), who reported that two transport systems (low and high affinity) for NO_3^- were found in grapevine rootstocks, which are induced by exposure of the roots to NO_3^- after a period of N deprivation.

As there is a great predominance of N in the soil solution in the form of NO_3^- , the fact that ‘Clone 15’ rootstock exhibited the lowest value of V_{\max} and the highest values of K_m and C_{\min} explains why this rootstock did not stand out in regards to the morphological parameters.

‘Tsukuba1’ also excelled in absorbing NH_4^+ , presenting the lowest values of K_m and C_{\min} (Table 2). These results show that ‘Tsukuba1’ also has a great affinity for NH_4^+ compared to the other two cultivars, which is desired. Thus, ‘Tsukuba1’ will be efficient in absorbing NH_4^+ from a solution or soil that has low concentration of this N form. The highest value of I for ‘Tsukuba1’ can be explained because of the lowest value of K_m (Table 2). ‘Tsukuba1’ showed the highest I of NH_4^+ (Figure 1b), whereas the lowest was found in ‘Clone 15’, suggesting that it has a slower growth rate in comparison to ‘Tsukuba1’. The highest influx contributed to the outstanding values of shoot and root dry matter of ‘Tsukuba1’, while Clone 15 exhibited the lowest values of the same variables. Considering that NH_4^+ is an N form whose supply mechanism is through mass flow (where the water moves towards the roots and carries nutrients dissolved therein) and it is absorbed and assimilated with less energy expenditure (Zhou et al. 2015), the higher the dry matter production of shoots and roots, the greater may be its need to increase the influx of nutrients (Craine et al. 2015; Topp et al. 2016). In addition, it should be noted that the highest dry matter production of the shoots may have increased the transpiration of the plants, generating a higher water gradient between the solution and the plant, which stimulates the approach of N forms to the roots and therefore its absorption and transport, justifying a higher percentage and accumulation of N in plant organs (Table 1) (El-Jendoubi et al. 2013; Jordan et al. 2014; Rivera et al. 2016).

Unlike NO_3^- uptake, the NH_4^+ uptake pattern over time (Figure 1b) was similar among the rootstock cultivars, suggesting the same N uptake mechanism. These results possibly suggest the presence of a high affinity transport system, allowing the rootstock to absorb NH_4^+ at very low concentrations (Couturier et al. 2007; Li et al. 2012). Molecular studies have identified the participation of a family of genes that encodes proteins for the transport of NH_4^+ (AMT - ammonia transporters) and operates on the plasma membrane of plants. Members of this AMT1 family are responsible for the high affinity transport system (HATS) and AMT2 for the low affinity transport system (LATS) (Loqué and Wirén 2004)

4. Conclusions

The kinetic parameters of NO_3^- and NH_4^+ uptake are additional criteria that can be used to select peach rootstocks, as they directly influence shoot and root dry matter production and N accumulation in leaves.

The most efficient rootstock for NO_3^- and NH_4^+ uptake was ‘Tsukuba1’, because it exhibited the lowest values of C_{\min} and K_m , and the highest values of V_{\max} and I_{\max} for NO_3^- and NH_4^+ .

NO_3^- uptake in ‘Tsukuba1’ and ‘Aldrichi’ showed a two-phase uptake pattern, which suggests the presence of low and high affinity uptake transport systems. On the other hand, NH_4^+ uptake in the three cultivars apparently followed a one-phase uptake pattern, suggesting the presence of a high affinity uptake transport system.

5. References

- Ahmad, W. et al. 2014. “Role of Nitrogen Fertilizer in Crop Productivity and Environmental Pollution.” 4(3):201–6.
- Andrade, Bianca O., Camila L. Bonilha, Pedro Maria A. Ferreira, Ilsi I. Boldrini, and Gerhard E. Overbeck. 2016. “Highland Grasslands at the Southern Tip of the Atlantic Forest Biome: Management Options and Conservation Challenges.” *Oecologia Australis* 20(02):175–99. Retrieved (<https://revistas.ufrj.br/index.php/oa/article/view/8358>).
- Baldi, Elena, Graziella Marcolini, Maurizio Quartieri, Giovambattista Sorrenti, and Moreno Toselli. 2014. “Effect of Organic Fertilization on Nutrient Concentration and Accumulation in Nectarine (*Prunus Persica* Var. *Nucipersica*) Trees: The Effect of Rate of Application.” *Scientia Horticulturae* 179 (3):174–79. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.029>).
- Basche, Andrea D. et al. 2016. “Simulating Long-Term Impacts of Cover Crops and Climate

- Change on Crop Production and Environmental Outcomes in the Midwestern United States.” *Agriculture, Ecosystems and Environment* 218:95–106. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2015.11.011>).
- Batista, RO, AE Furtini Neto, and SFC DECCETTI. 2016. “Root Morphology and Nutrient Uptake Kinetics by Australian Cedar Clones.” *Revista* 29(1):153–63. Retrieved July 26, 2017 (http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1983-21252016000100153&script=sci_arttext).
- Bechaieb, Rim, Zohra B. Lakhdar, and Hélène Gérard. 2018. “DFT and TD-DFT Studies of Mg-Substitution in Chlorophyll by Cr(II), Fe(II) and Ni(II).” *Chemistry Africa* 1(1–2):79–86. Retrieved January 21, 2019 (<http://link.springer.com/10.1007/s42250-018-0003-y>).
- Bednorz, D., N. Tauchnitz, O. Christen, H. Rupp, and R. Meissner. 2016. “The Impact of Soil Heterogeneity on Nitrate Dynamic and Losses in Tile-Drained Arable Fields.” *Water, Air & Soil* 227(10):395. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11270-016-3095-5>).
- Bindraban, PS, C. Dimkpa, L. Nagarajan, A. Roy, and R. Rabbinge. 2015. “Revisiting Fertilisers and Fertilisation Strategies for Improved Nutrient Uptake by Plants.” *Biology and Fertility of Soils* 51(8):897–911. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s00374-015-1039-7>).
- Bravo, Katherine et al. 2012. “Effect of Organic Fertilization on Carbon Assimilation and Partitioning in Bearing Nectarine Trees.” *Scientia Horticulturae* 137:100–106. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2012.01.030>).
- Brunetto, G., CA Ceretta, GWB de Melo, and E. Giroto. 2016. “Contribution of Nitrogen from Urea Applied at Different Rates and Times on Grapevine Nutrition.” *Scientia* 207:1–6. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423816302278>).
- Brunetto, Gustavo et al. 2017. “Fruit Yield and Composition in Orange Trees Cv. ‘Lane Late’ in Response to Nitrogen Fertilization in Sandy Typic Hapludalf Soil.” *Ciência Rural* 47(3). Retrieved January 22, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782017000300253&lng=en&tlng=en).
- Brunetto, Gustavo et al. 2018. “Nitrogen Availability in an Apple Orchard with Weed Management.” *Ciência Rural* 48(5). Retrieved January 17, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-

84782018000500251&lng=en&tlng=en).

- Carranca, Corina, Gustavo Brunetto, and Massimo Tagliavini. 2018. "Nitrogen Nutrition of Fruit Trees to Reconcile Productivity and Environmental Concerns." *Plants* 7(1):4. Retrieved January 22, 2019 (<http://www.mdpi.com/2223-7747/7/1/4>).
- Centinari, M., JE Vanden Heuvel, M. Goebel, and M. S. Smith. 2016. "Root-zone Management Practices Impact above and Belowground Growth in Cabernet Franc Grapevines." *Australian Journal Of* 22(1):137–48. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ajgw.12162/full>).
- Cerezo, M., G. Camañes, V. Flors, E. Primo-Millo, and P. García-Agustín. 2007. "Regulation of Nitrate Transport in Citrus Rootstocks Depending of Nitrogen Availability." *Plant Signaling & Behavior* 2(5):337–42. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/psb.2.5.4578>).
- Claassen, N. and S. A. Barber. 1974. "A Method for Characterizing the Relation between Nutrient Concentration and Flux into Roots of Intact Plants." *PLANT PHYSIOLOGY* 54(4):564–68. Retrieved (<http://www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.54.4.564>).
- Claassen, N. and SA Barber. 1974. "A Method for Characterizing the Relation between Nutrient Concentration and Flux into Roots of Intact Plants." *Plant Physiology* 54(4):564–68. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.plantphysiol.org/content/54/4/564.short>).
- Corrêa, Márcio Cleber de Medeiros et al. 2018. "Surface Application of Lime on a Guava Orchard in Production." *Revista Brasileira de Ciência Do Solo* 42(0). Retrieved January 22, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832018000100522&lng=en&tlng=en).
- Couturier, J. et al. 2007. "The Expanded Family of Ammonium Transporters in the Perennial Poplar Plant." *New* 174(1):137–50. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2007.01992.x/full>).
- CQFS-RS/SC. 2016. *Manual de Calagem e Adubação Do RS/SC*. 11th ed. edited by Comissão de Química e Fertilidade. Porto Alegre.
- Craine, J. M. et al. 2015. "Ecological Interpretations of Nitrogen Isotope Ratios of Terrestrial Plants and Soils." *Plant and Soil* 396(1–2):1–26. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11104-015-2542-1>).
- Dechorgnat, J. et al. 2011. "From the Soil to the Seeds: The Long Journey of Nitrate in Plants." *Journal Of* 62(4):1349–59. Retrieved July 27, 2017 (<https://academic.oup.com/jxb/article-abstract/62/4/1349/463855>).

- El-Jendoubi, Hamdi, Javier Abadía, and Anunciación Abadía. 2013. "Assessment of Nutrient Removal in Bearing Peach Trees (*Prunus Persica* L. Batsch) Based on Whole Tree Analysis." *Plant and Soil* 369(1–2):421–37. Retrieved February 2, 2017 (<http://link.springer.com/10.1007/s11104-012-1556-1>).
- Fachinetto, Juliana Maria, Miguel Dall'Agnol, Cleber Henrique Lopes de Souza, Roberto Luis Weiler, and Carine Simioni. 2017. "Genetic Diversity of a *Paspalum Notatum* Flüggé Germplasm Collection." *Revista Brasileira de Zootecnia* 46(9):714–21. Retrieved January 17, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982017000900714&lng=en&tlng=en).
- Forey, Oswaldo, Aurélie Metay, and Jacques Wery. 2016. "Differential Effect of Regulated Deficit Irrigation on Growth and Photosynthesis in Young Peach Trees Intercropped with Grass." *European Journal of Agronomy* 81:106–16. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2016.09.006>).
- George, TS, LK Brown, L. Ramsay, and PJ White. 2014. "Understanding the Genetic Control and Physiological Traits Associated with Rhizosheath Production by Barley (*Hordeum Vulgare*)." *New* 203(1):195–205. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nph.12786/full>).
- Ghimire, Bardan et al. 2017. "A Global Trait-Based Approach to Estimate Leaf Nitrogen Functional Allocation from Observations." *Ecological Applications* 27(5):1421–34. Retrieved January 9, 2019 (<http://doi.wiley.com/10.1002/eap.1542>).
- Hagemann, Nikolas, Claudia I. Kammann, Hans-Peter Schmidt, Andreas Kappler, and Sebastian Behrens. 2017. "Nitrate Capture and Slow Release in Biochar Amended Compost and Soil" edited by J. Paz-Ferreiro. *PLOS ONE* 12(2):e0171214. Retrieved January 22, 2019 (<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0171214>).
- Hernández, Teresa, Carmen Chocano, José-Luis Moreno, and Carlos García. 2016. "Use of Compost as an Alternative to Conventional Inorganic Fertilizers in Intensive Lettuce (*Lactuca Sativa* L.) Crops—Effects on Soil and Plant." *Soil and Tillage Research* 160:14–22. Retrieved January 22, 2019 (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167198716300162>).
- Hoekstra, NJ, M. Suter, JA Finn, S. Husse, and A. Lüscher. 2015. "Do Belowground Vertical Niche Differences between Deep-and Shallow-Rooted Species Enhance Resource Uptake and Drought Resistance in Grassland Mixtures?" *Plant and Soil* 394(1–2):21–34. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11104-014-2352-x>).

- Horn, D., P. R. Ernani, L. Sangoi, C. Schweitzer, and P. C. Cassol. 2006. “Parâmetros cinéticos e morfológicos da absorção de nutrientes em cultivares de milho com variabilidade genética contrastante.” *Revista Brasileira de Ciência Do Solo* 30(1):77–85.
- Jones Junior, JB. 1983. *A Guide for the Hydroponic & Soilless Culture Grower*. Retrieved July 27, 2017 (https://scholar.google.com.br/scholar?q=A+Guide+for+the+hydroponic+%26+soil+less+culture+grower&btnG=&hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5).
- Jordan, M. O., G. Vercambre, L. Gomez, and L. Pages. 2014. “The Early Spring N Uptake of Young Peach Trees (*Prunus Persica*) Is Affected by Past and Current Fertilizations and Levels of C and N Stores.” *Tree Physiology* 34(1):61–72. Retrieved February 2, 2017 (<https://academic.oup.com/treephys/article-lookup/doi/10.1093/treephys/tpt109>).
- Jordan, Marie-Odile. 2015. “C Depletion and Tree Dieback in Young Peach Trees: A Possible Consequence of N Shortage?” *Annals of Forest Science* 72(5):529–37. Retrieved (<http://link.springer.com/10.1007/s13595-015-0466-9>).
- Karavin, N., C. Yildirim, and A. Cansaran. 2016. “Effects of Traffic Based Pollution on Nitrogen Use Proficiency, Carbon Content and Litter c: N Ratio in *Prunus Persica* (L.).” *FEB-FRESENIUS*. Retrieved July 26, 2017 (https://www.researchgate.net/profile/Svetlana_Acic/publication/309317654_Ecological_features_of_vascular_flora_on_ski_trails_on_NP_Kopaonik_mountain_Serbia/links/5820339508aeccc08af639d2/Ecological-features-of-vascular-flora-on-ski-trails-on-NP-Kopaonik-m).
- Klodd, AE, DM Eissenstat, TK Wolf, and M. Centinari. 2016. “Coping with Cover Crop Competition in Mature Grapevines.” *Plant and Soil* 400(1–2):391–402. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11104-015-2748-2>).
- Kunz, Ch, D. J. Sturm, D. Varnholt, F. Walker, and R. Gerhards. 2016. “Allelopathic Effects and Weed Suppressive Ability of Cover Crops.” *Plant, Soil and Environment* 62(2):60–66.
- Lee, JM, NR Hemmingson, EMK Minnee, and C. E. CLARK. 2015. “Management Strategies for Chicory (*Cichorium Intybus*) and Plantain (*Plantago Lanceolata*): Impact on Dry Matter Yield, Nutritive Characteristics and Plant Density.” *Crop and Pasture Science* 66(2):168–83. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.publish.csiro.au/CP/CP14181>).
- Li, H. et al. 2012. “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* 63(17):6173–85. Retrieved February 2, 2017

- (<https://academic.oup.com/jxb/article-lookup/doi/10.1093/jxb/ers271>).
- Lichtemberg, Paulo S. F., Walms M. Zeviani, Themis J. Michailides, and Louise L. May De Mio. 2016. "Comparative in Vivo and in Vitro Study on *Monilia Fructicola* Causing Brown Rot of Stone Fruit in Brazil and California." *Tropical Plant Pathology* 41(2):98–106. Retrieved January 16, 2019 (<http://link.springer.com/10.1007/s40858-016-0074-8>).
- Loqué, D. and N. von Wirén. 2004. "Regulatory Levels for the Transport of Ammonium in Plant Roots." *Journal of Experimental Botany* 55(401):1293–1305. Retrieved July 27, 2017 (<https://academic.oup.com/jxb/article-abstract/55/401/1293/478982>).
- Martinez, Herminia E. P. et al. 2015. "Short-Term Water Stress Affecting NO₃- Absorption by Almond Plants." *Scientia Horticulturae* 197(August 2016):50–56.
- Martins, Antonio Sidnei, Valmor João Bianchi, Ilisandra Zanandrea, Victor Mousinho Spinelli, and José Carlos Fachinello. 2014. "Efeito Da Estratificação de Sementes Na Emergência e Desenvolvimento Inicial de Plântulas de Porta-Enxertos de Pessegueiro Effects of Seeds Stratification on Seedling Emergence and Initial Development of Peach Rootstock." *Recebido Aceito* 42(4):366–75. Retrieved July 26, 2017 (<http://cientifica.org.br/index.php/cientifica/article/viewFile/538/357>).
- Masilionyte, Laura et al. 2017. "Effect of Cover Crops in Smothering Weeds and Volunteer Plants in Alternative Farming Systems." *Crop Protection* 91:74–81. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.09.016>).
- Mayer, NA, FM Pereira, and VY Koba. 2006. "Desenvolvimento Inicial No Campo de Pessegueiros' Aurora-1' enxertados Em Clones de Umezeiro e' Okinawa' propagados Por Estacas Herbáceas." *Revista Brasileira de Fruticultura* 28(2):231–35. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.scielo.br/pdf/%0D/rbf/v28n2/a17v28n2.pdf>).
- Nario, Adriana, Inés Pino, Felipe Zapata, María Paz Albornoz, and Pedro Baherle. 2003. "Nitrogen () Fertiliser Use Efficiency in Peach (*Prunus Persica* L.) Cv. Goldencrest Trees in Chile." *Scientia Horticulturae* 97(3–4):279–87. Retrieved (<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030442380200211X>).
- Nielsen, NE, SA Barber-Agronomy Journal, and undefined 1978. n.d. "Differences Among Genotypes of Corn in the Kinetics of P Uptake 1." *DL.Sciencesocieties.Org*. Retrieved December 30, 2018 (<https://dl.sciencesocieties.org/publications/aj/abstracts/70/5/AJ0700050695>).
- Oliveira, Bruno Salvador et al. 2016. "Nutrition, Productivity and Soil Chemical Properties in an Apple Orchard under Weed Management." *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 104(2):247–58.

- Pérez-Gonzalez, S. 2001. "IMPORTANCE OF BRAZILIAN PEACH GERMPLASM FOR THE MEXICAN SUBTROPICS." *Acta Horticulturae* 565(565):75–78. Retrieved (https://www.actahort.org/books/565/565_11.htm).
- Pescie, Maria A., Marcela P. Borda, Daniela P. Ortiz, Maria R. Landriscini, and Raul S. Lavado. 2018. "Absorption, Distribution and Accumulation of Nitrogen Applied at Different Phenological Stages in Southern Highbush Blueberry (*Vaccinium Corymbosum* Interspecific Hybrid)." *Scientia Horticulturae* 230:11–17. Retrieved January 22, 2019 (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423817306775>).
- Picolotto, L. et al. 2009. "Características Vegetativas, Fenológicas e Produtivas Do Pessegueiro Cultivar Chimarrita Enxertado Em Diferentes Porta-Enxertos." *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44(6):583–89. Retrieved July 27, 2017 (<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/2072/5731>).
- Picolotto, L., J. Dutra Schmitz, and M. Da Silveira Pasa. 2012. "Desenvolvimento Vegetativo e Produtivo Da Cultivar 'Maciel' em Diferentes Porta-Enxertos." *Ciência Rural*. Retrieved July 26, 2017 (<http://www.scielo.br/pdf/cr/2012nahead/a16212cr5830.pdf>).
- Picolotto, Luciano, Juliano Dutra Schmitz, Mateus da Silveira Pasa, Valmor Carlos Bianchi, and José Carlos Fachinello. 2012. "Desenvolvimento Vegetativo e Produtivo Da Cultivar ' Maciel ' Em Diferentes." *Ciência Rural* 42:1–6.
- Pii, Youry, Massimiliano Alessandrini, Katia Guardini, Anita Zamboni, and Zeno Varanini. 2014. "Induction of High-Affinity NO₃- Uptake in Grapevine Roots Is an Active Process Correlated to the Expression of Specific Members of the NRT2 and Plasma Membrane H⁺-ATPase Gene Families." *Functional Plant Biology* 41(4):353–65.
- Raseira, M. C. B., R. C. Franzon, J. F. M. Pereira, and C. Scaranari. 2015. "THE FIRST PEACH CULTIVARS PROTECTED IN BRAZIL." *Acta Horticulturae* (1084):39–43. Retrieved January 9, 2019 (https://www.actahort.org/books/1084/1084_3.htm).
- Raseira, M. C. B., F. Herter, and C. A. S. Posser. 2003. "The Embrapa/ Clima Temperado Peach Breeding Program and Adaptation to Subtropical Regions." *Acta Horticulturae* (606):45–50. Retrieved July 27, 2017 (http://www.actahort.org/books/606/606_7.htm).
- Rivera, René, Pilar Bañados, and M. Ayala. 2016. "Distribution of ¹⁵N Applied to the Soil in the 'Bing'/'Gisela®6' Sweet Cherry (*Prunus Avium* L.) Combination." *Scientia Horticulturae* 210:242–49.
- Roccuzzo, Giancarlo et al. 2017. "Seasonal Dynamics of Root Uptake and Spring Remobilisation of Nitrogen in Field Grown Orange Trees." *Scientia Horticulturae*

- 226:223–30. Retrieved January 22, 2019
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423817304892#bib0105>).
- Ruiz, H. A. 1985. “Cinética: Software Para Estimar as Constantes Vmax, Km Da Equação de Michaelis-Menten.” *Revista Ceres* 32(179):79–84.
- Scariotto, S., I. Citadin, MCB Raseira, and MR Sachet. 2013. “Adaptability and Stability of 34 Peach Genotypes for Leafing under Brazilian Subtropical Conditions.” *Scientia* 155:111–17. Retrieved July 27, 2017
(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423813001337>).
- Segonzac, C. et al. 2007. “Nitrate Efflux at the Root Plasma Membrane: Identification of an Arabidopsis Excretion Transporter.” *THE PLANT CELL ONLINE* 19(11):3760–77. Retrieved (<http://www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.106.048173>).
- Sorgonà, Agostino, Maria Rosa Abenavoli, and Giovanni Cacco. 2005. “A Comparative Study between Two Citrus Rootstocks: Effect of Nitrate on the Root Morpho-Topology and Net Nitrate Uptake.” *Plant and Soil* 270(1):257–67.
- Souza, A. G. et al. 2014. “Behavior of Peach and Mume Rootstocks to the Nematode *Meloidogyne Enterolobii*.” *Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 57(2):108–13. Retrieved July 27, 2017
(<https://periodicos.ufra.edu.br/index.php/ajaes/article/view/1479>).
- Tedesco, MJ, C. Gianello, CA Bissani, and H. Bohnen. 1995. *Análises de Solo, Plantas e Outros Materiais*. UFRGS. Porto Alegre. Retrieved July 27, 2017
(<http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=AGB.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=107906>).
- Thurrow, Liane Bahr, Maria Do Carmo Bassols Raseira, Sandro Bonow, Luis Willian Pacheco Arge, and Caroline Marques Castro. 2017. “Population genetic analysis of brazilian peach breeding germplasm.” *Revista Brasileira de Fruticultura* 39(5). Retrieved January 16, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452017000500802&lng=en&tlng=en).
- Tomasi, N., R. Monte, Z. Varanini, S. Cesco, and Roberto Pinton. 2015. “Induction of Nitrate Uptake in Sauvignon Blanc and Chardonnay Grapevines Depends on the Scion and Is Affected by the Rootstock.” *Australian Journal of Grape and Wine Research* 21(2):331–38.
- Topp, CN, AL Bray, NA Ellis, and Z. Liu. 2016. “How Can We Harness Quantitative Genetic Variation in Crop Root Systems for Agricultural Improvement?” *Journal of Integrative*

Plant 58(3):213–25. Retrieved July 27, 2017

(<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jipb.12470/full>).

Warschefsky, EJ, LL Klein, MH Frank, and DH Chitwood. 2016. “Rootstocks: Diversity, Domestication, and Impacts on Shoot Phenotypes.” *Trends in Plant* 21(5):418–37.

Retrieved July 26, 2017

(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138515002885>).

White, P. J. et al. 2013. “Matching Roots to Their Environment.” *Annals Of* 112(2):207–22.

Retrieved July 27, 2017 (<https://academic.oup.com/aob/article-abstract/112/2/207/163460>).

Yang, Tianyi et al. 2007. “Nitrate Uptake Kinetics of Grapevine under Root Restriction.”

Scientia Horticulturae 111(4):358–64.

Zamboni, Maurizio et al. 2016. “Vegetative, Physiological and Nutritional Behavior of New

Grapevine Rootstocks in Response to Different Nitrogen Supply.” *Scientia Horticulturae* 202:99–106.

Zhang, CH, BB Zhang, ML Yu, and RJ Ma. 2016. “Isolation, Cloning, and Expression of

Five Genes Related to Nitrogen Metabolism in Peach (*Prunus Persica* L. Batsch).” *The Journal Of* 91(4):448–55. Retrieved July 26, 2017

(<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14620316.2016.1167325>).

Zhou, Y., L. Bai, and CP Song. 2015. “Ammonium Homeostasis and Signaling in Plant

Cells.” *Science Bulletin* 60(8):741–47. Retrieved July 27, 2017

(<http://link.springer.com/article/10.1007/s11434-015-0759-2>).

Zufferey, V., F. Murisier, and S. Belcher. 2015. “Nitrogen and Carbohydrate Reserves in the Grapevine (*Vitis Vinifera* L. 'Chasselas'): The Influence of the Leaf to Fruit Ratio.”

VITIS-Journal of Grapevine Research 54(4):183–88. Retrieved July 27, 2017

(https://www.researchgate.net/profile/Vivian_Zufferey/publication/283449118_Nitrogen_and_carbohydrate_reserves_in_the_grapevine_Vitis_vinifera_L_'Chasselas'_The_influence_of_the_leaf_to_fruit_ratio/links/5638817408ae78d01d39a4d1/Nitrogen-and-carbohydrate-r).

Table 1 - The morphological parameters, accumulation and total N content in organs of 'Aldrighi', 'Clone 15' and 'Tsukuba1' peach rootstocks grown in Hoagland nutrient solution after 30 days of reduction of internal nutrient reserves.

Parameters	'Aldrighi'	'Clone 15'	'Tsukuba1'	CV (%)
Root dry matter (g)	1.84b ⁽¹⁾	1.73c	2.24a	4.77
Shoot dry matter (g)	4.57b	4.34b	5.56a	4.75
Root/shoot ratio (g)	0.40ns	0.40	0.40	1.28
Root length (cm)	34.20a	26.30b	34.30a	4.71
Height (cm)	52.30b	54.40a	56.10a	3.48
Stem diameter (cm)	0.70b	0.90a	0.76b	9.13
Total N in leaves (%)	2.24b	2.13b	3.58a	5.75
Total N in stems (%)	1.96a	1.63b	1.58c	10.72
Total N in roots (%)	2.95a	2.80b	2.76b	2.87
N accumulated in leaves (g organ ⁻¹)	0.051b	0.046b	0.099a	5.02
N accumulated in stems (g organ ⁻¹)	0.045a	0.035c	0.043a	8.25
N accumulated in roots (g organ ⁻¹)	0.054b	0.048c	0.061a	4.06

⁽¹⁾ Means followed by the same letter (within a row) do not differ by the Tukey test at 5% probability; Ns = not significant.

Table 2 - Kinetic parameters of NO₃⁻ and NH₄⁺ uptake of 'Aldrighi', 'Clone 15' and 'Tsukuba1' peach rootstocks grown in Hoagland nutrient solution after 30 days of reduction of internal nutrient reserves.

Parameters	'Aldrighi'	'Clone 15'	'Tsukuba1'	CV (%)
-----NO ₃ ⁻ -----				
V _{max} (μmol g ⁻¹ h ⁻¹)	0.73b ⁽¹⁾	0.38c	0.83a	8.27
K _m (μmol L ⁻¹)	12.36b	18.98a	5.53c	5.49
C _{min}	2.85c	6.45a	1.34b	5.25
-----NH ₄ ⁺ -----				
V _{max} (μmol g ⁻¹ h ⁻¹)	0.0104 ^{ns}	0.0090	0.0112	11.01
K _m (μmol L ⁻¹)	0.37b	0.39a	0.34c	3.89
C _{min}	0.34b	0.37a	0.28c	2.83

⁽¹⁾ Means followed by the same letter (within a row) do not differ by the Tukey test at 5% probability; Ns = not significant.

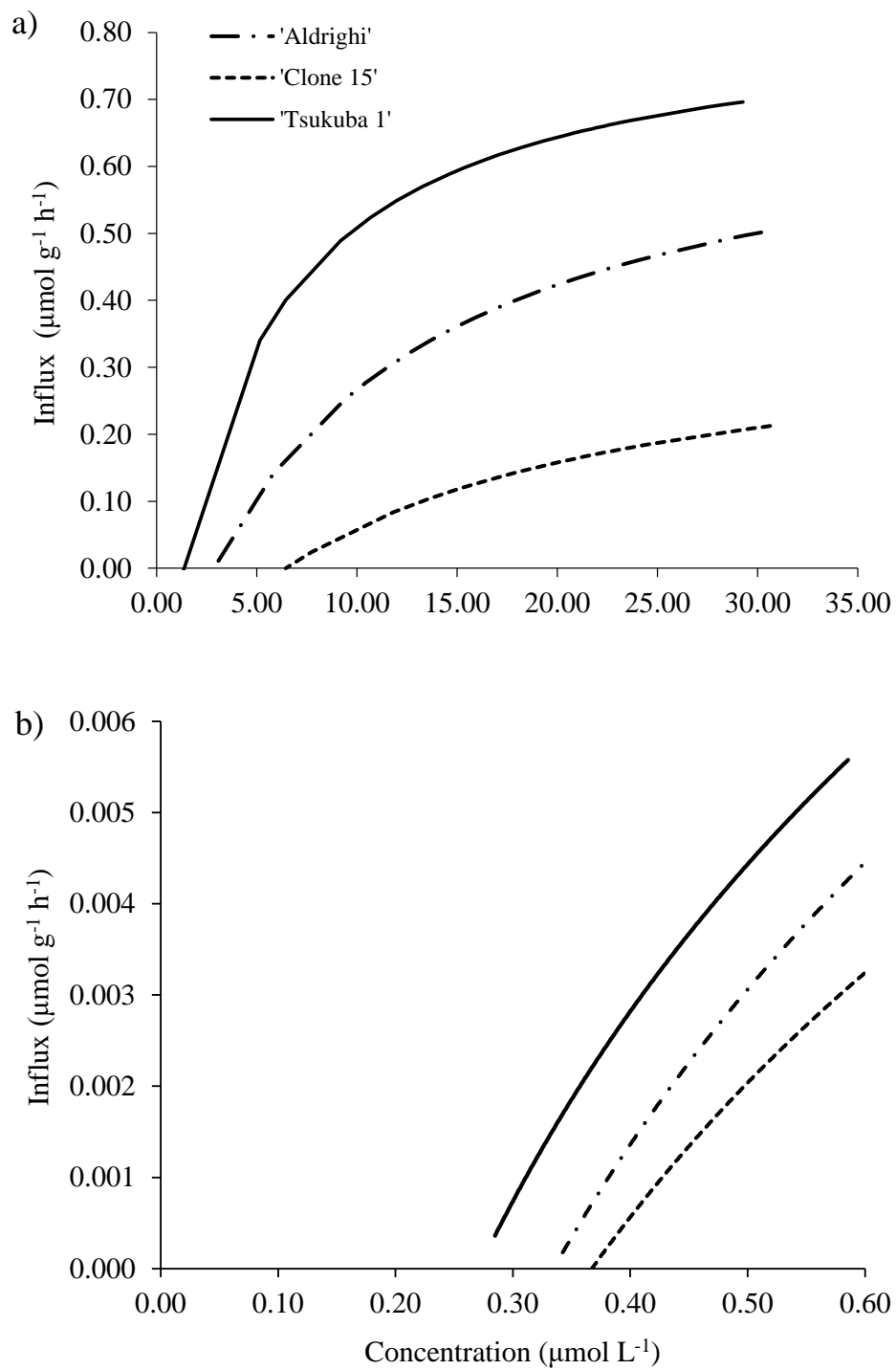


Figure 1 - Influx rates of NO_3^- (a) and NH_4^+ (b) in 'Aldrichi', 'Clone 15' and 'Tsukuba1' peach rootstocks grown in Hoagland nutrient solution after 30 days of reduction of internal nutrient reserves.

5.3 ESTUDO III

Kinetic parameters related to nitrogen uptake in 'Okinawa' peach rootstocks are altered by scion 'Chimarrita'³**ABSTRACT**

Peach rootstocks kinetic parameters (V_{\max} , K_m e C_{\min}) are determinant for nitrogen (N) absorption efficiency, a nutrient that affects peach trees productivity and quality. However, in peach tree crops, rootstocks are grafted with other scion cultivars before being transplanted to field, and it is not sufficiently known in literature the impact of grafting on N kinetic parameters. The objective of this study was to evaluate if grafting Okinawa rootstock (hypobiote) with scion cultivar Chimarrita (epibiote) modifies kinetic parameters related to N absorption. Cultivars were acclimated in Hoagland solution at 50% strength and tested for 15 and 30 days of internal reserves depletion in CaSO_4 solution. Following, cultivars were evaluated during 65 hours of kinetic gait. Morphological parameters (dry mass and N content in plant organs, height and stem diameter) as well as physiological parameters (photosynthesis, transpiration, F_0 , F_m and F_v/F_0) were evaluated. Kinetic parameters (V_{\max} , K_m , C_{\min} e IL) were then calculated. 'Okinawa' rootstock grafted with 'Chimarrita' scion cultivar was more efficient in NO_3^- and NH_4^+ absorption, as it presented the lowest K_m and C_{\min} values for NO_3^- and the highest V_{\max} values for NH_4^+ . Best time N internal reserve depletion time for 'Okinawa' rootstock with and without 'Chimarrita' grafting is 30 days in CaSO_4 solution (0.01 mol L^{-1}) and the minimum kinetic gait evaluation time in order to reach C_{\min} is 62 hours for NO_3^- and 56 hours for NH_4^+ .

Keywords: Ammonium; nitrate; nutrient uptake efficiency; maximum nitrogen influx; *Prunus persica* L.

³ Artigo elaborado de acordo com as normas da Environmental Science & Technology

INTRODUCTION

Peach (*Prunus persica*) breeding programs in world's most traditional peach producing countries select rootstocks and cultivars, based on characteristics of agronomic interest, such as yield, fruit quality, resistance to diseases and adaptation to climatic conditions of each region (Warschefsky et al., 2016). However, kinetic parameters such as maximum absorption rate (V_{max}), Michaelis-Menten constant (K_m), minimum concentration (C_{min}) and nutrient influx rate (I) are commonly not taken into account (Martinez et al., 2015), and also define nutrient absorption efficiency, such as nitrogen (N); which is the nutrient that most interferes in productivity and fruit quality in temperate fruits, such as peach tree (Brunetto et al. 2015; Rajasekar et al. 2017; Khan et al. 2018).

Kinetic parameters allow plants (rootstocks or cultivars) selection more adapted to soils with low natural fertility, as low organic matter levels soils and, consequently, low availability of soil N native forms (Paul 2016; Riggs and Hobbie 2016). Also, plants with higher N availability needs, which can be obtained by nitrogen fertilizer applications with a higher frequency and/or in greater quantities throughout crop cycle, can be selected according to kinetic parameters (Han et al. 2015; Kiba and Krapp 2016). Paula et al. (2018) and collaborators reported for some peach rootstocks, as Tsukuba 1, a higher absorption rate and higher NO_3^- affinity when compared to Aldrighi and Clone 15 rootstocks indicating that different peach rootstocks may have different kinetic parameters, altering soil N absorption efficiency. However, in peach crop, rootstocks are grafted with other scion cultivars in the nursery and then transplanted to field. Thus, it is expected that the rootstock, such as Okinawa, which is a Japanese rootstock widely used worldwide, especially for its resistance to nematodes; define root system morphological and anatomical characteristics that are determinant, among other things, for soil water and nutrients absorption (Ahmed et al. 2017; Souza et al. 2017). On the other hand, the graft (scion) is responsible for scion tree formation and fruiting, intercepting solar rays and fixing atmospheric carbon for transformation from raw sap to elaborated sap (Nawaz et al. 2016; Baron et al. 2019). Thus, it is expected that, with the grafting of scion cultivars, the root system of the rootstock will absorb water and nutrients to respond to the need of the graft. 'Chimarrita' scion originated from the Brazilian peach breeding program of Embrapa (1978) (Raseira et al., 2015), being used especially for peaches production destined to in natura consumption in several countries in the world (Lichtemberg et al. 2016; Pérez-Gonzalez 2001; Thurow et al. 2017).

Considering N, the mechanisms that trigger the signal for nutrients uptake by roots, initiate through biochemical signals coming from plant aerial part (Ghimire et al. 2017). At leaf level, CO₂ absorption capacity is determined by N allocated to processes associated with light absorption, electron transport and carboxylation, being used in these processes as proteins or enzymes to capture light energy in I/II photosystems and to boost electron transport chain and mitochondrial enzymatic reactions that generate ATP for growth maintenance and respiration (Freschet et al. 2015; Araya et al. 2016; Ghimire et al. 2017). Therefore, all these processes generate a demand for N, which is signaled to roots by light signals, which are perceived by the aerial part triggering the signaling molecules and transfer from aerial part to roots (Lee et al. 2016). A good example is *Arabidopsis thaliana*, where HY5 protein, when accumulated, moves from shoot to roots, activating the NO₃⁻ transporter encoding gene in order to increase its uptake, supporting the hypothesis that light signals are transmitted to roots (Chen et al. 2016).

Thus, present study's hypothesis is that kinetic parameters related to N uptake are controlled mainly by aerial part N demand. In this way, grafted plants may have distinct N demands modifying N uptake kinetic parameters of the rootstock, conferring the plants greater efficiency parameters of N absorption when compared to non-grafted plants. Being so, the objective of this study was to evaluate if Okinawa rootstock grafting with 'Chimarrita' cultivar modifies kinetic parameters related to N absorption.

MATERIAL AND METHODS

Experiment installation and treatments

The experiment was conducted in a greenhouse at Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria (RS), Rio Grande do Sul (RS), southern region of Brazil. 'Okinawa' (*Prunus persica*) rootstock (hypobiote) was used with and without 'Chimarrita' (*Prunus persica*) scion (epibiote). Plants were obtained from herbaceous branches of respective cultivars, collected in November, 2012, in six-year-old adult matrices belonging to Prunus rootstock collection, Embrapa Clima Temperado, located in Pelotas, Rio Grande do Sul, southern region of Brazil. Clonal rootstocks were grown on substrate for 18 months, conducted on a single tufted stem, and later half of rootstocks were grafted with 'Chimarrita' cultivar. All plants were removed from substrate after two months. Roots were washed in distilled water and, subsequently, each plant was transplanted to a 5 L pot, containing Hoagland's nutrient solution at 25% strength (Jones Junior, 1983). Complete Hoagland nutritional solution has (mg L⁻¹): N-NO₃⁻ = 196, N-NH₄⁺ = 14, P = 31, K = 234, Ca = 160, Mg = 48.6, S = 70, Fe-EDTA =

5, Cu = 0.02, Zn = 0.15, Mn = 0.5, B = 0.5 and Mo = 0.01. A Styrofoam blade with a central hole to allow plant passage, which was later fixed with foam, was added to the surface of each pot. The styrofoam blade allowed plant fixation and reduced solution evaporation decrease. Pots containing plants and nutrient solution were placed on a metal table in a greenhouse, with 25°C mean temperature and 60% relative air humidity. During acclimation period, plants remained in Hoagland solution at 25% strength for 7 days and 14 days in Hoagland solution at 50% strength. Solution aeration in each pot was performed using PVC microtubes, connected to an air compressor. Every solution pH was daily adjusted to 6.0 ± 0.2 , by adding HCl 1.0 mol L⁻¹ or NaOH 1.0 mol L⁻¹ when needed.

Following acclimation period in nutrient solution, plants were placed in 0.01 mol L⁻¹ CaSO₄ solution, for internal nutrient reserves exhaustion, except Ca and S, which were supplied through CaSO₄. The CaSO₄ solution was added in order to balance membrane electrochemical potential, preserving cell wall integrity (Paula et al., 2018). Plants were separated into two groups, regarding the two reserve depletion periods tested, being each group composed of five plants for each treatment ('Okinawa' rootstock, with and without graft). Plants from the first group were kept in 0.01 mol L⁻¹ CaSO₄ solution for 15 days, while plants from the second group remained in same solution along 30 days. Thus, experiment was conducted in a factorial design, with two levels (cultivar x reserve depletion time) for each factor and 5 replicates per treatment.

Evaluations and analysis

On the last day of each reserve depletion period, chlorophyll a fluorescence was determined on a leaf per treatment, at night, between 02:00 and 05:30 hours, using a modulated pulse amplitude (PAM) fluorometer JUNIOR (10 μm m⁻² s⁻¹) for 0.6 s, and then the sampled leaf was subjected to a pulse of saturating light (10.000 μmol m⁻² s⁻¹) for 0.6 s, obtaining the maximum fluorescence (F_m).

Photosynthesis was determined by measurement of gas exchange with the environment using a portable infrared gas analyzer (IRGA - Infra-red Gas Analyzer) (Li-6400XT LI-COR, Lincoln, NE, USA) with artificial red and blue light source. Evaluations were performed on leaves from plants middle third, completely developed and healthy. Microclimatic conditions were kept constant during readings in the different treatments, being these 1100 μmol m⁻² s⁻¹ PAR (photosynthetic active radiation), ambient CO₂ concentration (average of 383 μmol CO₂ mol⁻¹). The CO₂ assimilation rate (μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), water conductance (mol H₂O m⁻² s⁻¹), intracellular CO₂ concentration (μmol CO₂ mol⁻¹), transpiration rate (mmol H₂O m⁻² s⁻¹) and

leaf temperature ($^{\circ}\text{C}$) were analyzed. These variables were measured during daytime period, between 10h and 12h, in all plants.

After each depletion period, plants were returned to Hoagland nutrient solution containing 50% of original concentration. Plants were kept in this solution for one hour, so that the system reaches steady state of absorption conditions, required for kinetic model application, proposed by Claassen & Barber (1974).

Nutritive solution was once again replaced, containing same nutrient concentrations, from original 50% Hoagland solution, and then aliquot collection started. Ten milliliters of solution were collected from each pot and considered time zero, which is before plants adjustment in pots containing initial solution. Based on results obtained by Paula et al. (2018), which showed that all evaluated peach rootstocks reached C_{\min} in the last hours of kinetic gait, collection intervals were decided to be spaced at gait beginning, narrowing them at gait's end. To do so, solution aliquots were collected every 6 hours in the first 24 hours, every three hours between 24 and 48 hours, and every hour between 48 and 65 hours.

After 65 hours evaluation, plants were removed from pots and separated into leaves, stems and roots. Plants height and stem diameter were determined using an analog universal pachymeter (ZAAS, PAQ6, Brazil), while fresh matter (MF) was determined with a digital scale (Bel Engineering, Precision Scale L, Brazil). Remaining nutrient solution volume was measured in each pot with a graduated cylinder.

Organs were dried in a forced air circulation oven at 65°C until constant mass for dry matter (MS) determination. Dry organs were sieved, prepared and submitted to sulfur digestion (Tedesco et al., 1995). Thus, 0,200 g dry mass from each fraction was added to digestion tube (25×250 mm). In the next step, 1 mL H_2O_2 , 2 mL de H_2SO_4 and 0.7 g digestion mixture was added to the tubes ($90.9\% \text{Na}_2\text{SO}_4 + 9.1\% \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Tubes were heated in a digestion block, gradually raising temperature to 350°C and held at that temperature for 1 hour to ensure complete plant material digestion. After digestion, sample volume in digestion tube was adjusted to 50 mL using distilled water. Ten milliliters from resulting extract were transferred to a 100 mL digestion tube and then 10 mL NaOH 10 mol L^{-1} was added, following by distillation in Kjeldahl steam (Tecnal, TE-0363, Brasil). After distillation, extract was collected in a container containing 5 mL boric acid. The extract was titrated with H_2SO_4 $0,005 \text{ mol L}^{-1}$, allowing further calculation of total N content (Tedesco et al., 1995).

The N-NH_4^+ e N-NO_3^- content present in solution samples collected during kinetic gait was determined by spectrophotometry San++ Automated Wet Chemistry Analyzer (Skalar, Breda, Netherlands).

Kinetic parameters determination

From nutrients concentrations determined in each aliquot collected as a function of time, initial and final solution volumes in pots and fresh root mass, V_{max} and K_m parameters were calculated using Influx software. For C_{min} value, N concentration present in the 65-hour time depletion solution was considered. Liquid inflow (IL) was calculated according to equation 1, proposed by Michaelis-Menten and modified by Nielsen & Barber (1978).

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

Where: I = Nutrient Influx rate, C= Nutrient concentration in each collected period, V_{max} = Absorption maximum speed, K_m = Michaelis-Menten constant, and C_{min} = Minimum concentration.

Statistical analyzes

Results obtained were submitted to normality test followed by analysis of variance in R statistical environment (R Core Team 2018) and, when treatments effect was significant, means V_{max} , C_{min} , K_m and Influx for each cultivar were compared by Tukey test ($p < 0.001$). Differences in $N-NH_4^+$ and $N-NO_3^-$ concentrations in solution over the 65 hours for each cultivar were compared by Scott Knott test ($p < 0.001$). Principal component analysis (PCA) was performed using CANOCO software version 4.5 (Ter Braak and Smilauer, 2002). Variables used were: kinetic parameters (V_{max} , K_m , C_{min} for NO_3^- and NH_4^+), morphological parameters (dry mass and organ N content, height and stem diameter) and physiological parameters (photosynthesis, transpiration, F0, Fm and Fv/F0).

RESULTS AND DISCUSSION

Morphological and nutritional parameters

The 'Okinawa + Chimarrita' showed higher root and leaf dry mass production, as well as higher roots and leaves N concentrations (Table 1) at 15 and 30 days internal nutrient depletion when compared to non-grafted 'Okinawa' rootstock. 'Okinawa' rootstock cultivar with no grafting showed higher stem dry mass production at 15 days nutrient reserves depletion. Height and stem diameter values from plants did not statistically differ between rootstocks with and without graft in the two evaluated times (Table 1). Greater leaf dry mass may also have contributed to the higher transpiration rate observed in 'Okinawa + Chimarrita' rootstock when

compared to the non-grafted rootstock, which stimulates NO_3^- approximation to roots outer surface by mass flow, potentiating absorption (Table 1).

Table 1. Morphological parameters from ‘Okinawa’ and ‘Okinawa’ grafted ‘Chimarrita’ rootstocks grown in Hoagland solution after 15 and 30 days of internal reserves depletion (DRR) in CaSO_4 (0,01 mol L⁻¹).

Morphological parameters	‘Okinawa’		‘Okinawa + Chimarrita’		<i>P</i> (anova)
	15 DRR	30 DRR	15 DRR	30 DRR	
Root dry mass (g)	16.03 bB ⁽¹⁾	23.54 bA	24.11 aA	27.99 aA	0.00
Stem dry mass (g)	42.66 aA	28.77 aA	33.67 bA	35.19 aA	0.00
Leaf dry mass (g)	1.06 bB	4.53 bA	3.28 aB	4.89 aA	0.00
Height (cm)	87.00 aA	82.80 aA	94.90 aA	84.47 aA	0.00
Stem diameter (cm)	1.20 aA	1.11 aA	1.18 aA	1.13 aA	0.00
Leaf N total (%)	2.52 bB	2.73 bA	2.58 aB	2.84 aA	0.00
Stem N Total (%)	1.76 aA	1.79 aA	1.82 aA	1.79 aA	0.00
Root N Total (%)	2.56 bB	2.85 bA	2.80 aB	3.00 aA	0.00

⁽¹⁾ Means followed by lowercase letters represents differences between cultivars at each time point; means followed by uppercase letters represents differences between time points within each cultivar $p = 0.01$ (Tukey test).

Physiological parameters

The 'Okinawa with Chimarrita' rootstock presented the highest photosynthetic rate as well as the highest water transpiration rate when compared to 'Okinawa' with no graft, at 15 and 30 days after internal reserve depletion (Table 2), which may be related to the greater leaf dry mass amount produced by the rootstock grafted with Chimarrita. The 'Okinawa with Chimarrita' rootstock also presented the highest photosystem II quantum yield (FV/FM) when compared to 'Okinawa' rootstock with no graft in the two evaluated internal reserve depletion periods. As a consequence, 'Okinawa with Chimarrita' rootstock presented the lowest energy losses due to minimum fluorescence (at 15 and 30 days) and maximum fluorescence (at 30 days), compared to 'Okinawa' rootstock without graft (Table 2). Results indicate that, when grafted, the rootstock converted more light energy into chemical energy, which is reflected in a higher photosynthetic

rate (Table 2), which is desirable. This is due to the fact that higher photosynthetic rate is usually directly related to higher plant growth and development (Körner, 2015). Also, when N supply is adequate, as well as absorption of its forms and plant N content increase, photosynthesis is stimulated, through several chloroplast proteins, especially Rubisco, to processes associated with photosynthetic complexes formation in thylakoid membranes and CO₂ fixation mechanisms in the stroma (Blank et al 2018, Moriwaki et al., 2019).

Table 2. Physiological parameters from ‘Okinawa’ e ‘Okinawa’ grafted ‘Chimarrita’ rootstocks grown in Hoagland solution after 15 and 30 days internal reserves depletion (DRR) in CaSO₄ (0,01 mol L⁻¹).

Physiological parameters	‘Okinawa’		‘Okinawa + Chimarrita’		<i>P</i> (anova)
	15 DRR	30 DRR	15 DRR	30 DRR	
Photosynthetic rate ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	0,96 bA ⁽¹⁾	1,06 bA	2.42 aA	2.03 aA	0.00
Transpiration rate ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	0.45 bA	0.44 bA	1.50 aA	0.96 aB	0.00
Maximum fluorescence	876 aA	799 aA	794 aA	669 bA	0.00
Minimum Fluorescence	240 aA	203 aA	149 bA	140 bA	0.00
FV/Fm ratio	0.728 bA	0.741 bA	0.819 aA	0.787 aA	0.00

⁽¹⁾ Means followed by lowercase letters represents differences between cultivars at each time point; means followed by uppercase letters represents differences between time points within each cultivar $P = 0.01$ (Tukey test). MSR = Root dry matter, MSPA = Shoot dry matter.

N reserves depletion time

At 30 days nutrient internal reserve depletion it was observed, regarding NO₃⁻, that ‘Okinawa with Chimarrita’ rootstock presented lower K_m e C_{min} values when compared to ‘Okinawa’ with no graft (Figure 1). However, we did not observe N deficiency visual symptomatology in any evaluated cultivars, and therefore, the time of 30 days was defined as the most adequate for N depletion.

The K_m results suggest that grafted rootstock has a higher NO_3^- affinity when compared to the rootstock with no grafting, possibly being more efficient in NO_3^- uptake (Cerezo et al., 2007), especially in more sandy soils. In addition, 'Okinawa with Chimarrita' rootstock presented lowest C_{\min} values, evidencing a desirable characteristic that 'Chimarrita' scion cultivar added to 'Okinawa'. Thus, this rootstock and scion combination can be grown in nutrient solution or in soil with lower NO_3^- availability. This is a promising result for farmers and technicians, as grafted plants, which are normally transplanted to field, have a lower NO_3^- critical level. Therefore, these plants could be grown in soils containing lower organic matter levels, which, hypothetically, have less availability of soil native N forms. (Riggs and Hobbie, 2016). Also, quantities and frequencies of nitrogen fertilizers applications may be lower, leading to lower costs related to nitrogen fertilizers acquisition and potential environmental N forms losses (Bindraban et al., 2015; Bednorz et al., 2016).

'Okinawa with Chimarrita' rootstock also stood out in NH_4^+ uptake, presenting the highest V_{\max} values at 30 days of N reserve depletion (Figure 2). This result indicates that grafted rootstock also has a higher NH_4^+ absorption sites concentration per root unit, when compared to graft-free rootstock (Pii et al., 2014; Tomasi et al., 2015). On the other hand, K_m and C_{\min} values did not statistically differ between rootstocks with and without grafts at 30 days of internal reserve depletion.

Greater NH_4^+ influx possibly contributed to the better 'Okinawa with Chimarrita' rootstock performance in obtaining highest leaves and roots N concentrations, which may be related to the larger leaf area. This allowed more CO_2 photons and molecules absorption from atmosphere, which can be converted into a higher photosynthetic rate (Moriwaki et al., 2019).

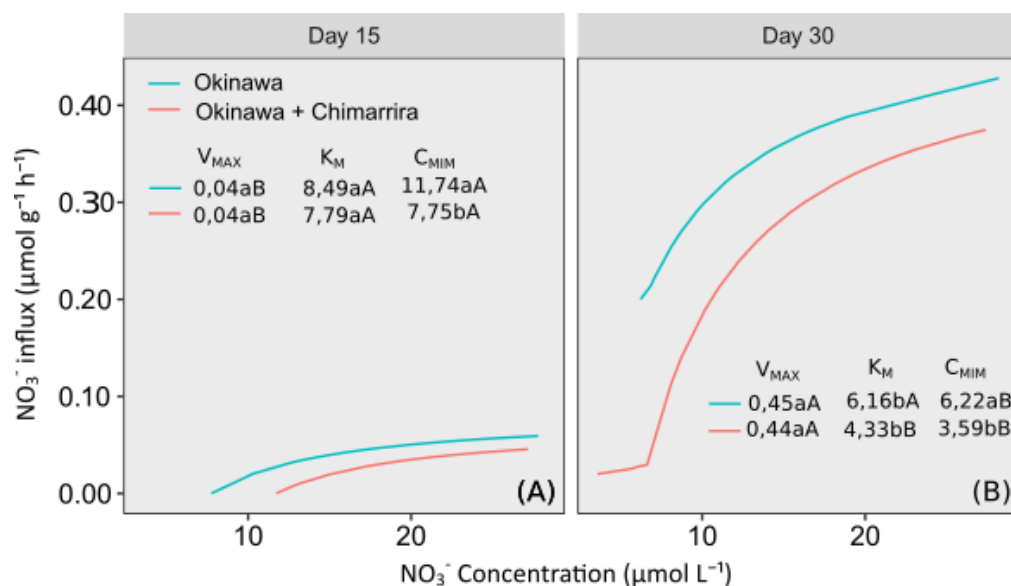


Figure 1. NO_3^- influx rate, C_{\min} , K_m and V_{\max} in non grafted ‘Okinawa’ and ‘Okinawa with Chimarrita’, cultivated in Hoagland solution after 15 and 30 internal reserve depletion days in CaSO_4 (0.01 mol L^{-1}). Means followed by lowercase letters represents differences between cultivars at each time point; means followed by uppercase letters represents differences between time points within each cultivar $p= 0.01$ (Tukey test).

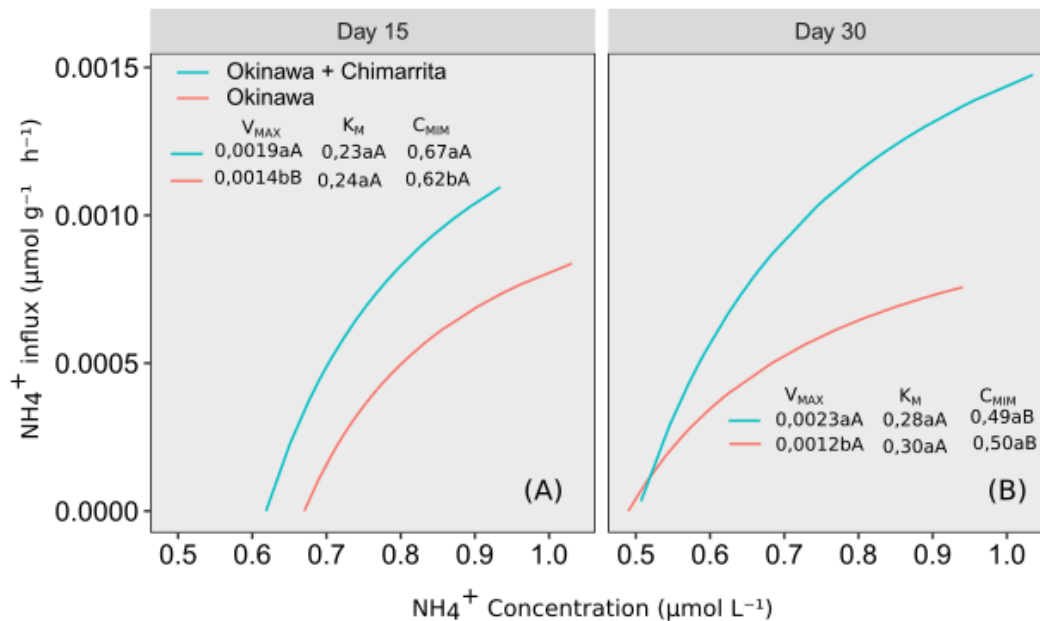


Figure 2. NH_4^+ influx rate, C_{\min} , K_m and V_{\max} in ungrafted ‘Okinawa’ and ‘Okinawa with Chimarrita’, cultivated in Hoagland solution after 15 and 30 internal reserve depletion days in CaSO_4 (0.01 mol L^{-1}). Means followed by lowercase letters represents differences between cultivars at each time point; means followed by uppercase letters represents differences between time points within each cultivar $p= 0.01$ (Tukey test).

Best evaluation time for N absorption kinetic gait

Best time for N internal reserves depletion for Okinawa rootstock with and without scion ‘Chimarrita’ grafting was at 30 days in CaSO_4 , which agrees with previous results from Paula et al. (2018), who also defined the 30-day period as the best time for reservoir depletion to evaluate kinetic parameters related to N uptake in Tsukuba 1, Aldrichi and Clone 15 peach rootstocks; these authors also defined the ideal sampling time to compose N absorption kinetic gait in peach trees.

Results from NO_3^- uptake gait show that NO_3^- absorption is more intense initially (Figure 3), possibly due to low plant N reserves and a high nutrient demand by the peach tree (Fageria, 2016). However, over time, NO_3^- uptake by its transporters decreases until reaching C_{\min} , and it is prudent to say that after 62 hours evaluation, NO_3^- concentrations in solution were already very low, and all cultivars reached the minimum concentrations required to absorb NO_3^- (Figure 3).

In addition, it was observed that the grafted rootstock absorbed NO_3^- in a slower way than the graft-free rootstock, reaching C_{\min} at the end of evaluation period, emphasizing the importance of samples being collected over a longer period of time, that the 24-hour time used for annual species, such as corn (Horn et al., 2006), and with initially larger intervals and closer intervals from 48 hours, so that it can be verified with more precision at which time C_{\min} was reached.

After 65 hours collection, it was observed that NH_4^+ C_{\min} was reached a little earlier than NO_3^- , and it should be noted that in 56 hours after evaluation started, all cultivars had reached their NH_4^+ C_{\min} (Figure 4). Despite of NH_4^+ concentration is lower than that of NO_3^- in Hoagland nutrient solution at 50% strength, contrary to what was observed by Paula et al. (2018), the grafted Okinawa rootstock absorbed NH_4^+ more slowly than rootstocks from previous study, and reached C_{\min} only in 56 hours. However, Okinawa rootstock grafted with 'Chimarrita' C_{\min} was reached in 54 hours, which also shows that each rootstock can vary absorption intensity even for nutrients in low concentration in medium, being this possibly related to degree transporters affinity degree to the ion and, consequently, to a genetic characteristic of each material and/or for absorption of nutrients dependent via mass flow, which is favored by the higher transpiratory rate, which in turn is dependent on the size of the plant dock. (Tomasi et al. 2015; Kiba and Krapp 2016).

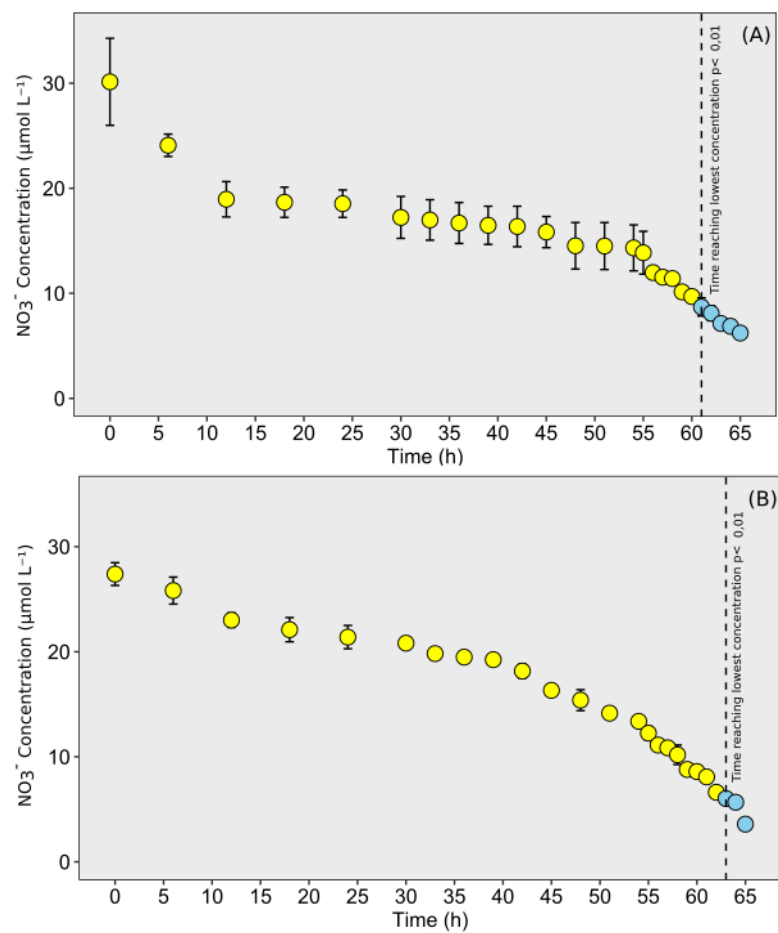


Figure 3. NO_3^- concentration in 'Okinawa'(A) and 'Okinawa with Chimarrita' (B) cultivar, after 30 days internal reserve depletion. NO_3^- concentration means in blue statistically differ from concentration means represented in yellow $p = 0.01$ (Scott Knott test).

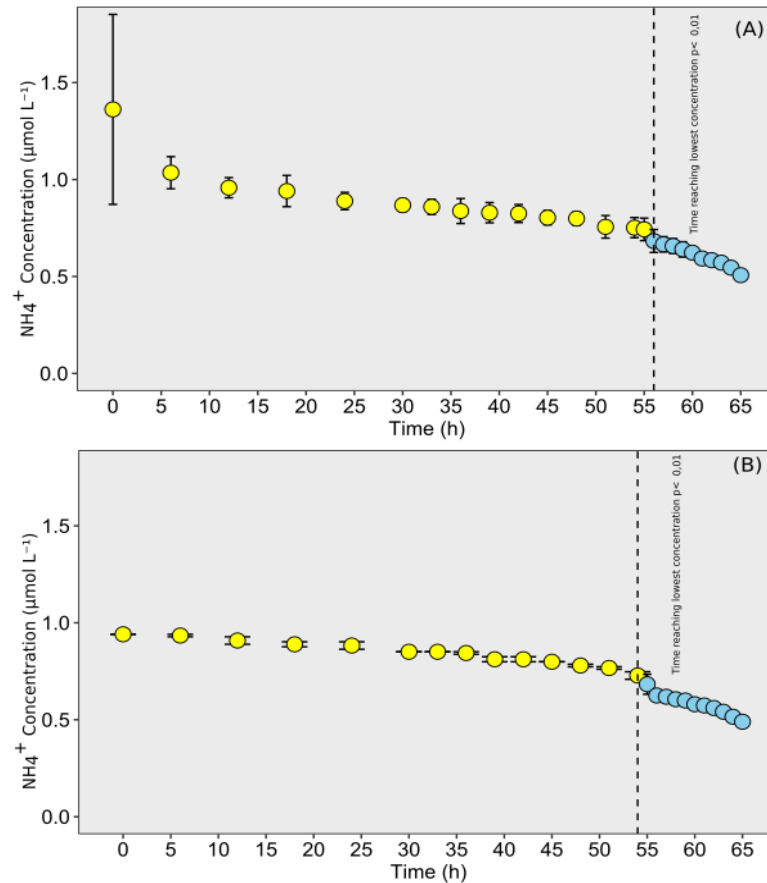


Figure 4. NH_4^+ concentration in ‘Okinawa’(A) and ‘Okinawa with Chimarrita’ (B) cultivar, after 30 days internal reserve depletion. NO_3^- concentration means in blue statistically differ from concentration means represented in yellow $p = 0.01$ (Scott Knott test).

Principal Component Analysis (PCA)

Only the first two components were extracted for main components analysis (ACP) of Okinawa rootstocks with and without Chimarrita grafting, since together they explained 78.95% of the original variability of the results (Figure 5). Of these, the main component 1 (PC1) explained 63.24% and main component 2 (PC2) 15.71% data variability. Factor 1 was predominant in rootstocks separation, clearly grouping them into two groups. The left group, which was composed by Okinawa sample units, was more influenced by NO_3^- and NH_4^+ parameters, $\text{NO}_3^- \text{ F}_0$ and C_{min} , which were positively correlated with each other. Besides, these parameters were negatively correlated to root and leaf dry matter, root and leaf N concentration, $\text{NH}_4^+ \text{ V}_{\text{max}}$ and transpiration rate. The right group was formed by Okinawa/Chimarrita sample units, and was more influenced by leaf N parameters, root N and $\text{NH}_4^+ \text{ V}_{\text{max}}$, besides F_v/F_m , photosynthesis and $\text{NH}_4^+ \text{ C}_{\text{min}}$. Negative correlation between $\text{NO}_3^- \text{ V}_{\text{max}}$ and stem N was also observed, a fact that can be explained by rapid nitrate uptake by roots and its allocation in transport organ that is the stem. Thus, from PCA analysis we were able to explain that the

distinct absorption behavior among rootstocks due to grafting of a productive scion, in this case Chimarrita, correlated with variable responses of greater agronomic interest, such as tissue N concentration and matter dry, for example. In addition to that, as the peach tree absorbed more, which was evidenced by greater sweating and photosynthesis, there was an increase in leaves, roots N concentrations and slightly increased in branches, also influencing in greater dry matter accumulation in these organs, which was inversely correlated to K_m kinetic parameters of both ions and $\text{NO}_3^- C_{\min}$ (Figure 5).

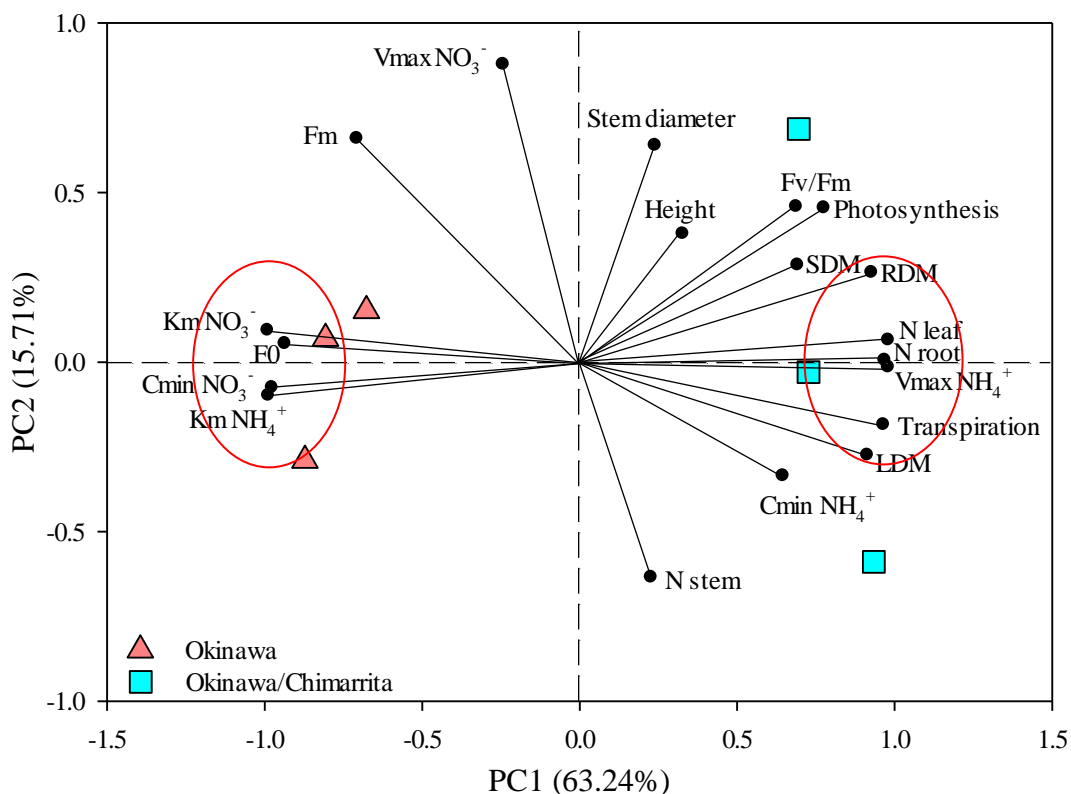


Figure 5. Relationship between principal component 1 (PC1) and principal component 2 (PC2) from kinetic parameters (V_{\max} , K_m , C_{\min}), morphological (dry mass and tissue N content, height and stem diameter) and physiological (photosynthesis, transpiration, F0, Fm and Fv/F0) parameters from Okinawa rootstock with and without Chimarrita graft.

CONCLUSION

The 'Okinawa' rootstock grafted with 'Chimarrita' was more efficient in NO_3^- and NH_4^+ absorption, as it presented the lowest K_m and C_{\min} values for NO_3^- and the highest $\text{NH}_4^+ V_{\max}$ value when compared to 'Okinawa' rootstock without grafting, evidencing that the cultivar can influence kinetic parameters related to N absorption in peach.

The best N internal reserves depletion time for 'Okinawa' rootstock with and without 'Chimarrita' graft was at 30 days in mol L⁻¹CaSO₄ 0,01.

Minimum kinetic gait evaluation time to reach C_{min} for 'Okinawa' rootstock with and without 'Chimarrita' grafting is 62 hours for NO₃⁻ and 56 hours for NH₄⁺.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was partly funded by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (Capes) - Financial Code 001, and also by the National Council of Scientific and Technological Development (CNPq) and the Foundation for Research Support of Rio Grande do Sul (FAPERGS). To CNPq for also granting last author's research productivity grant.

BIBLIOGRAPHY

- Ahmed EAH, El-habashy S, Maklad MF (2017) Trend of vegetative growth and fruiting of some peach cultivars budded on Okinawa and Nemaguard rootstocks Trend of vegetative growth and fruiting of some peach cultivars budded on Okinawa and Nemaguard rootstocks. *Middle East J Agric* 06:1346–1358
- Araya T, von Wirén N, Takahashi H (2016) CLE peptide signaling and nitrogen interactions in plant root development. *Plant Mol Biol* 91:607–615. doi: 10.1007/s11103-016-0472-9
- Baron D, Esteves Amaro AC, Pina A, Ferreira G (2019) An overview of grafting re-establishment in woody fruit species. *Sci Hortic (Amsterdam)* 243:84–91. doi: 10.1016/J.SCIENTA.2018.08.012
- Bednorz D, Tauchnitz N, Christen O, et al (2016) The Impact of Soil Heterogeneity on Nitrate Dynamic and Losses in Tile-Drained Arable Fields. *Water, Air Soil* 227:395
- Bindraban P, Dimkpa C, Nagarajan L, et al (2015) Revisiting fertilisers and fertilisation strategies for improved nutrient uptake by plants. *Biol Fertil soils* 51:897–911
- Blank M, Tittmann S, Ben Ghazlen N, Stoll M (2018) Grapevine rootstocks result in differences in leaf composition (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot Noir) detected through non-invasive fluorescence sensor technology. *Aust J Grape Wine Res* 24:327–334. doi: 10.1111/ajgw.12343
- Brunetto G, Melo GWB De, Toselli M, et al (2015) The role of mineral nutrition on yields and fruit quality in grapevine, pear and apple. *Rev Bras Frutic* 37:1089–1104. doi:

10.1590/0100-2945-103/15

- Cerezo M, Camañes G, Flors V, et al (2007) Regulation of nitrate transport in Citrus rootstocks depending of nitrogen availability. *Plant Signal Behav* 2:337–342
- Chen X, Yao Q, Gao X, et al (2016) Shoot-to-Root Mobile Transcription Factor HY5 Coordinates Plant Carbon and Nitrogen Acquisition. *Curr Biol* 26:640–646. doi: 10.1016/j.cub.2015.12.066
- Freschet GT, Swart EM, Cornelissen JHC (2015) Integrated plant phenotypic responses to contrasting above- and below-ground resources: key roles of specific leaf area and root mass fraction. *New Phytol* 206:1247–1260. doi: 10.1111/nph.13352
- Ghimire B, Riley WJ, Koven CD, et al (2017) A global trait-based approach to estimate leaf nitrogen functional allocation from observations. *Ecol Appl* 27:1421–1434. doi: 10.1002/eap.1542
- Han M, Okamoto M, Beatty PH, et al (2015) The Genetics of Nitrogen Use Efficiency in Crop Plants. *Annu Rev Genet* 49:269–289. doi: 10.1146/annurev-genet-112414-055037
- Khan S, Shahroon Khan C, Sharma J (2018) Effect of organic manure and nitrogen on pear: A review. *Int J Chem Stud* 6:140–143
- Kiba T, Krapp A (2016) Plant Nitrogen Acquisition Under Low Availability: Regulation of Uptake and Root Architecture. *Plant Cell Physiol* 57:707–714. doi: 10.1093/pcp/pcw052
- Lee H-J, Ha J-H, Kim S-G, et al (2016) Stem-piped light activates phytochrome B to trigger light responses in *Arabidopsis thaliana* roots. *Sci Signal* 9:ra106-ra106. doi: 10.1126/scisignal.aaf6530
- Moriwaki T, Falcioni R, Tanaka FAO, et al (2019) Nitrogen-improved photosynthesis quantum yield is driven by increased thylakoid density, enhancing green light absorption. *Plant Sci* 278:1–11. doi: 10.1016/j.plantsci.2018.10.012
- Nawaz MA, Imtiaz M, Kong Q, et al (2016) Grafting: A Technique to Modify Ion Accumulation in Horticultural Crops. *Front Plant Sci* 7:1457. doi: 10.3389/fpls.2016.01457
- Paula, B. V., Marques, A. C. R., Rodrigues, L. A. T., de Souza, R. O. S., de Souza Kulmann, M. S., Kaminski, J., ... & Ricachenevsky, F. K. (2018). Morphological and kinetic parameters of the uptake of nitrogen forms in clonal peach rootstocks. *Scientia*

- horticulturae, 239, 205-209. doi:10.1016/j.scienta.2018.05.038.
- Paul EA (2016) The nature and dynamics of soil organic matter: Plant inputs, microbial transformations, and organic matter stabilization. *Soil Biol Biochem* 98:109–126. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.04.001
- Pii Y, Alessandrini M, Guardini K, et al (2014) Induction of high-affinity NO₃⁻ uptake in grapevine roots is an active process correlated to the expression of specific members of the NRT2 and plasma membrane H⁺-ATPase gene families. *Funct Plant Biol* 41:353–365. doi: 10.1071/FP13227
- Rajasekar M, Associate R, Nandhini U, Balakrishnan K (2017) A review on role of macro nutrients on production and quality of vegetables. *Int J Chem Stud* 5:304–309
- Raseira MCB, Franzon RC, Pereira JFM, Scaranari C (2015) The first peach cultivars protected in brazil. *Acta Hortic* 39–43. doi: 10.17660/ActaHortic.2015.1084.3
- Riggs CE, Hobbie SE (2016) Mechanisms driving the soil organic matter decomposition response to nitrogen enrichment in grassland soils. *Soil Biol Biochem* 99:54–65. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.04.023
- Souza A das G, Spinelli VM, Souza RO de, et al (2017) Optimization of germination and initial quality of seedlings of *Prunus persica* tree rootstocks. *J Seed Sci* 39:166–173. doi: 10.1590/2317-1545v39n2171687
- Tomasi N, Monte R, Varanini Z, et al (2015) Induction of nitrate uptake in Sauvignon Blanc and Chardonnay grapevines depends on the scion and is affected by the rootstock. *Aust J Grape Wine Res* 21:331–338. doi: 10.1111/ajgw.12137
- Yang T, Zhu L, Wang S, et al (2007) Nitrate uptake kinetics of grapevine under root restriction. *Sci Hortic (Amsterdam)* 111:358–364. doi: 10.1016/j.scienta.2006.11.005

5.4 ESTUDO IV

Paspalum notatum* co-cultivation and nitrogen sources application effects on nitrogen absorption and physiological parameters of peach trees⁴*ABSTRACT**

Nitrogen (N) uptake derived of urea by peach trees (*Prunus persica*) is usually small due to its fast solubility. Therefore, it is appropriate to apply N sources that have more gradual mineralization, such as the organic compound, since there may be a greater synchronism between N release by compound and its absorption by peach trees. On the other hand, soil cover crops, such as *Paspalum notatum*, a Pampa biome native species, commonly present in orchards, can absorb part of N derived from sources, decreasing the amount used by peach trees, however this is not well known. The objective of this study was to evaluate N absorption and physiological parameters of young peach trees cultivated in soil, with and without *Paspalum notatum*. Experiment was conducted during 180 days in a greenhouse, where the equivalent of 40 kg N ha⁻¹ was applied to the soil in the form of urea and organic compound, as well as soil without fertilization (control), all in *Paspalum notatum* presence or absence. Morphological, nutritional and physiological parameters were evaluated in peach trees. Dry matter production and tissue N concentration were also evaluated in *Paspalum notatum*. Different N forms were evaluated in soil. Peach trees cultivated in soil with urea application absorbed a greater N amount when compared to the ones cultivated in soil with organic compound application, even in *Paspalum notatum* presence. Cultivation with *Paspalum notatum* decreased N uptake by peach trees and, possibly, peach trees photosynthetic pigment content as well as stimulated senescence anticipation in about 30 days, while no reduction in peach trees total dry matter production was observe in any treatment applied.

Keywords: *Prunus persica* L., cover crops, mineral source, organic source.

⁴ Artigo elaborado de acordo com as normas da Environmental and Experimental Botany.

INTRODUCTION

The most determining steps for successful orchard implantation, after choosing rootstock and peach cultivar (*Prunus persica*), are planting, growth and maintenance fertilizations. Pre-planting fertilization is carried out before seedlings transplantation and it is usually recommended in order to raise phosphorus (P) and potassium (K) levels to ones above critical level. However, N is generally not applied in pre-planting fertilization, and, when given, doses are small due to plants small root system development (Brunetto et al., 2016), decreasing N uptake chances, which can easily have some lost forms, as nitrate in the leaching process. Therefore, N sources are usually applied in growth fertilizations, and doses defined based on soil organic matter content. (CQFS-RS/SC, 2016).

Urea is the N source commonly applied on peach orchards soil worldwide, since, among other factors, it usually presents lower cost per N unit. In order to avoid root system damage, urea is applied without incorporation, and in plants crown projection, since it is considered as one of the regions with the highest root volume (Brunetto et al. 2017; Corrêa et al. 2018). However, as urea solubilization and hydrolysis is very rapid stimulating losses of N forms by volatilization, leaching and surface runoff, the amount of applied N that is really absorbed by peach trees may be small (Nario et al. 2003; Rocuzzo et al. 2017). Therefore, an interesting strategy is the use of other N sources, as the organic compound, where N mineralization is more gradual, potentiating its use by the peach tree (Baldi et al. 2014; Hagemann et al. 2017; Hernández et al. 2016). Thus, an increase in nutrients concentration inside the plant is expected, which can be diagnosed by foliar analysis and/or photosynthetic rate as well as growth parameters, as, for example, dry matter production (Bravo et al. 2012).

However, in peach orchards, such as those in southern Brazilian states, native cover crops species from Pampa biome, such as *Paspalum notatum*, can be observed in lines and interlines, when the choose option is not to desiccate with residual herbicides (Brunetto et al. 2018). *Paspalum notatum* is a very important cover species due to its wide distribution and adaptability in Pampa Biome natural pastures, which extends along the border between Brazil, Argentina and Uruguay. Favored by its fast-growing habit, together with its adaptability and good dry matter production, it has been considered one of the most promising native forage grasses in the region and its distribution is gradually increasing in fruit orchards, constituting a way to improve its preservation (Andrade et al. 2016; Fachinetto et al. 2017).

Orchard coverage plants, as *Paspalum notatum*, dissipates raindrops kinetic energy, reducing soil hydric erosion, especially in orchards as the ones located in Rio Grande do Sul,

in sandy soil or undulating relief (Basche et al. 2016; Kunz et al. 2016; Masilionyte et al. 2017; Oliveira et al. 2016). On the other hand, *Paspalum notatum* can also absorb part of N containing in urea or organic compound, applied as N source in peach tree, reducing N availability to the tree, which may negatively affect its growth as a result from lower N uptake and, consequently, photosynthetic rate (Forey, Metay, and Wery 2016; Kunz et al. 2016). However, it is not sufficiently known the *Paspalum notatum* actual competition for N applied from different sources, which could, in turn, contribute to decision making, for example, in whether or not to graze, desiccate or even maintain coverage plants present in orchards without intervention. Our objective was to evaluate absorption and physiological parameters in young peach trees cultivates in soil together with *Paspalum notatum*.

METHODOLOGY

Soil Preparation, peach tree seedling and treatments

Experiment was conducted along 180 days, in a greenhouse, in controlled temperature and humidity (25 °C mean temperature and 60% mean relative air humidity). Majority of peach tree production in Brazil southern region is in Serra Gaucha, Rio Grande do Sul, where orchards are cultivated in Humic Cambisol. Thus, soil samples from humic cambisol were collected in 0-0.2 m layer. Soil was air dried, sieved in a 2 mm mesh and reserved. One sample was submitted to chemical analyses (Tedesco et al. 1995), and P and K content were corrected by addition of 0.085 g P₂O₅ kg⁻¹ of soil (triple superphosphate source - TSS, 41% P₂O₅) and with 0.045 g K₂O kg⁻¹ of soil (potassium chloride source - KCl, 58% K₂O). Doses were applied in order to elevate P and K content until reaching the high interpretation range, for medium clay content soils and high cation exchange capacity at pH 7.0 (CTC_{pH 7.0}) (CQFS-RS/SC, 2016).

Peach tree seedling, cultivar Chimarrita (epibiote), grafted on Capedebosq rootstock (hypobiote) were transplanted to 8Kg pots containing 7.5 Kg of soil, one plant per pot. Post-grafting seedlings were one year old and were produced from herbaceous cuttings.

Before transplantation to peach tree containing pots, *Paspalum notatum* seedlings collected in natural field from Pampa Biome (29°43'34.55"S e 53°45'30.47" W geographical coordinates) washed in distilled water, selected and multiplied, were cultivated along 90 in rectangular propylene boxes (0.60 x 0.60 x 0.1 m) containing sand. At every 30 minutes, irrigation with Hoagland nutritive solution at 25% its original concentration was performed.

At 15 days following peach trees transplantation, six 10cm height *Paspalum notatum* seedlings, which is the naturally occurring in orchards from Brazil Southern Region, were transplanted to pots belonging to *Paspalum notatum* consortium treatment.

At 21 days following coverage plants implantation, treatments at a complete randomized experimental design, factorial 2x3, with 5 repetitions were applied. Briefly, there was *Paspalum notatum* presence and absence in the following treatment: Control (no fertilization); Urea Fertilization and Organic Compound fertilization.

Administered Urea had 45% total N, and was applied as single doses before irrigation, which along all experiment was realized by weighing in order to maintain 50% field capacity. Organic Compound was produced from grape juice agroindustry residues, as sludge and stink, as well as poultry and sawdust residues, containing 2.0% total N, 0.4% ammonium (NH₄), 0.4% nitrate (NO₃), 0.74% total P, 2.4% total K, 19.3% total organic C, 43.2% dry matter, pH 9.0 in water and 19.3% C/N relation as chemical composition. Urea and organic compound were applied in each pot surface, as 60 kg N ha⁻¹ dose, which is indicated as adequate by the fertilization and liming manual for peach tree orchards implantation (CQFS-RS/SC 2016), which was equivalent to 0.289 g urea and 19.95 g organic compound per plant.

At *Paspalum notatum* containing treatment, plants aerial part was cut at 15cm from soil surface, simulating mowing. Part of residues were reserved and the remaining was added to pots soil surface.

Physiological Parameters

At 120 days following peach seedlings transplantation, three leaves from each repetition were collected, liquid N₂ frozen and kept at -80°C until further analysis. Leaves carotenoids, chlorophyll a (Chl a) and chlorophyll b (Chl b) content were evaluated (HENDRY & PRICE, 1993). To do so, 0.5 g leaves fresh matter were liquid N₂ macerated, homogenized in 5 ml 80% acetone, transferred to a 15 ml falcon tube and then centrifuged, 4000 g, 4 minutes, 25°C. In order to obtain Chl a, Chl b and carotenoids concentration in resulting extract, absorbance was measured in spectrophotometer at 480, 645 e 663 nm (for Chl a, Chl b and carotenoids, respectively). Pigment concentration was obtained according to methodology proposed by Lichtenthaler (1987).

Also, at 120 days following peach trees transplantation, gas exchange was also measured using a portable gas infrared analyzer (IRGA - Infra-red Gas Analyzer) with artificial red and blue light sources (LI-6400XT LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA). Analyses were performed at each plants medium third, which were healthy and completely developed, in three

plants per treatment. Microclimate conditions were constantly maintained during the different treatments readings, being $1100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR (active photosynthetic radiation) and environmental CO_2 concentration ($383 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$ mean). The CO_2 assimilation rates ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), water conductance ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), CO_2 intracellular concentration ($\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$), transpiration rate ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and leaf temperature ($^{\circ}\text{C}$) in all treatments were analyzed between 10h to 12h.

Soil N forms and tissue N concentration

At 180 days following peach seedlings transplantation, soil samples from 0–0.2 m layer were collected from each pot. Soil was prepared and ammonium and nitrate extraction was performed using a 1 mol L^{-1} KCl solution. Ammonium and nitrate concentration were then determined in the obtained extract by steam drag method in Kjeldahl distiller (Tedesco et al. 1995). On this same date, plants were cut close to soil surface and separated into leaves and stem. Roots were manually separated from the soil, washed in running water and then in distilled water. Organ samples were dried at a forced air circulation oven at 65°C until constant weight, and subsequently dry matter was determined. Tissue samples were milled, prepared and subjected to sulfur digestion followed by N concentration determination by Kjeldahl still-steam method (Tedesco et al. 1995).

Statistical Analysis

Results were submitted to analysis of variance with two factors (fertilizer source x *Paspalum notatum* absence or presence) and when treatments effect was significant, results were submitted to LSD test (minimum significant difference) ($\alpha = 5\%$).

RESULTS AND DISCUSSION

Highest N mineral concentrations (nitrate+ammonium) were observed in soil containing both urea and organic compound, without *Paspalum notatum* (Figure 1). This can be explained by the high nutrient uptake from soil, including N, by *Paspalum notatum* roots, which transports to aerial part, as observed by N concentration and tissue accumulation (Table 1).

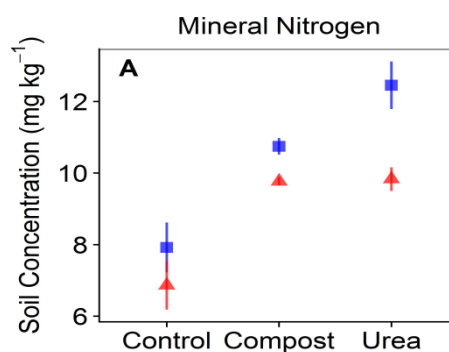


Figure 1- N mineral concentration in peach tree cultivated soil and submitted to urea and organic compound application, in *Paspalum notatum* presence (▲) and absence (■).

In soil cultivated in *Paspalum notatum* absence and with urea application, 13.6% more N mineral was observed when compared to soil cultivated without *Paspalum notatum*, but with organic compound application (Figure 1). However, ammonium, nitrate and N mineral concentrations in soil cultivated with cover crops presence did not statistically differ between the two N sources applied (Table 1). Highest different N forms concentrations in soil with urea application are explained by urea's increased hydrolysis by extracellular ureases enzymes produced by microorganisms, such as bacteria and soil fungi, producing ammonium carbonate ($(\text{NH}_4^+)_2\text{CO}_3$), which is not stable in soil. When in contact with water, it decomposes into HCO_3^- , OH^- and NH_4^+ . The HCO_3^- can then decompose into CO_2 and OH^- . If NH_4^+ reacts with OH^- , NH_3 can be transferred to the atmosphere. However, part of remaining NH_4^+ can be transformed by biological oxidation into nitrite (NO_2^-), followed by NO_3^- , which can be absorbed by plant roots or lost by leaching, especially in sandy textured soils at its final part, increasing ammonium and nitrate (Brunetto et al. 2016). Thus, part of N forms may be absorbed by cover crops, for example, also present in orchards, and by fruit trees, such as peach tree used in the present study (Kunz et al. 2016).

However, if there are no plants, part of N forms, such as nitrate, can be lost, especially by leaching, as observed by Oliveira et al. (2016), in an apple orchard submitted to urea and organic compound application. On the other hand, organic residues mineralization in soil, as organic compound, is more gradual and, therefore, usually N forms increment in soil occur more slowly over time (Redin et al., 2014; Stewart et al. al., 2015), justifying the lower N mineral concentrations observed in pots. This may be desirable, as there may be a greater synchronization between mineralization and N-uptake by fruit, since roots tend to grow throughout the year, especially temperate fruits growing under subtropical conditions (Demestihis et al. 2017, Scandellari et al., 2016) and also, therefore, can absorb N. Organic

compound used in the present study had a C/N ratio close to 20, where a balance between mineralization and N immobilization (Favarato et al., 2016; Lobo et al., 2012) is verified, which corroborates the N forms increase observed in soil, to results obtained in the present study.

Leaves and stems from peach trees cultivated in soil without *Paspalum notatum* and with urea and organic compound application had the highest N concentrations (Table 1), which was reflected in N absorbed content in these two organs (Figures 2a, 2b) and its total value (Figure 2c). On the other hand, N content absorbed by roots did not statistically differ between soil with and without *Paspalum notatum* (Table 1). Leaves and stems N concentrations from peach trees cultivated with *Paspalum notatum* also did not statistically differ among different N sources (Table 1).

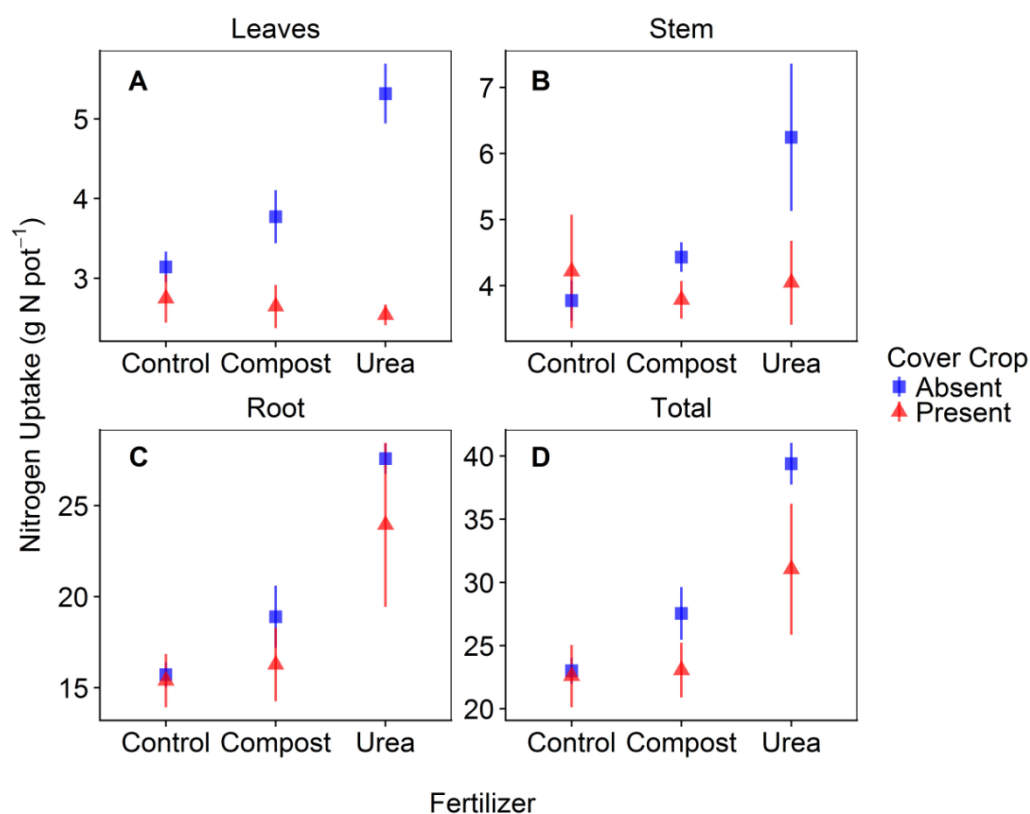


Figure 2- N absorbed by leaves, stems and roots from peach trees cultivated in pots with urea and organic compound application, with and without *Paspalum notatum*. Please regard scale differences.

The highest N absorbed amounts, especially by leaves, can be attributed to their N concentration (Table 1), but also to the higher dry matter production observed in peach trees submitted to urea and organic compound applications (Figure 3a). This is a result of greater N mineral availability in soil (Figure 1), but also to intense cellular division and elongation characteristic to leaves along growth, and so, being N drains (Carranca, Brunetto, and Tagliavini 2018; Pescie et al. 2018; Roccuzzo et al. 2017). It should be noted that the highest N absorbed amounts observed in peach trees cultivated in soil with no N source application but

with urea and organic compound were observed in roots, which is a N reserve organ (Rivera et al. 2016; Rocuzzo et al. 2017). Thus, the greater the amount of N mineral in soil (Figure 1), greater the N absorbed and accumulated amount, usually in form of proteins (Carranca et al. 2018). Some of proteins present in roots may be degraded and part of N may be redistributed to growing organs, with annuals, among them leaves, along plants growth (Carranca et al. 2018; Rivera et al. 2016; Rocuzzo et al. 2017). Thus, even the plant may be less dependent on N applied through different sources, if roots internal N reserves are large (Jordan et al. 2014).

Table 1 – Soil N forms concentration and N absorbed content by Peach trees and *Paspalum notatum* following 180 days cultivation with N sources and in *Paspalum notatum* presence/absence.

Nutritional parameters (%)	<i>Paspalum notatum</i> Presence or absence	Fertilizer			Fertilizer x <i>Paspalum notatum</i>
		Control	Urea	Compost	
NH ₄ ⁺ concentration in soil	Present	2.99bA	3.34abB	3.85aB	*
	Absent	1.93cB	4.22aA	3.24bA	
NO ₃ ⁻ concentration in soil	Present	3.87bB	6.48aB	5.91aB	ns
	Absent	5.98bA	8.24aA	7.50aA	
N Mineral concentration	Present	6.86bA	9.83aB	9.77aA	ns
	Absent	7.92cA	12.45aA	10.75bA	
Leaves N uptake	Present	2.64aA	2.54aB	2.74aB	*
	Absent	3.14bA	5.31aA	3.77bA	
Stems N uptake	Present	4.21aA	4.04aB	3.78aA	ns
	Absent	3.77bA	6.24aA	4.43abA	
Roots N uptake	Present	15.90bA	23.94aB	16.27bA	ns
	Absent	15.72bA	27.57aA	18.90bA	
Peach Total N	Present	22.59bA	31.04aB	23.06bA	ns
	Absent	23.00bA	39.38aA	27.55bA	
<i>Paspalum notatum</i> aerial part N uptake	Present	1.84b	3.23a	2.16b	-
<i>Paspalum notatum</i> roots N uptake	Present	6.62b	8.34a	7.74ab	-
Cover plant total N	Present	8.46b	11.57a	9.91ab	-

Abstract: Two-way ANOVA. LSD = significant minimum difference at 5% probability. Lowercase letters means differ fertilizers and uppercase letters means cover crops presence or absence. Asterisk indicates statistically significant differences associated to the interaction between fertilizer and cover crops, ns = not significant.

Peach trees cultivated with urea application and cover crops absence presented higher leaf dry matter production when compared to peach trees cultivated with organic compound without *Paspalum notatum*. However, in *Paspalum notatum* presence, there was no significant difference between N sources (Table 1). Peach trees cultivated in soil with urea application showed the highest roots dry matter production as well as total dry matter when compared to organic compound application, both in *Paspalum notatum* presence and absence (Figure 3c and 3d). This possibly occurred due to increased N availability to plants provided by urea application (Table 1), which was reflected in higher N absorbed and reverted in roots dry mass through cell division and new roots emission, especially in *Paspalum notatum* presence, which may have contributed to increase soil volume explored by the root system, boosting nutrients absorption, including N (Corrêa et al. 2018). Thus, the higher root emission increased roots dry mass and, consequently, total dry mass. However, when compared to *Paspalum notatum* presence and absence within each N source, no significant difference was observed in stem dry matter mass, roots and total dry mass.

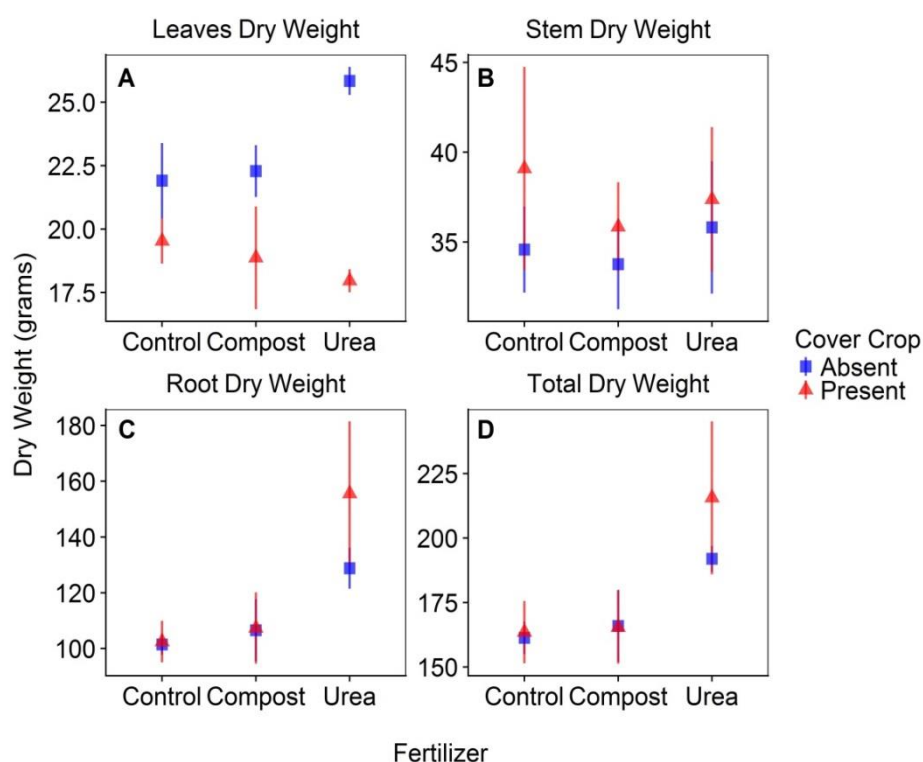


Figure 3- Stem, leaves and roots dry mass from peach trees cultivated with urea and organic compound application, in *Paspalum notatum* presence or absence. Please regard scale differences.

When in consortium with peach tree, *Paspalum notatum* aerial part dry mass production was higher when urea was applied (Table 1). In addition, higher amount of N absorbed by peach tree was observed in plants with urea application when compared to the ones cultivated in both

control soil and organic compound application (Figures 4a and 4b). In roots, N absorbed and dry mass produced by root system did not statistically differ between N sources (Table 1), which indicates that *Paspalum notatum* tends to accumulate more N in aerial part than in roots, unlike the observed on peach trees. *Paspalum notatum* total dry mass production cultivated in consortium with peach tree was higher with urea application (Table 1) (Figure 4), this might be explained by the fact that urea not only is a readily available N source to plants, but also that *Paspalum notatum* root system is more aggressive than the peach tree, and thus was able to absorb more N, and convert to dry mass production.

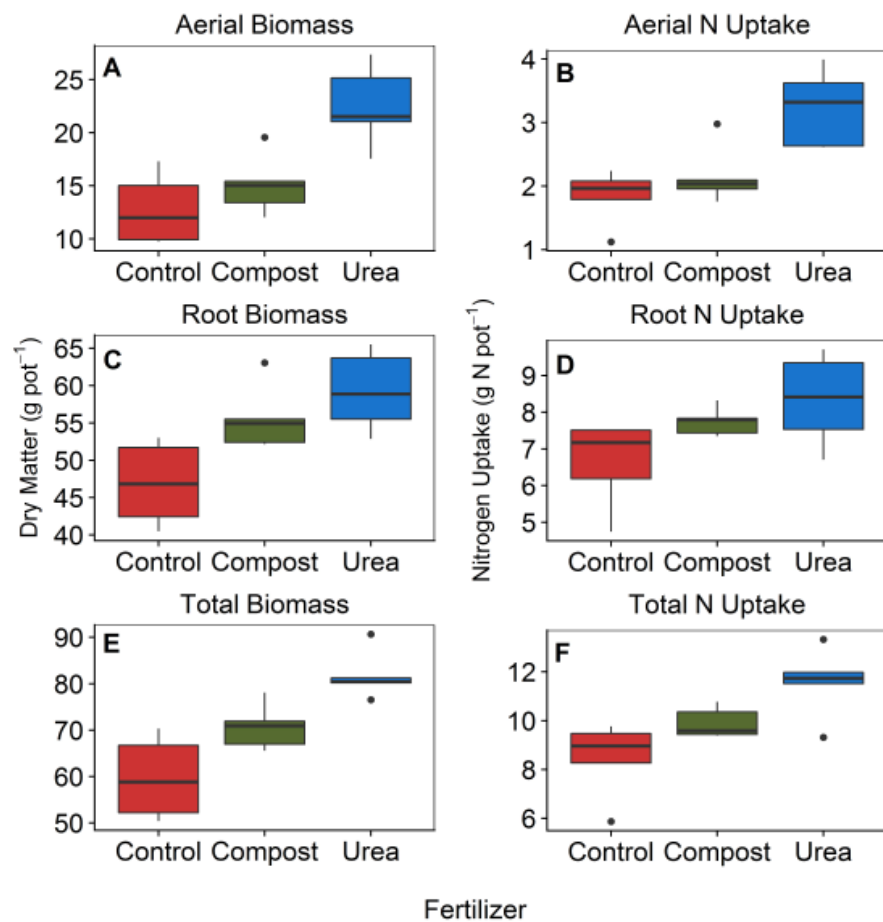


Figure 4- Root and aerial part dry mass and N absorbed by *Paspalum notatum* cultivated together with young peach trees, with urea and organic compound application. Please regard scale differences. Line inside boxes represents median (separating 50% each side). Dots indicate data that were outside the 1.5 × interquartile range.

Photosynthetic rate and stomatal conductance values did not differ between plants cultivated with and without *Paspalum notatum* (Table 2), in both control soil and urea and organic compound application (Figure 5a and 5b). However, leaves from peach trees cultivated without *Paspalum notatum* in control soil and with urea and organic compound application presented the highest chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids values (Figures 5c, 5d, 5e).

The highest chlorophyll a and b values in leaves from peach trees cultivated in soil without *Paspalum notatum* are explained by the higher N mineral availability, especially in soil with urea and organic compost application (Figure 1) and consequent increase in tissue N concentration, since chlorophyll molecule is formed by association between a central Mg atom (pheophytin complex), and four N atoms of four symmetrical pyrrolic rings (Bechaieb, Lakhdar, and Gérard 2018). The highest carotenoids values, which were also observed in these same peach trees, can be attributed to the fact that these compounds act in photo-oxidative damages prevention caused by reactive species highly produced in the photosynthesis (Cruz et al., 2007; Gao et al., 2016), which was stimulated by increasing tissue N concentration, especially in soil with urea application (Table 1).

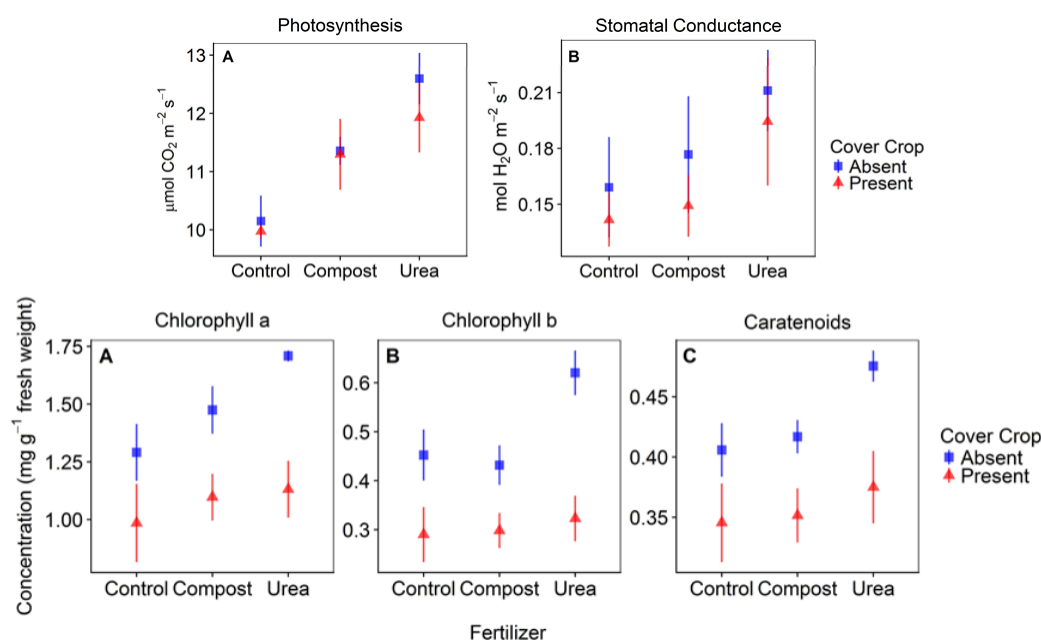


Figure 5- Photosynthesis, conductance, chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids concentrations in leaves from peach trees cultivated in pots with urea and organic compound application, *Paspalum notatum* presence or absence. Please regard scale differences as well as in measurement units.

Peach trees cultivated in *Paspalum notatum* presence absorbed 12.1% less N, possibly stimulating leaf senescence anticipation in approximately 30 days, compared to peach trees cultivated without *Paspalum notatum* (Figure 1). In spite of lower N mineral availability, which also reduced N absorbed content by leaves and stem, reflecting in total and lower photosynthetic pigments values (chlorophyll a, chlorophyll and carotenoids), total dry matter production from peach trees cultivated with *Paspalum notatum* was not negatively affected (Figure 6). This is desirable, making soil coverage plants, including *Paspalum notatum*, be used in orchard lines, after seedlings transplant. Thus, raindrops kinetic energy is expected to dissipate, which decreases water erosion potential, especially in soils located in sloping relief. In addition, soil

cover crops maintenance is justified due to part of N applied, in the form of urea or organic compound, can be absorbed, remaining in plants roots and aerial part and, therefore, it can return to soil following organs senescence, reducing N transfers to the environment and even increase utilization potential by peach trees and the roots of *Paspalum notatum* can improve the stability of aggregates and prevent the degradation of carbon and nitrogen present in the soil. (Gómez-Muñoz et al., 2014; Karl et al., 2016; Sharifi et al., 2016), especially in large and unconfined environments such as pots used in the present study.

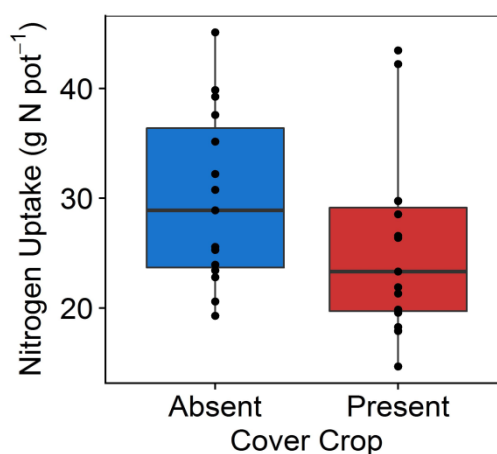


Figure 6- Total N absorbed by peach trees with and without *Paspalum notatum* presence. Line inside boxes represents the median (separating 50% data for each side). Dots on the vertical line indicate the distribution of 15 observations each treatment. The point at the end and outside the vertical line indicates a data outside the $1.5 \times$ interquartile range.

CONCLUSION

Peach trees cultivated in soil with urea application absorbed a greater N amount when compared to organic compound application, even in *Paspalum notatum* presence.

Peach tree cultivation associated to *Paspalum notatum* decreased N uptake and, possibly, decreased peach trees photosynthetic pigment content as well as stimulated senescence anticipation in 30 days, however there was no reduction in total dry matter production from peach trees.

BIBLIOGRAPHY

- Ahmad, W. et al. 2014. "Role of Nitrogen Fertilizer in Crop Productivity and Environmental Pollution." 4(3):201–6.
- Andrade, Bianca O., Camila L. Bonilha, Pedro Maria A. Ferreira, Ilsi I. Boldrini, and Gerhard E. Overbeck. 2016. "Highland Grasslands at the Southern Tip of the Atlantic Forest

- Biome: Management Options and Conservation Challenges.” *Oecologia Australis* 20(02):175–99. Retrieved (<https://revistas.ufrj.br/index.php/oa/article/view/8358>).
- Baldi, Elena, Graziella Marcolini, Maurizio Quartieri, Giovambattista Sorrenti, and Moreno Toselli. 2014. “Effect of Organic Fertilization on Nutrient Concentration and Accumulation in Nectarine (*Prunus Persica* Var. *Nucipersica*) Trees: The Effect of Rate of Application.” *Scientia Horticulturae* 179(3):174–79. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.029>).
- Basche, Andrea D. et al. 2016. “Simulating Long-Term Impacts of Cover Crops and Climate Change on Crop Production and Environmental Outcomes in the Midwestern United States.” *Agriculture, Ecosystems and Environment* 218:95–106. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2015.11.011>).
- Batista, RO, AE Furtini Neto, and SFC DECCETTI. 2016. “Root Morphology and Nutrient Uptake Kinetics by Australian Cedar Clones.” *Revista* 29(1):153–63. Retrieved July 26, 2017 (http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1983-21252016000100153&script=sci_arttext).
- Bechaieb, Rim, Zohra B. Lakhdar, and Hélène Gérard. 2018. “DFT and TD-DFT Studies of Mg-Substitution in Chlorophyll by Cr(II), Fe(II) and Ni(II).” *Chemistry Africa* 1(1–2):79–86. Retrieved January 21, 2019 (<http://link.springer.com/10.1007/s42250-018-0003-y>).
- Bednorz, D., N. Tauchnitz, O. Christen, H. Rupp, and R. Meissner. 2016. “The Impact of Soil Heterogeneity on Nitrate Dynamic and Losses in Tile-Drained Arable Fields.” *Water, Air & Soil* 227(10):395. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11270-016-3095-5>).
- Bindraban, PS, C. Dimkpa, L. Nagarajan, A. Roy, and R. Rabbinge. 2015. “Revisiting Fertilisers and Fertilisation Strategies for Improved Nutrient Uptake by Plants.” *Biology and Fertility of Soils* 51(8):897–911. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s00374-015-1039-7>).
- Bravo, Katherine et al. 2012. “Effect of Organic Fertilization on Carbon Assimilation and Partitioning in Bearing Nectarine Trees.” *Scientia Horticulturae* 137:100–106. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2012.01.030>).
- Brunetto, G., CA Ceretta, GWB de Melo, and E. Giroto. 2016. “Contribution of Nitrogen from Urea Applied at Different Rates and Times on Grapevine Nutrition.” *Scientia* 207:1–6. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423816302278>).
- Brunetto, Gustavo et al. 2017. “Fruit Yield and Composition in Orange Trees Cv. ‘Lane Late’

- in Response to Nitrogen Fertilization in Sandy Typic Hapludalf Soil.” *Ciência Rural* 47(3). Retrieved January 22, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782017000300253&lng=en&tlng=en).
- Brunetto, Gustavo et al. 2018. “Nitrogen Availability in an Apple Orchard with Weed Management.” *Ciência Rural* 48(5). Retrieved January 17, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782018000500251&lng=en&tlng=en).
- Carranca, Corina, Gustavo Brunetto, and Massimo Tagliavini. 2018. “Nitrogen Nutrition of Fruit Trees to Reconcile Productivity and Environmental Concerns.” *Plants* 7(1):4. Retrieved January 22, 2019 (<http://www.mdpi.com/2223-7747/7/1/4>).
- Centinari, M., JE Vanden Heuvel, M. Goebel, and M. S. Smith. 2016. “Root-zone Management Practices Impact above and Belowground Growth in Cabernet Franc Grapevines.” *Australian Journal Of* 22(1):137–48. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ajgw.12162/full>).
- Cerezo, M., G. Camañes, V. Flors, E. Primo-Millo, and P. García-Agustín. 2007. “Regulation of Nitrate Transport in Citrus Rootstocks Depending of Nitrogen Availability.” *Plant Signaling & Behavior* 2(5):337–42. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/psb.2.5.4578>).
- Claassen, N. and S. A. Barber. 1974. “A Method for Characterizing the Relation between Nutrient Concentration and Flux into Roots of Intact Plants.” *Plant Physiology* 54(4):564–68. Retrieved (<http://www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.54.4.564>).
- Claassen, N. and SA Barber. 1974. “A Method for Characterizing the Relation between Nutrient Concentration and Flux into Roots of Intact Plants.” *Plant Physiology* 54(4):564–68. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.plantphysiol.org/content/54/4/564.short>).
- Corrêa, Márcio Cleber de Medeiros et al. 2018. “Surface Application of Lime on a Guava Orchard in Production.” *Revista Brasileira de Ciência Do Solo* 42(0). Retrieved January 22, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832018000100522&lng=en&tlng=en).
- Couturier, J. et al. 2007. “The Expanded Family of Ammonium Transporters in the Perennial Poplar Plant.” *New* 174(1):137–50. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2007.01992.x/full>).
- CQFS-RS/SC. 2016. *Manual de Calagem e Adubação Do RS/SC*. 11th ed. edited by Comissão de Química e Fertilidade. Porto Alegre.

- Craine, J. M. et al. 2015. “Ecological Interpretations of Nitrogen Isotope Ratios of Terrestrial Plants and Soils.” *Plant and Soil* 396(1–2):1–26. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11104-015-2542-1>).
- Dechognat, J. et al. 2011. “From the Soil to the Seeds: The Long Journey of Nitrate in Plants.” *Journal Of* 62(4):1349–59. Retrieved July 27, 2017 (<https://academic.oup.com/jxb/article-abstract/62/4/1349/463855>).
- El-Jendoubi, Hamdi, Javier Abadía, and Anunciación Abadía. 2013. “Assessment of Nutrient Removal in Bearing Peach Trees (*Prunus Persica* L. Batsch) Based on Whole Tree Analysis.” *Plant and Soil* 369(1–2):421–37. Retrieved February 2, 2017 (<http://link.springer.com/10.1007/s11104-012-1556-1>).
- Fachinetto, Juliana Maria, Miguel Dall’Agnol, Cleber Henrique Lopes de Souza, Roberto Luis Weiler, and Carine Simioni. 2017. “Genetic Diversity of a *Paspalum Notatum* Flüggé Germplasm Collection.” *Revista Brasileira de Zootecnia* 46(9):714–21. Retrieved January 17, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982017000900714&lng=en&tlng=en).
- Forey, Oswaldo, Aurélie Metay, and Jacques Wery. 2016. “Differential Effect of Regulated Deficit Irrigation on Growth and Photosynthesis in Young Peach Trees Intercropped with Grass.” *European Journal of Agronomy* 81:106–16. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2016.09.006>).
- George, TS, LK Brown, L. Ramsay, and PJ White. 2014. “Understanding the Genetic Control and Physiological Traits Associated with Rhizosheath Production by Barley (*Hordeum Vulgare*).” *New* 203(1):195–205. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nph.12786/full>).
- Ghimire, Bardan et al. 2017. “A Global Trait-Based Approach to Estimate Leaf Nitrogen Functional Allocation from Observations.” *Ecological Applications* 27(5):1421–34. Retrieved January 9, 2019 (<http://doi.wiley.com/10.1002/eap.1542>).
- Hagemann, Nikolas, Claudia I. Kammann, Hans-Peter Schmidt, Andreas Kappler, and Sebastian Behrens. 2017. “Nitrate Capture and Slow Release in Biochar Amended Compost and Soil” edited by J. Paz-Ferreiro. *PLOS ONE* 12(2):e0171214. Retrieved January 22, 2019 (<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0171214>).
- Hernández, Teresa, Carmen Chocano, José-Luis Moreno, and Carlos García. 2016. “Use of Compost as an Alternative to Conventional Inorganic Fertilizers in Intensive Lettuce (*Lactuca Sativa* L.) Crops—Effects on Soil and Plant.” *Soil and Tillage Research* 160:14–22. Retrieved January 22, 2019

- (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167198716300162>).
- Hoekstra, NJ, M. Suter, JA Finn, S. Husse, and A. Lüscher. 2015. “Do Belowground Vertical Niche Differences between Deep-and Shallow-Rooted Species Enhance Resource Uptake and Drought Resistance in Grassland Mixtures?” *Plant and Soil* 394(1–2):21–34. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11104-014-2352-x>).
- Horn, D., P. R. Ernani, L. Sangoi, C. Schweitzer, and P. C. Cassol. 2006. “Parâmetros cinéticos e morfológicos da absorção de nutrientes em cultivares de milho com variabilidade genética contrastante.” *Revista Brasileira de Ciência Do Solo* 30(1):77–85.
- Jones Junior, JB. 1983. *A Guide for the Hydroponic & Soilless Culture Grower*. Retrieved July 27, 2017 (https://scholar.google.com.br/scholar?q=A+Guide+for+the+hydroponic+%26+soil+less+culture+grower&btnG=&hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5).
- Jordan, M. O., G. Vercambre, L. Gomez, and L. Pages. 2014. “The Early Spring N Uptake of Young Peach Trees (*Prunus Persica*) Is Affected by Past and Current Fertilizations and Levels of C and N Stores.” *Tree Physiology* 34(1):61–72. Retrieved February 2, 2017 (<https://academic.oup.com/treephys/article-lookup/doi/10.1093/treephys/tpt109>).
- Jordan, Marie-Odile. 2015. “C Depletion and Tree Dieback in Young Peach Trees: A Possible Consequence of N Shortage?” *Annals of Forest Science* 72(5):529–37. Retrieved (<http://link.springer.com/10.1007/s13595-015-0466-9>).
- Karavin, N., C. Yildirim, and A. Cansaran. 2016. “Effects of Traffic Based Pollution on Nitrogen Use Proficiency, Carbon Content and Litter c: N Ratio in *Prunus Persica* (L.)” *FEB-FRESENIUS*. Retrieved July 26, 2017 (https://www.researchgate.net/profile/Svetlana_Acic/publication/309317654_Ecological_features_of_vascular_flora_on_ski_trails_on_NP_Kopaonik_mountain_Serbia/links/5820339508aeccc08af639d2/Ecological-features-of-vascular-flora-on-ski-trails-on-NP-Kopaonik-m).
- Klodd, AE, DM Eissenstat, TK Wolf, and M. Centinari. 2016. “Coping with Cover Crop Competition in Mature Grapevines.” *Plant and Soil* 400(1–2):391–402. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11104-015-2748-2>).
- Kunz, Ch, D. J. Sturm, D. Varnholt, F. Walker, and R. Gerhards. 2016. “Allelopathic Effects and Weed Suppressive Ability of Cover Crops.” *Plant, Soil and Environment* 62(2):60–66.
- Lee, JM, NR Hemmingson, EMK Minnee, and C. E. CLARK. 2015. “Management Strategies for Chicory (*Cichorium Intybus*) and Plantain (*Plantago Lanceolata*): Impact on Dry

- Matter Yield, Nutritive Characteristics and Plant Density.” *Crop and Pasture Science* 66(2):168–83. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.publish.csiro.au/CP/CP14181>).
- Li, H. et al. 2012. “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* 63(17):6173–85. Retrieved February 2, 2017 (<https://academic.oup.com/jxb/article-lookup/doi/10.1093/jxb/ers271>).
- Lichtemberg, Paulo S. F., Walmes M. Zeviani, Themis J. Michailides, and Louise L. May De Mio. 2016. “Comparative in Vivo and in Vitro Study on Monilia Fructicola Causing Brown Rot of Stone Fruit in Brazil and California.” *Tropical Plant Pathology* 41(2):98–106. Retrieved January 16, 2019 (<http://link.springer.com/10.1007/s40858-016-0074-8>).
- Loqué, D. and N. von Wirén. 2004. “Regulatory Levels for the Transport of Ammonium in Plant Roots.” *Journal of Experimental Botany* 55(401):1293–1305. Retrieved July 27, 2017 (<https://academic.oup.com/jxb/article-abstract/55/401/1293/478982>).
- Martinez, Herminia E. P. et al. 2015. “Short-Term Water Stress Affecting NO₃- Absorption by Almond Plants.” *Scientia Horticulturae* 197(August 2016):50–56.
- Martins, Antonio Sidnei, Valmor João Bianchi, Ilisandra Zanandrea, Victor Mousinho Spinelli, and José Carlos Fachinello. 2014. “Efeito Da Estratificação de Sementes Na Emergência e Desenvolvimento Inicial de Plântulas de Porta-Enxertos de Pessegueiro Effects of Seeds Stratification on Seedling Emergence and Initial Development of Peach Rootstock.” *Recebido Aceito* 42(4):366–75. Retrieved July 26, 2017 (<http://cientifica.org.br/index.php/cientifica/article/viewFile/538/357>).
- Masilionyte, Laura et al. 2017. “Effect of Cover Crops in Smothering Weeds and Volunteer Plants in Alternative Farming Systems.” *Crop Protection* 91:74–81. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.09.016>).
- Mayer, NA, FM Pereira, and VY Koba. 2006. “Desenvolvimento Inicial No Campo de Pessequeiros’ Aurora-1’ enxertados Em Clones de Umezeiro e’Okinawa’ propagados Por Estacas Herbáceas.” *Revista Brasileira de Fruticultura* 28(2):231–35. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.scielo.br/pdf/%0D/rbf/v28n2/a17v28n2.pdf>).
- Nario, Adriana, Inés Pino, Felipe Zapata, María Paz Albornoz, and Pedro Baherle. 2003. “Nitrogen () Fertiliser Use Efficiency in Peach (Prunus Persica L.) Cv. Goldencrest Trees in Chile.” *Scientia Horticulturae* 97(3–4):279–87. Retrieved (<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030442380200211X>).
- Nielsen, NE, SA Barber-Agronomy Journal, and undefined 1978. n.d. “Differences Among Genotypes of Corn in the Kinetics of P Uptake 1.” *DL.Sciencesocieties.Org*. Retrieved

- December 30, 2018
<https://dl.sciencesocieties.org/publications/aj/abstracts/70/5/AJ0700050695>).
- Oliveira, Bruno Salvador et al. 2016. "Nutrition, Productivity and Soil Chemical Properties in an Apple Orchard under Weed Management." *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 104(2):247–58.
- Pérez-Gonzalez, S. 2001. "Importance of brazilian peach germplasm for the mexican subtropics." *Acta Horticulturae* 565(565):75–78. Retrieved (https://www.actahort.org/books/565/565_11.htm).
- Pescie, Maria A., Marcela P. Borda, Daniela P. Ortiz, Maria R. Landriscini, and Raul S. Lavado. 2018. "Absorption, Distribution and Accumulation of Nitrogen Applied at Different Phenological Stages in Southern Highbush Blueberry (*Vaccinium Corymbosum* Interspecific Hybrid)." *Scientia Horticulturae* 230:11–17. Retrieved January 22, 2019 (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423817306775>).
- Picolotto, L. et al. 2009. "Características Vegetativas, Fenológicas e Produtivas Do Pessegueiro Cultivar Chimarrita Enxertado Em Diferentes Porta-Enxertos." *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44(6):583–89. Retrieved July 27, 2017 (<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/2072/5731>).
- Picolotto, L., J. Dutra Schmitz, and M. Da Silveira Pasa. 2012. "Desenvolvimento Vegetativo e Produtivo Da Cultivar 'Maciel' em Diferentes Porta-Enxertos." *Ciência Rural*. Retrieved July 26, 2017 (<http://www.scielo.br/pdf/cr/2012nahead/a16212cr5830.pdf>).
- Picolotto, Luciano, Juliano Dutra Schmitz, Mateus da Silveira Pasa, Valmor Carlos Bianchi, and José Carlos Fachinello. 2012. "Desenvolvimento Vegetativo e Produtivo Da Cultivar ' Maciel ' Em Diferentes." *Ciência Rural* 42:1–6.
- Pii, Youry, Massimiliano Alessandrini, Katia Guardini, Anita Zamboni, and Zeno Varanini. 2014. "Induction of High-Affinity NO₃- Uptake in Grapevine Roots Is an Active Process Correlated to the Expression of Specific Members of the NRT2 and Plasma Membrane H⁺-ATPase Gene Families." *Functional Plant Biology* 41(4):353–65.
- Raseira, M. C. B., R. C. Franzon, J. F. M. Pereira, and C. Scaranari. 2015. "The first peach cultivars protected in Brazil." *Acta Horticulturae* (1084):39–43. Retrieved January 9, 2019 (https://www.actahort.org/books/1084/1084_3.htm).
- Raseira, M. C. B., F. Herter, and C. A. S. Posser. 2003. "The Embrapa/ Clima Temperado Peach Breeding Program and Adaptation to Subtropical Regions." *Acta Horticulturae* (606):45–50. Retrieved July 27, 2017 (http://www.actahort.org/books/606/606_7.htm).
- Rivera, René, Pilar Bañados, and M. Ayala. 2016. "Distribution of ¹⁵N Applied to the Soil in

the ‘Bing’/‘Gisela®6’ Sweet Cherry (*Prunus Avium* L.) Combination.” *Scientia Horticulturae* 210:242–49.

Rocuzzo, Giancarlo et al. 2017. “Seasonal Dynamics of Root Uptake and Spring Remobilisation of Nitrogen in Field Grown Orange Trees.” *Scientia Horticulturae* 226:223–30. Retrieved January 22, 2019 (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423817304892#bib0105>).

Ruiz, H. A. 1985. “Cinética: Software Para Estimar as Constantes Vmax, Km Da Equação de Michaelis-Menten.” *Revista Ceres* 32(179):79–84.

Scariotto, S., I. Citadin, MCB Raseira, and MR Sachet. 2013. “Adaptability and Stability of 34 Peach Genotypes for Leafing under Brazilian Subtropical Conditions.” *Scientia* 155:111–17. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423813001337>).

Segonzac, C. et al. 2007. “Nitrate Efflux at the Root Plasma Membrane: Identification of an Arabidopsis Excretion Transporter.” *The plant cell online* 19(11):3760–77. Retrieved (<http://www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.106.048173>).

Sorgonà, Agostino, Maria Rosa Abenavoli, and Giovanni Cacco. 2005. “A Comparative Study between Two Citrus Rootstocks: Effect of Nitrate on the Root Morpho-Topology and Net Nitrate Uptake.” *Plant and Soil* 270(1):257–67.

Souza, A. G. et al. 2014. “Behavior of Peach and Mume Rootstocks to the Nematode *Meloidogyne Enterolobii*.” *Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 57(2):108–13. Retrieved July 27, 2017 (<https://periodicos.ufra.edu.br/index.php/ajaes/article/view/1479>).

Tedesco, MJ, C. Gianello, CA Bissani, and H. Bohnen. 1995. *Análises de Solo, Plantas e Outros Materiais*. UFRGS. Porto Alegre. Retrieved July 27, 2017 (<http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=AGB.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=107906>).

Thurrow, Liane Bahr, Maria Do Carmo Bassols Raseira, Sandro Bonow, Luis Willian Pacheco Arge, and Caroline Marques Castro. 2017. “Population genetic analysis of brazilian peach breeding germplasm.” *Revista Brasileira de Fruticultura* 39(5). Retrieved January 16, 2019 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452017000500802&lng=en&tlng=en).

Tomasi, N., R. Monte, Z. Varanini, S. Cesco, and Roberto Pinton. 2015. “Induction of Nitrate Uptake in Sauvignon Blanc and Chardonnay Grapevines Depends on the Scion and Is Affected by the Rootstock.” *Australian Journal of Grape and Wine Research* 21(2):331–

38.

- Topp, CN, AL Bray, NA Ellis, and Z. Liu. 2016. "How Can We Harness Quantitative Genetic Variation in Crop Root Systems for Agricultural Improvement?" *Journal of Integrative Plant* 58(3):213–25. Retrieved July 27, 2017 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jipb.12470/full>).
- Warschefsky, EJ, LL Klein, MH Frank, and DH Chitwood. 2016. "Rootstocks: Diversity, Domestication, and Impacts on Shoot Phenotypes." *Trends in Plant* 21(5):418–37. Retrieved July 26, 2017 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1360138515002885>).
- White, P. J. et al. 2013. "Matching Roots to Their Environment." *Annals Of* 112(2):207–22. Retrieved July 27, 2017 (<https://academic.oup.com/aob/article-abstract/112/2/207/163460>).
- Yang, Tianyi et al. 2007. "Nitrate Uptake Kinetics of Grapevine under Root Restriction." *Scientia Horticulturae* 111(4):358–64.
- Zamboni, Maurizio et al. 2016. "Vegetative, Physiological and Nutritional Behavior of New Grapevine Rootstocks in Response to Different Nitrogen Supply." *Scientia Horticulturae* 202:99–106.
- Zhang, CH, BB Zhang, ML Yu, and RJ Ma. 2016. "Isolation, Cloning, and Expression of Five Genes Related to Nitrogen Metabolism in Peach (*Prunus Persica* L. Batsch)." *The Journal Of* 91(4):448–55. Retrieved July 26, 2017 (<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14620316.2016.1167325>).
- Zhou, Y., L. Bai, and CP Song. 2015. "Ammonium Homeostasis and Signaling in Plant Cells." *Science Bulletin* 60(8):741–47. Retrieved July 27, 2017 (<http://link.springer.com/article/10.1007/s11434-015-0759-2>).
- Zufferey, V., F. Murisier, and S. Belcher. 2015. "Nitrogen and Carbohydrate Reserves in the Grapevine (*Vitis Vinifera* L.'Chasselas'): The Influence of the Leaf to Fruit Ratio." *VITIS-Journal of Grapevine Research* 54(4):183–88. Retrieved July 27, 2017 (https://www.researchgate.net/profile/Vivian_Zufferey/publication/283449118_Nitrogen_and_carbohydrate_reserves_in_the_grapevine_Vitis_vinifera_L_'Chasselas'_The_influence_of_the_leaf_to_fruit_ratio/links/5638817408ae78d01d39a4d1/Nitrogen-and-carbohydrate-r).

SUPPLEMENTARY MATERIAL

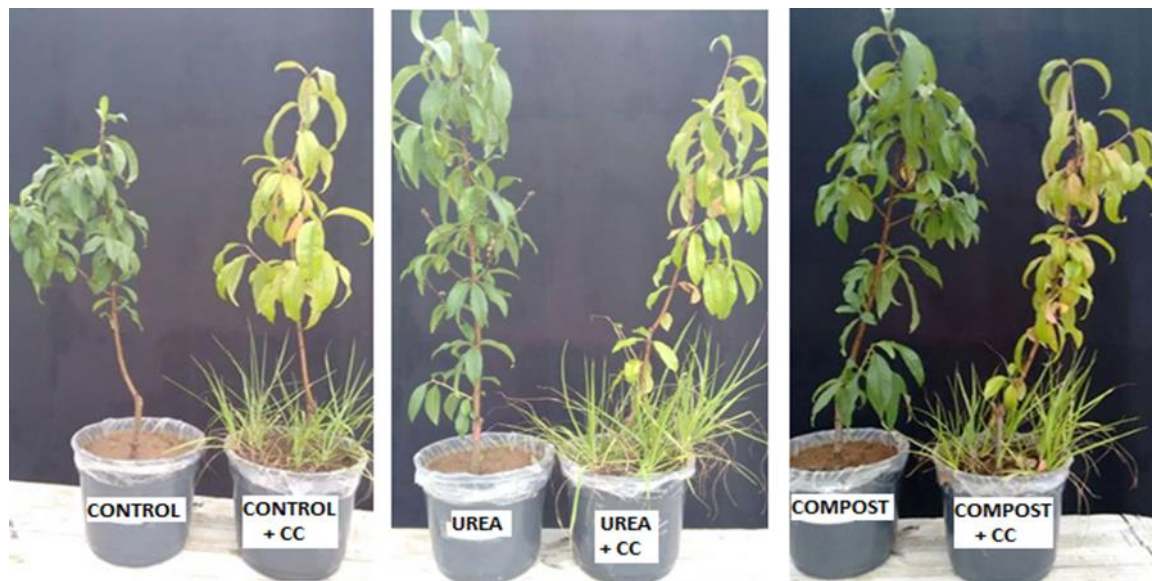


Figure S1 Photo taken 180 days after control treatments, urea, and organic compound application with presence and absence of cover crops (CC).

Table S1- Peach trees and *Paspalum notatum* morphological parameters after 180 days cultivation with N sources in *Paspalum notatum* presence or absence.

Peach and <i>Paspalum notatum</i> Dry mass	<i>Paspalum notatum</i> Presence or absence	Fertilizer			Fertilizer x <i>Paspalum notatum</i>
		Control	Urea	Compost	
Height increase (cm)	Present	0,15bA	0,20aA	0,19aA	ns
	Absent	0,15bA	0,21aA	0,21aA	
Stem diameter increase (cm)	Present	0,06aA	0,08aA	0,07aA	ns
	Absent	0,06aA	0,08aA	0,06aA	
Peach leaf dry mass (g)	Present	19.52aA	17.96aB	18.86aA	ns
	Absent	21.90bA	25.84aA	22.28bA	
Peach stem dry mass (g)	Present	39.10aA	37.10aA	35.85aA	ns
	Absent	34.58aA	35.81aA	33.77aA	
Peach roots dry mass (g)	Present	102.45bA	155.54aA	107.33bA	ns
	Absent	101.42aA	128.78aA	106.52aA	
Peach total dry mass (g)	Present	163.47bA	215.62aA	165.47bA	ns
	Absent	161.26bA	191.95aA	165.87bA	
Cover crops shoot part dry mass (g)	Present	12.80b	22.51a	15.09b	-
Cover crops root system dry mass (g)	Present	46.89b	59.29a	55.61a	-
Cover crops total dry mass (g)	Present	59.69c	81.80a	70.70b	-

Abstract: Two-way ANOVA. LSD = significant minimum difference at 5% probability. Lowercase letters means differ fertilizers and uppercase letters means cover crops presence or absence. Asterisk indicates statistically significant differences associated to the interaction between fertilizer and cover crops, ns = not significant.

Table S2- Peach and *Paspalum notatum* physiological parameters after 180 days cultivation with N sources in *Paspalum notatum* presence or absence.

Physiological parameters	<i>Paspalum notatum</i> presence or absence	Fertilizer			Fertilizer x <i>Paspalum notatum</i>
		Control	Urea	Compost	
Chlorophyll a concentration	Present	0.98aA	1.13aB	1.09aB	ns
	Absent	1.29bA	1.70aA	1.47bA	
Chlorophyll b concentration	Present	0.29aB	0.32aB	0.30aA	ns
	Absent	0.45bA	0.61aA	0.43bA	
Carotenoid concentration	Present	0.34aA	0.37aB	0.35aA	ns
	Absent	0.40bA	0.47aA	0.41bA	
Net photosynthetic assimilation rate	Present	9.97bA	11.98aA	11.29aA	ns
	Absent	10.15bA	12.59aA	11.35abA	
Stomatal conductance	Present	0.14aA	0.19aA	0.15aA	ns
	Absent	0.16aA	0.21aA	0.17aA	

Abstract: Two-way ANOVA. LSD = significant minimum difference at 5% probability. Lowercase letters means differ fertilizers and uppercase letters means cover crops presence or absence. Asterisk indicates statistically significant differences associated to the interaction between fertilizer and cover crops, ns = not significant.

Table S3 Analysis of variance of concentration of NH_4^+ in soil.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	9.922887	4.961443	23.675	0.0000
Cover crop	1	0.528013	0.528013	2.520	0.1255
Fertilizer * Cover crop	2	5.101607	2.550803	12.172	0.0002
Error	24	5.029480	0.209562		
Total	29	20.581987			

Table S4 Analysis of variance of concentration of NO₃⁻ in soil.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	31.714327	15.857163	18.582	0.0000
Cover crop	1	24.843000	24.843000	29.112	0.0000
Fertilizer * Cover crop	2	0.358580	0.179290	0.210	0.8120
Error	24	20.480360	0.853348		
Total	29	77.396267			

Table S5 Analysis of variance of the N concentration in the soil in mineral form.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	76.903820	38.451910	29.535	0.0000
Cover crop	1	18.065280	18.065280	13.876	0.0011
Fertilizer * Cover crop	2	4.300980	2.150490	1.652	0.2128
Error	24	31.245520	1.301897		
Total	29	130.515600			

Table S6 Analysis of variance of the N uptake in the leaf of peach tree.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	5.207540	2.603770	6.662	0.0050
Cover crop	1	15.351053	15.351053	39.277	0.0000
Fertilizer * Cover crop	2	7.433167	3.716583	9.509	0.0009
Error	24	9.380240	0.390843		
Total	29	37.372000			

Table S8 Analysis of variance of the N uptake in the stem of peach tree.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	8.002487	4.001243	1.841	0.1803
Cover crop	1	4.824030	4.824030	2.220	0.1493
Fertilizer * Cover crop	2	8.840580	4.420290	2.034	0.1527
Error	24	52.151040	2.172960		
Total	29	73.818137			

Table S9 Analysis of variance of the N uptake in the root of peach tree.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	582.991740	291.495870	11.465	0.0003
Cover crop	1	36.190083	36.190083	1.423	0.2445
Fertilizer * Cover crop	2	14.303727	7.151863	0.281	0.7573
Error	24	610.180680	25.424195		
Total	29	1243.666230			

Table S10 Analysis of variance of the N total uptake in the peach tree.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	862.547847	431.273923	11.302	0.0003
Cover crop	1	146.125470	146.125470	3.829	0.0621
Fertilizer * Cover crop	2	78.547380	39.273690	1.029	0.3725
Error	24	915.799840	38.158327		
Total	29	2003.020537			

Table S11 Analysis of variance of the dry mass of leaf of peach tree.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	10.624687	5.312343	0.737	0.4888
Cover crop	1	155.632963	155.632963	21.606	0.0001
Fertilizer * Cover crop	2	42.697407	21.348703	2.964	0.0707
Error	24	172.878680	7.203278		
Total	29	381.833737			

Table S12 Analysis of variance of the dry mass of stem of peach tree.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	24.531740	12.265870	0.184	0.8333
Cover crop	1	55.460803	55.460803	0.831	0.3712
Fertilizer * Cover crop	2	12.480487	6.240243	0.093	0.9111
Error	24	1602.491000	66.770458		
Total	29	1694.964030			

Table S13 Analysis of variance of the dry mass of root of peach tree.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	9614.350107	4807.175053	5.317	0.0123
Cover crop	1	681.442680	681.442680	0.754	0.3939
Fertilizer * Cover crop	2	1113.079920	556.539960	0.616	0.5486
Error	24	21696.874240	904.036427		
Total	29	33105.746947			

Table S14 Analysis of variance of the total dry mass of peach tree.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	10602.953447	5301.476723	4.275	0.0258
Cover crop	1	538.565070	538.565070	0.434	0.5162
Fertilizer * Cover crop	2	875.592620	437.796310	0.353	0.7061
Error	24	29761.796480	1240.074853		
Total	29				

Table S15 Analyses of variance of the nitrogen uptake in cover crops shoot parts

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	5.337341	2.668671	10.285	0.0025
Error	12	3.113776	0.259481		
Total	14	8.451118			

Table S16 Analyses of variance of the nitrogen uptake in cover crops root system

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	7.565388	3.782694	3.645	0.0579
Error	12	12.452350	1.037696		
Total	14				

Table S17 Analyses of variance of the nitrogen uptake total in cover crops

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	24.214911	12.107455	7.389	0.0081
Error	12	19.662310	1.638526		
Total	14				

Table S18 Analyses of variance of dry mass of cover crops shoot parts

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	257.949493	128.974747	11.570	0.0016
Error	12	133.765400	11.147117		
Total	14	391.714893			

Table S19 Analyses of variance of dry mass of cover crops root system

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	405.427213	202.713607	7.757	0.0069
Error	12	313.599480	26.133290		
Total	14	719.026693			

Table S20 Analyses of variance of dry mass total of cover crops

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	1222.579853	611.289927	14.307	0.0007
Error	12	512.706720	42.725560		
Total	14	1735.286573			

Table S21 Analysis of variance of the chlorophyll a concentration in the leaf of peach tree.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	0.395180	0.197590	2.979	0.0699
Cover crop	1	1.327203	1.327203	20.008	0.0002
Fertilizer * Cover crop	2	0.100047	0.050023	0.754	0.4813
Error	24	1.592040	0.066335		
Total	29	3.414470			

Table S22 Analysis of variance of the chlorophyll b concentration in the leaf.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	0.068807	0.034403	3.174	0.0598
Cover crop	1	0.290083	0.290083	26.765	0.0000
Fertilizer * Cover crop	2	0.038127	0.019063	1.759	0.1937
Error	24	0.260120	0.010838		
Total	29	0.657137			

Table S23 Analysis of variance of the carotenoid concentration in the leaf.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	0.014607	0.007303	2.640	0.0920
Cover crop	1	0.044853	0.044853	16.212	0.0005
Fertilizer * Cover crop	2	0.002687	0.001343	0.486	0.6213
Error	24	0.066400	0.002767		
Total	29	0.128547			

Table S24- Analysis of variance of net photosynthetic assimilation rate.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	24.383707	12.191853	12.348	0.0002
Cover crop	1	0.681013	0.681013	0.690	0.4144
Fertilizer * Cover crop	2	0.520987	0.260493	0.264	0.7703
Error	24	23.695680	0.987320		
Total	29	49.281387			

Table S25 Analysis of variance of stomatal conductance.

	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Fertilizer	2	0.013807	0.006903	2.135	0.1402
Cover crop	1	0.003203	0.003203	0.991	0.3295
Fertilizer * Cover crop	2	0.000127	0.000063	0.020	0.9806
Error	24	0.077600	0.003233		
Total	29	0.094737			

5.5 ESTUDO V

Contribuição anual e residual do nitrogênio derivado da uréia na nutrição de pessegueiros⁵**ABSTRACT**

Mesmo baixas doses de fertilizantes nitrogenados, como a uréia, são aplicadas parceladamente em pomares de pessegueiros no mundo. Porém, não é suficientemente conhecido a real contribuição para a nutrição do pessegueiro de modos de fornecimento do nitrogênio (N) aplicado na safra ou seu residual no ciclo posterior. O estudo teve como objetivo avaliar a contribuição anual e residual do N derivado da ureia para a nutrição de pessegueiros em produção. Quarenta quilogramas de N, na forma de ureia enriquecida com 3% de átomos de ¹⁵N em excesso foi aplicada em pessegueiros em fase de produção em uma única dose (100% na brotação - 100B) e parcelada (50% na brotação e 50% no florescimento - 50B+50F). As concentrações totais de ¹⁵N e N total no ano de aplicação e no ano posterior as aplicações dos tratamentos foram avaliadas em folhas ao longo do ciclo, em frutos (polpa e caroço) na colheita e em amostras estratificadas de solo. No ano posterior às aplicações dos tratamentos as concentrações totais de ¹⁵N e N e massa seca foram avaliadas em órgãos anuais e perenes dos pessegueiros. Os pessegueiros alocaram mais Ndff em folhas e frutos (polpa e caroço), no ano de sua aplicação no solo e no ano seguinte, quando a dose de N foi aplicada parcelada. No ano seguinte a aplicação do N (2017), as maiores quantidades de Ndff foram observadas especialmente em folhas e frutos (órgãos anuais) e raízes grossas (órgão perene), em especial, quando a dose de N foi aplicada parcelada. Porém, o N presente nos pessegueiros foi derivado de outras fontes que não do N do fertilizante, especialmente, no ano seguinte à aplicação, porque o residual de N no solo foi muito pequeno, justificando, quando for o caso, aplicações anuais de N.

Keywords: Prunus persica, isótopo ¹⁵N, adubação nitrogenada

⁵ Artigo elaborado de acordo com as normas da revista Agriculture, Ecosystems & Environment.

INTRODUÇÃO

Em solos de pomares nem sempre o nitrogênio (N) derivado da mineralização da matéria orgânica e de resíduos vegetais em decomposição pode suprir a demanda de N pelos pessegueiros (*Prunus persica* L.), podendo diminuir inclusive a produtividade e até afetar negativamente parâmetros qualitativos de fruto (Damour et al., 2014; Jannoyer et al., 2011). Por isso, sendo diagnosticada a necessidade e estabelecida a dose de N, através de parâmetros como o teor de matéria orgânica do solo, teor de N em folhas, parâmetros de crescimento e produtividade (Brunetto et al., 2016), entre outros critérios, fertilizantes nitrogenados normalmente são aplicados sobre a superfície do solo, sem incorporação.

A ureia é o fertilizante nitrogenado normalmente mais usado em pomares porque possui elevada concentração de N e menor custo por unidade do nutriente (Brunetto et al., 2016b). Porém, a uréia no solo é rapidamente hidrolisada por enzimas ureases extracelulares produzidas por microrganismos, tais como bactérias e fungos, produzindo carbonato de amônio $(\text{NH}_4^+)_2\text{CO}_3$, que não é estável no solo. Em contato com a água, se decompõe em HCO_3^- , OH^- e NH_4^+ . O NH_4^+ pode reagir com OH^- , estimulando a perda de NH_3 por volatilização, mas parte do NH_4^+ no solo pode ser transformado através da oxidação biológica em nitrito (NO_2^-) e, posteriormente, em nitrato (NO_3^-) (Brunetto et al., 2016a), que normalmente em solos drenados é a forma predominante de N. Porém o NO_3^- no solo é muito móvel e por isso, pode ser facilmente lixiviado, contaminando águas subsuperficiais em pomares (Baram et al., 2016; Nevison et al., 2016). Por isso, normalmente se recomenda aplicar a dose de N parceladamente ao longo de períodos ou estágios fenológicos de maior demanda do pessegueiro pelo N, como ao longo da brotação e florescimento (Brunetto et al., 2016a), em que se acredita que aconteça maior emissão e persistência de raízes no solo, que são mais ativas e responsáveis pela maior absorção de água e nutrientes, como o N (Jordan, 2015). E especialmente, no florescimento, pode ser observada intensa divisão e alongamento celular de órgãos da parte aérea, o que promove incremento de matéria seca, aumentando a demanda pelo N (Ventura et al., 2010).

No entanto, é possível que pessegueiros quando submetidos a aplicação de baixas doses recomendadas de N, por exemplo, 40 kg N ha^{-1} (CQFS-RS/SC, 2016), em uma única vez ou parcelada, especialmente em solo com textura mais argilosa e médios teores de matéria orgânica; absorvam quantidades similares de N do fertilizante. Isso seria desejado, porque diminuiria o custo da aplicação parcelada do fertilizante nitrogenado, o potencial de contaminação de águas e aumentaria a quantidade absorvida de N do fertilizante pelos pessegueiros. Parte do N absorvido pelas raízes poderá ser transportado, preferencialmente, para os órgãos em crescimento, como folhas, ramos do ano e frutos (El-Jendoubi et al., 2013;

Jordan, 2015). Mas, depois da colheita, parte do N acumulado em órgãos anuais poderá ser redistribuído, para órgãos de reserva, como caule, ramos de mais de um ano e, especialmente, às raízes (Rivera et al., 2016; Zhang et al., 2012). Caso sejam grandes as quantidades de N do fertilizante acumuladas no interior dos pessegueiros no ano da aplicação do fertilizante, na safra posterior à aplicação, talvez não seja necessária a aplicação de grandes doses de N no solo, diminuindo a dependência do fertilizante (Jordan et al., 2012) ou mesmo do N do solo, normalmente derivado da mineralização da matéria orgânica e da decomposição de resíduos vegetais (Sabahi et al., 2016; TerAvest et al., 2010).

Porém, a quantidade de N recuperada pelos pessegueiros e a quantidade acumulada em órgãos, no ano de aplicação do fertilizante e no ano posterior, fornecido através de diferentes modos (dose única de N ou parcelada), não é suficientemente conhecido em pomares de pessegueiro, como aqueles destinados a produção de frutos a serem comercializados *in natura*, como os da cultivar Chimarrita. Estas informações podem ser obtidas com confiabilidade usando ^{15}N como traçador (Brunetto et al., 2014). A hipótese do presente estudo é que pessegueiros absorvem e acumulam maiores quantidade de N do fertilizante quando a aplicação é parcelada, mesmo em baixas doses, e que a maior quantidade do N absorvido, no ano de aplicação do N ou na safra seguinte, é derivada de outras fontes de N que não o fertilizante aplicado. O estudo objetivou avaliar a contribuição anual e residual do N derivado da ureia para a nutrição de pessegueiros em produção.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização do experimento e tratamentos

O experimento foi instalado em julho de 2016, em um pomar de pessegueiro da cultivar ‘Chimarrita’ (epibioto), enxertado sobre o porta-enxerto ‘Capdeboscq’ (hipobioto), na densidade de 1.666 plantas por hectare (1,5 m entre plantas e 4 m entre linhas), em sistema de condução Ypsilon, no município de Bento Gonçalves, estado do Rio Grande do Sul, região Sul do Brasil (latitude 29°9’54.50”S; longitude 51°32’3.87”O). O pomar foi implantado em 2009, em um solo Cambissolo Húmico (Sibcs, 2013) e Typic Hapludalf soil (Soil Survey Staff, 2014). O solo antes do transplante das mudas possuía na camada de 0-0.2 m, as seguintes características: argila 310 g kg⁻¹, silte 468 g kg⁻¹ e areia 280 g kg⁻¹; matéria orgânica 26,5 g kg⁻¹; pH em água 5,7 (relação 1:1); Al, Ca e Mg trocáveis 0,0, 7,4 e 2,3 cmol_c dm⁻³, respectivamente (ambos extraídos por KCl 1mol L⁻¹); P e K disponíveis 8,6 e 207 mg dm⁻³ (ambos extraídos por Mehlich-1) e N total de 2,60 g kg⁻¹. O clima da região é subtropical, tipo

Cfa, com precipitação média anual de 1.736mm. Resultados médios de precipitação, temperatura do ar e umidade são apresentados na Tabela S2.

Os tratamentos foram a aplicação de 100% da dose de N aplicada na brotação (100B) e 50% da dose de N aplicada na brotação + 50% da dose de N aplicada no final do florescimento (50B + 50F). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições. Cada repetição foi formada por cinco plantas, sendo as três plantas centrais submetidas à aplicação de N e avaliadas. Em cada planta foi aplicado 54,5 g N planta⁻¹, equivalente a 40 kg N ha⁻¹, que é a dose de N recomendada para solos com 2,6 à 5,0% de matéria orgânica (CQFS-RS/SC, 2016). A fonte de N foi a ureia enriquecida com 3% de átomos ¹⁵N em excesso. A ureia foi aplicada sobre a superfície do solo, sem incorporação em uma área de 1 m², sendo o centro da área o caule do pessegueiro. As plantas de cobertura do solo na área de aplicação da ureia foram eliminadas manualmente no momento da aplicação dos tratamentos. Ao logo do ciclo dos pessegueiros, as plantas de cobertura na região de aplicação dos tratamentos foram dessecadas a cada 30 dias, usando herbicida (princípio ativo glifosato) não residual.

Avaliação e análises

Em 2016 e 2017, na brotação, florescimento, crescimento de frutos, colheita e senescência das plantas foram coletadas 10 folhas completas ao redor de cada planta. Nos dois anos todos os frutos foram contados e coletados. Dez frutos aleatoriamente foram coletados. A polpa foi separada manualmente do caroço. Em 2017, além de todas as coletas e análises de folha e fruto realizadas em 2016, as plantas foram arrancadas com o auxílio de um trator. A parte aérea foi separada em folhas, ramos do ano, ramos de mais de um ano e caule. As raízes foram separadas manualmente do solo e divididas em raízes finas (com diâmetro ≤ 2 mm) e grossas (com diâmetro > 2 mm). As raízes foram lavadas em água corrente e, posteriormente, em água destilada. Todos os órgãos foram pesados para obtenção da massa fresca. Uma subamostra de cada órgão foi coletada e pesada. Folhas, polpa, caroço, ramos do ano, ramos de mais de um ano, caule e raízes foram secos em estufa com ar forçado a 65°C até peso constante e novamente pesados. As amostras de cada órgão foram moídas e reservadas. Em 2016 e 2017, logo depois da colheita dos frutos, na área de projeção da copa onde os tratamentos foram aplicados, amostras de solo foram coletadas nas camadas de 0.0-0.02,5, 0.02,5-0.05, 0.05-0.10 e 0.10-0.20 m. O solo foi seco ao ar, passado em peneira com malha de 2 mm e reservado. As amostras de tecido e solo foram submetidas à análise dos teores totais de N e ¹⁵N por espectrometria de massa (espectrômetro de massa Finnigan MAT, modelo Delta Plus), de acordo com Brunetto (2014).

Cálculos e análise estatística

Com os resultados foram calculados os átomos de ^{15}N em excesso (Equação 1), o N derivado do fertilizante (Ndff) (Equação 2 e 3), o N derivado do solo (Ndfs) (Equação 4) e a recuperação (R) (Equação 5), nas diferentes partes das plantas e o total em cada modo de parcelamento da dose de N (Brunetto et al., 2014):

$$\text{Átomos } ^{15}\text{N} \text{ excesso na amostra (\%)} = \% \text{ átomos } ^{15}\text{N} \text{ na amostra} - 0,3663\% \quad \text{Equação 1}$$

Com a porcentagem de átomos de ^{15}N em excesso na amostra, a quantidade de N total e a porcentagem de ^{15}N no fertilizante aplicado no solo foi possível obter o N derivado do fertilizante (Ndff) (Equações 2 e 3):

$$\text{Ndff (\%)} = (\% \text{ átomos } ^{15}\text{N} \text{ excesso na amostra} / \% \text{ átomos } ^{15}\text{N} \text{ excesso no fertilizante}) \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

$$\text{Ndff (g)} = \text{N total na amostra (g)} \times (\% \text{ átomos } ^{15}\text{N} \text{ excesso na amostra} / \% \text{ átomos } ^{15}\text{N} \text{ excesso no fertilizante}) \quad \text{Equação 3}$$

Posteriormente, com os dados obtidos acima foi possível calcular o N derivado do solo (Ndfs) (Equação 4):

$$\text{Ndfs (\%)} = 100 - \text{Ndff (\%)} \quad \text{Equação 4}$$

Recuperação do N do fertilizante pela planta (R) (Equação 5):

$$\text{R (\%)} = \text{Ndff} / \text{Quantidade N fertilizante aplicado (mg)} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

Os resultados foram testados em relação à normalidade pelo método D'Agostino-Pearson e submetidos à análise de variância. Quando houve significância dos tratamentos foram submetidos ao teste de comparação de média Scott Knott, tomando como base os níveis de significância menor que 5% de erro ($p < 0,05$).

RESULTADOS

N em folhas

Em 2016, as maiores concentrações de N total foram observadas nas folhas coletadas na colheita dos frutos nos pessegueiros submetidos a aplicação de 100B (Figura 1a). As maiores porcentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff foram verificadas nas folhas coletadas na brotação, crescimento de frutos e colheita de frutos, nos pessegueiros submetidos a aplicação de 50B+50F (Figura 1b, 1c). Em 2017, as maiores concentrações de N total foram verificadas nas folhas coletadas no final do florescimento, crescimento dos frutos, colheita dos frutos e senescência das folhas, nos pessegueiros submetidos a aplicação de 100B (Figura 1d). As maiores porcentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff foram observadas, em todas as épocas de coleta, nas folhas dos pessegueiros submetidos a aplicações de 50B+50F (Figuras 1e, 1f). As concentrações de N total e porcentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff em folhas

diminuíram nos dois modos de fornecimento de N, na senescência das folhas (2016) e colheita dos frutos (2017). As concentrações de N total em folhas coletadas em diferentes épocas, em pessegueiros submetidos as aplicações de 100B e 50B+50F foram similares entre os anos de 2016 e 2017. Mas, as porcentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff em folhas coletadas em diferentes épocas nos pessegueiros submetidos às aplicações de 100B e 50B+50F foram maiores no ano de 2016.

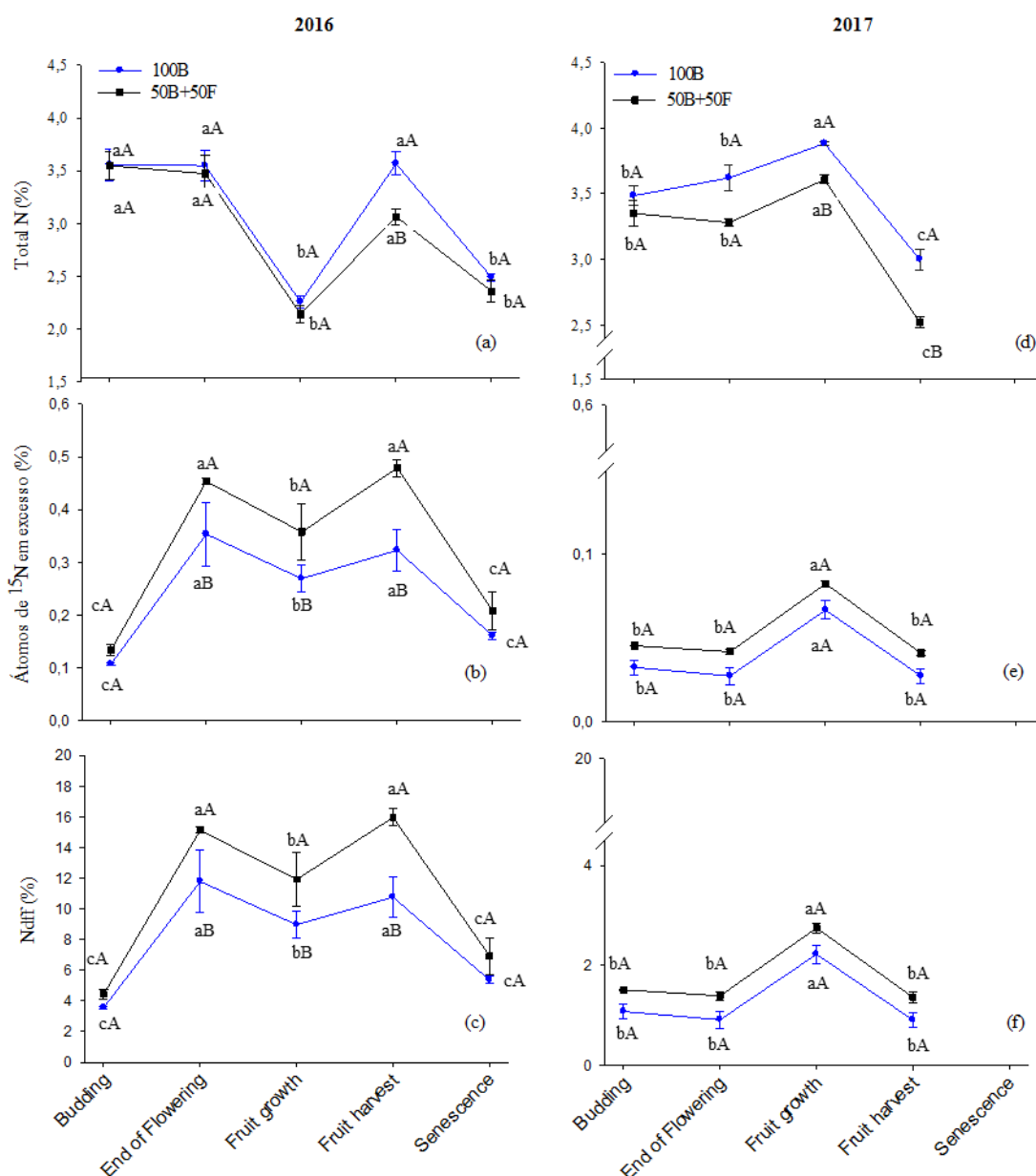


Figura 1. N total, átomos de ^{15}N em excesso e N derivado do fertilizante (Ndff) em folhas de pessegueiro coletadas na brotação, final da floração, crescimento dos frutos, colheita e senescência de folhas em 2016 (a, b, c) e 2017 (d, e, f). Os pessegueiros foram submetidos a aplicação de 40 kg N ha^{-1} na forma de uréia, na brotação (100% da dose na brotação - 100B) e parcelada na brotação e florescimento (50% da dose na brotação e 50% da dose no florescimento - 50B + 50F), em 2016. Na safra 2017, depois da colheita dos frutos, as plantas foram arrancadas. Letras minúsculas diferem entre épocas de colheita e letras maiúsculas diferem entre os modos de parcelamento da dose de N em cada época de coleta pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

N em frutos

As maiores concentrações de N total e percentagens átomos de ^{15}N em excesso e Ndff foram observadas na polpa dos frutos derivados dos pessegueiros submetidos a aplicações de 50B+50F em 2016 e 2017 (Figuras 2a, 2b, 2c, 2d, 2e, 2f). As concentrações de N total e percentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff no caroço dos pêssegos não diferiram estatisticamente entre as aplicações de 100B e 50B+50F, em 2016 e 2017. As concentrações de N total em caroço e polpas dos pêssegos derivados dos pessegueiros submetidos as aplicações de 100B e 50B+50F foram similares entre os anos de 2016 e 2017. Mas, as percentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff em caroços e polpas de pêssegos provenientes de pessegueiros com aplicações de 100B e 50B+50F foram maiores em 2016.

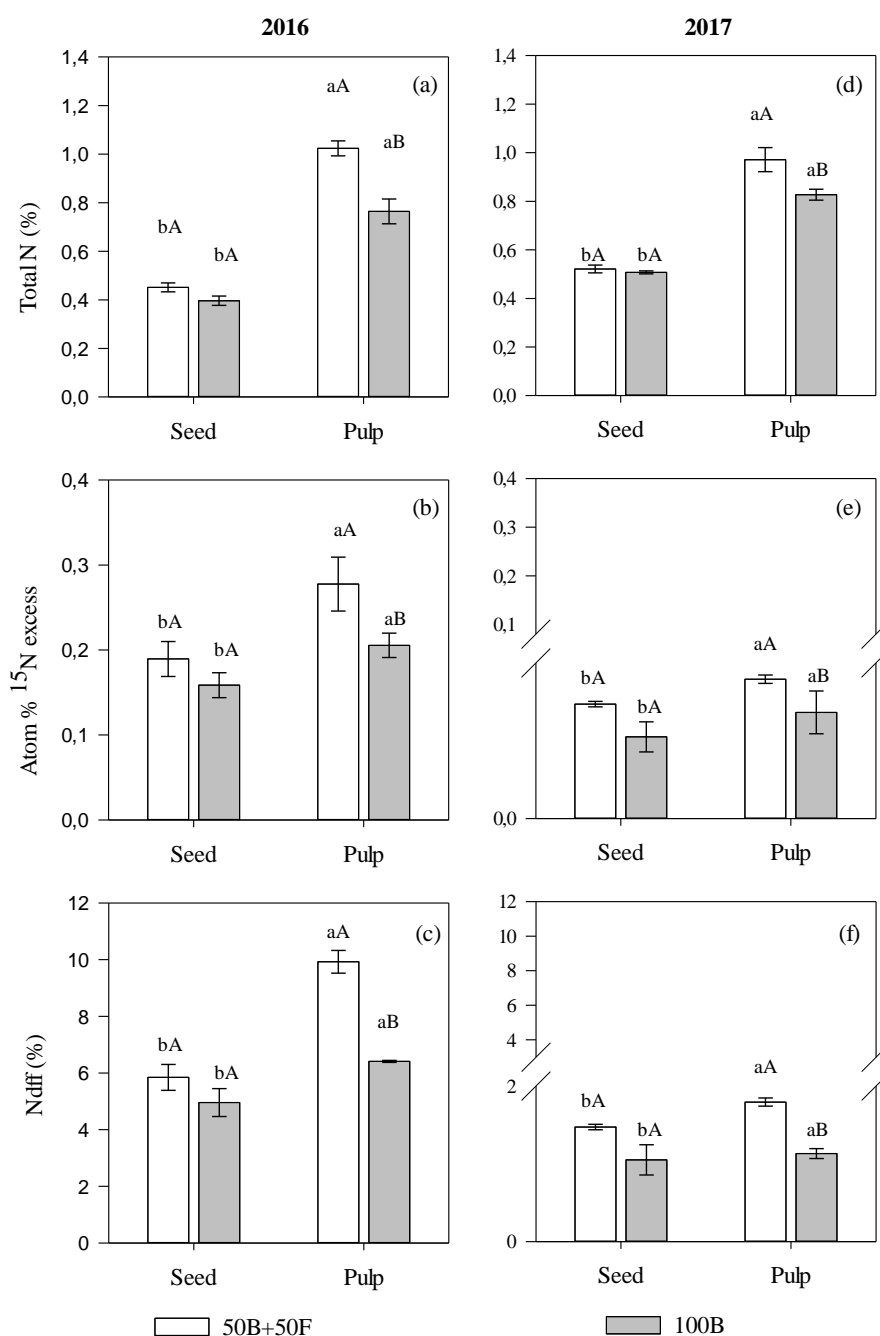


Figura 2. N total, átomos de ¹⁵N em excesso e N derivado do fertilizante (Ndff) em caroço e polpa de pêsegos em 2016 (a, b, c) e 2017 (d, e, f). Os pessegueiros foram submetidos a aplicação de 40 kg N ha⁻¹ na forma de uréia, na brotação (100% da dose na brotação - 100B) e parcelada na brotação e florescimento (50% da dose na brotação e 50% da dose no florescimento - 50B + 50F), em 2016. Em 2017, depois da colheita dos frutos, as plantas foram arrancadas. Letras minúsculas diferem órgãos dentro de cada tratamento e letras maiúsculas diferem o parcelamento da dose de N em cada órgão N pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

N no perfil do solo

Os maiores teores de N total foram observados nas camadas de 0.0-0.02,5, 0.02,5-0.05 e 0.05-0.10 m no solo submetido a aplicação de 50B+50F, em 2016 e 2017 (Figuras 3a, 3d). Os maiores teores de N total foram observados nas camadas mais superficiais do solo submetido a aplicação de 100B e 50B+50F, em 2016 e 2017. As maiores percentagens de átomos de ¹⁵N em

excesso e Ndff foram verificadas em todas as camadas, no solo submetido a aplicações de 50B+50F (Figuras 3a, 3e, 3c, 3d). Mas, as maiores percentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff foram observadas nas camadas de 0.0-0.02,5m no solo com aplicações de 100B e 50B+50F. Porém, o N derivado do fertilizante migrou até a profundidade de 20 cm.

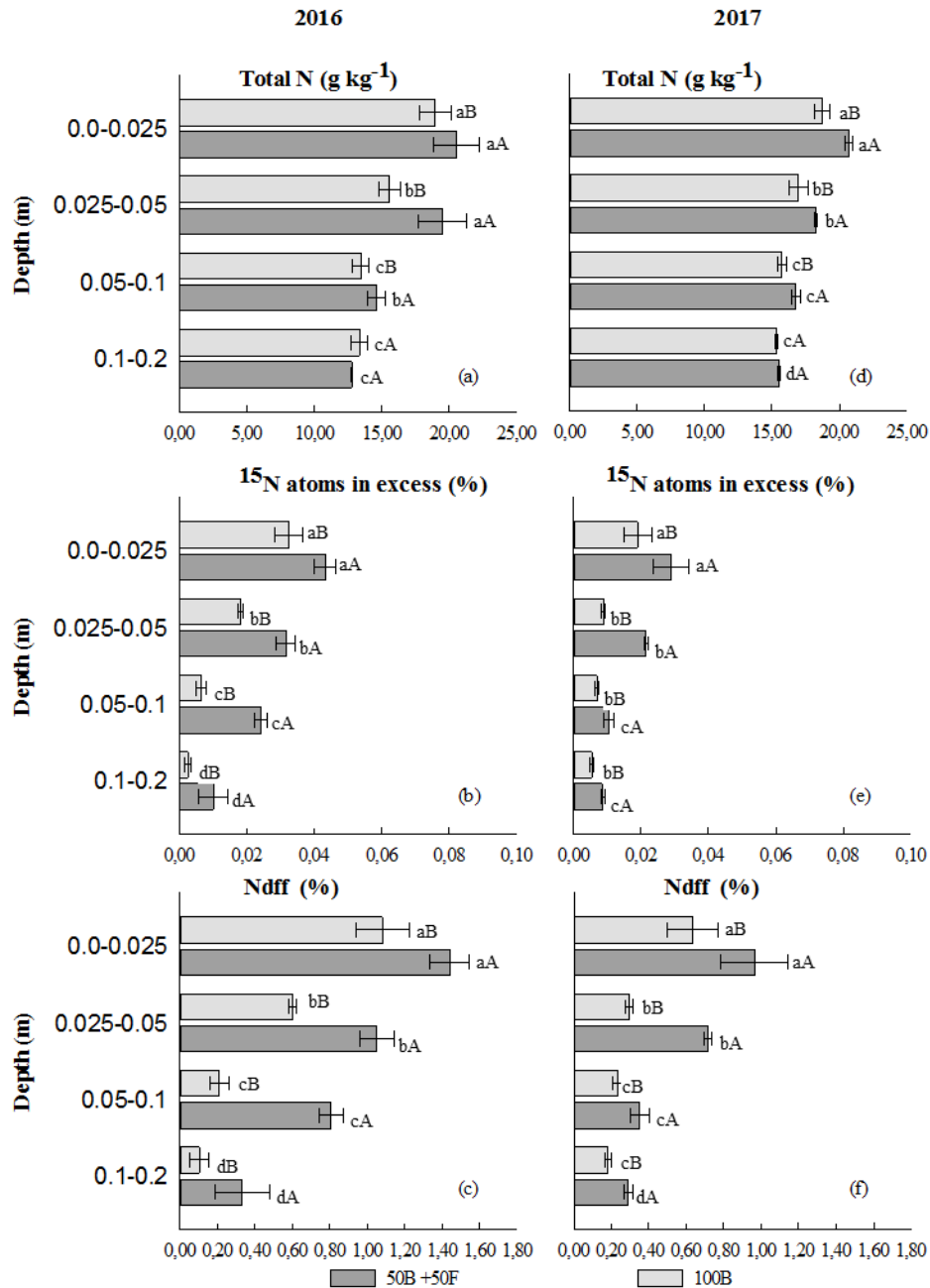


Figura 3. N total, átomos de ^{15}N em excesso e N derivado do fertilizante (Ndff) em camadas de solo cultivado com pessegueiro, em 2016 (a, b, c) e 2017 (d, e, f). Os pessegueiros foram submetidos a aplicação de 40 kg N ha⁻¹ na forma de uréia, na brotação (100% da dose na brotação - 100B) e parcelada na brotação e florescimento (50% da dose na brotação e 50% da dose no florescimento - 50B + 50F), em 2016. Em 2017, depois da colheita dos frutos, as plantas foram arrancadas. *Letras minúsculas diferem camadas dentro de cada modo de parcelamento e letras maiúsculas diferem entre os modos de parcelamento da dose de N em cada ano de coleta pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

Distribuição e recuperação do N aplicado em pessegueiros

As maiores produções de matéria seca foram observadas nos caules, polpas e folhas nos pessegueiros submetidos a aplicação de 50B+50F (Figura 4a). O caule apresentou a maior produção de matéria seca, seguida pela polpa, nos pessegueiros submetidos as aplicações de 100B e 50B+50F. O maior acúmulo de N total foi observado nas folhas, polpa, raízes grossas, caules e caroço dos pêssegos, em pessegueiros submetidos a aplicações de 50B+50F (Figura 4b). O maior acúmulo de N total foi observado em folhas de pessegueiros com as aplicações de 100B e 50B+50F.

Os maiores acúmulos de N_{dff} e N_{dfs} foram observados nas polpas, folhas e raízes grossas dos pessegueiros submetidos às aplicações de 50B+50F (Figuras 4c, 4d). Nos pessegueiros submetidos as aplicações de 50B+50F as maiores quantidade de N_{dff} foram verificadas nas polpas, folhas e raízes grossas. Mas, nos pessegueiros com aplicação de 100B as maiores quantidades de N_{dff} foram observadas nas folhas. As maiores quantidades de N_{dfs} foram verificadas em folhas dos pessegueiros submetidos as aplicações de 100B e 50B+50F, seguido pelas polpas e raízes. Porém, as maiores quantidades de N nestes órgãos e nos demais foram derivadas do solo, porque as percentagens de N_{dff} (figura 4c) dos órgãos foram muito pequenas.

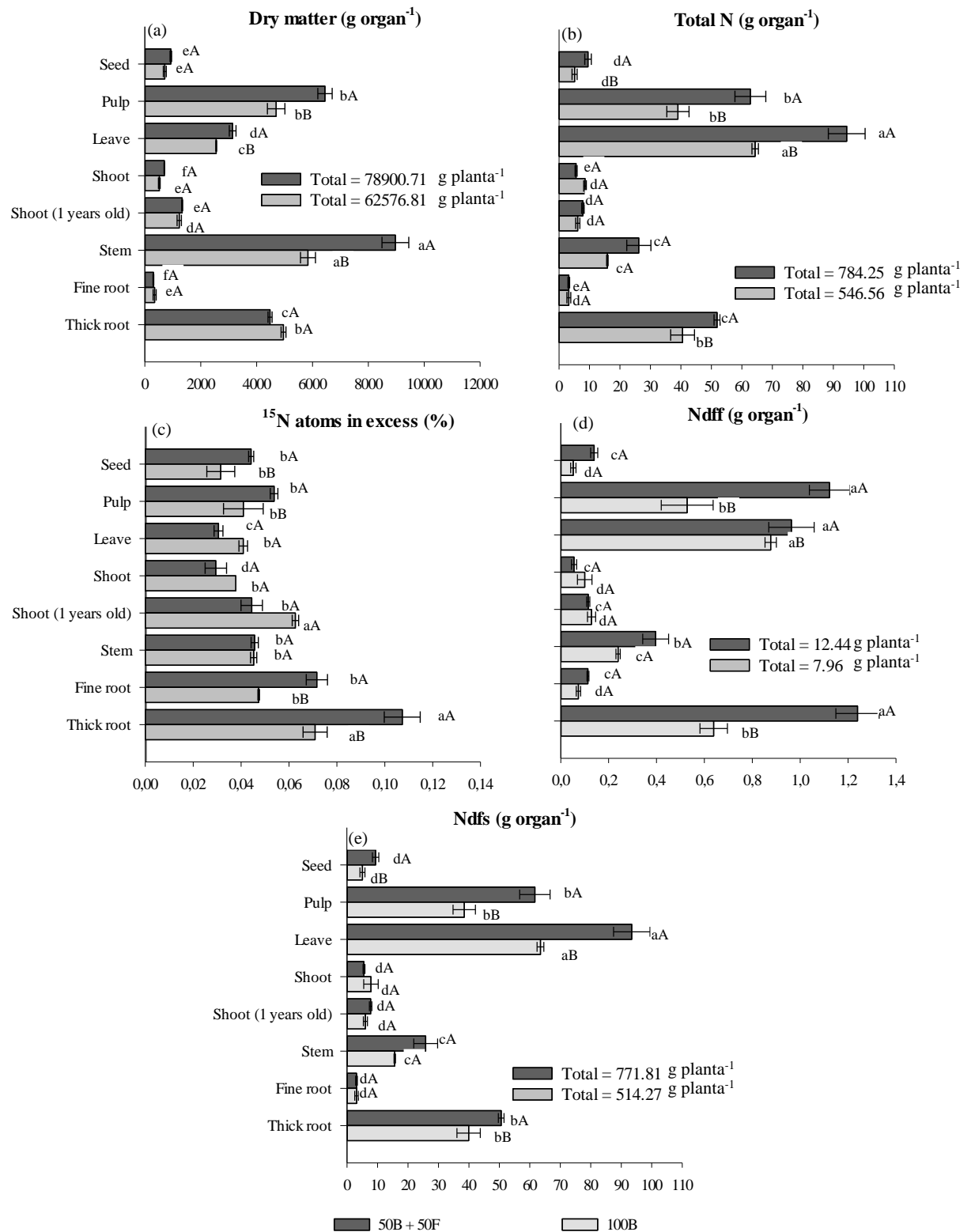


Figura 4. Massa seca dos órgãos (a), N total (b), átomos de ¹⁵N em excesso (c), N derivado do fertilizante (Ndff) (d) e N derivado do solo (Ndfs) (e) em pessegueiro em 2017. Os pessegueiros foram submetidos a aplicação de 40 kg N ha⁻¹ na forma de uréia, na brotação (100% da dose na brotação - 100B) e parcelada na brotação e florescimento (50% da dose na brotação e 50% da dose no florescimento - 50B + 50F), em 2016. Em 2017, depois da colheita dos frutos, as plantas foram arrancadas. Letras minúsculas diferem órgãos dentro de cada modo de parcelamento e letras maiúsculas diferem entre os modos de parcelamento da dose de N pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

N em folhas e frutos

As maiores percentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff na maioria das épocas de coleta de folhas em pessegueiros submetidos às aplicações de 50B+50F, especialmente no ano de aplicação do N (2016), pode ser atribuído ao parcelamento da dose de N, o que aumenta o sincronismo entre a disponibilidade de formas de N mineral no solo, aproximação e absorção delas pelo sistema radicular (Radicetti et al., 2017; Sabahi et al., 2016), o que aumenta o incremento das formas de N no interior da planta, permitindo o diagnóstico pela análise foliar (Pescie et al., 2018). Isso também pode estar associado à emissão de raízes no florescimento de pessegueiros, o que aumenta a área superficial e volume de solo explorado pelo sistema radicular, potencializando a absorção de água e nutrientes, como as formas de N (Brunetto et al., 2016a; Neto et al., 2008; Rocuzzo et al., 2012). Mas também, a intensa divisão e enlogação celular de órgãos anuais da parte aérea, como folhas, ramos, frutos e, por isso, se tornam dreno de nutrientes, como o N (Brunetto et al., 2016a; Carranca et al., 2018).

As menores percentagens de átomos de ^{15}N e Ndff em folhas dos pessegueiros submetidos às aplicações de dois modos de fornecimento de N (100B e 50B+50F), no ano posterior às aplicações (2017), podem ser atribuídas à absorção de parte do N, do fertilizante aplicado, pelas plantas no ano anterior, com posterior exportação do N pelos frutos (Muhammad et al., 2015). Mas também, pode ser por causa das perdas de parte do N aplicado por volatilização, desnitrificação, lixiviação, escoamento superficial (Baram et al., 2016; Dominghetti et al., 2016; Pescie et al., 2018) ou mesmo pela imobilização de parte das formas de N no solo (Bangroo and Malik, 2018; Morugán-Coronado et al., 2019). Mas, os resultados também podem estar associados à mineralização da matéria orgânica do solo e de resíduos em decomposição depositados sobre a superfície do solo, o que aumenta a disponibilidade de formas de N do solo, que podem ser absorvidas, incrementando o N derivado do solo no interior da planta (García-Orenes et al., 2016). Isso justifica em parte as baixas percentagens de Ndff em folhas no ano de aplicação do N (2016), que não ultrapassaram nos dois modos de fornecimento ao longo das épocas de coletas de folhas os 17%; mas, mais ainda no segundo ano após as aplicações do N nos dois modos de fornecimento (2017), em que os valores de Ndff em folhas coletadas em diferentes épocas não ultrapassaram 3%.

A diminuição dos valores de N total, átomos de ^{15}N em excesso e Ndff em folhas na senescência ou mesmo na colheita de frutos pode ter acontecido por causa da degradação de proteínas e posterior redistribuição de formas de N das folhas para órgãos como caules, ramos de mais de um ano ou mesmo até as raízes, que normalmente são órgãos de reservas de N em

frutíferas (Brunetto et al., 2016a; Rocuzzo et al., 2017). Parte deste N acumulado nos órgãos de reserva poderá ser redistribuído para os órgãos anuais em crescimento no ciclo posterior, inclusive diminuindo a dependência da frutífera pelo N aplicado no ano (Carranca et al., 2018; Rocuzzo et al., 2017).

Mas, parte do N derivado das folhas ou mesmo de outros órgãos, que foram provenientes dos dois modos de fornecimento de N no solo foram alocados nos frutos, especialmente, na polpa dos pêssegos e, em menores valores, nos caroços. Isso aconteceu de forma destacada, no ano de aplicação dos modos de fornecimento de N (2016) e no ano posterior (2017), especialmente, quando o N foi fornecido parceladamente (50B+50F), coincidindo com as maiores percentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff nas folhas, o que reforça o maior sincronismo entre as aplicações e absorção do N aplicado. Mas também, esses resultados foram obtidos porque os pessegueiros submetidos à aplicação da dose de N na forma de 50B+50F apresentaram maior produção de frutos, em especial, no ano de aplicação do N (2016) (figura S2). Aliado a isso, as maiores percentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff na polpa dos pêssegos, em relação ao caroço, nos dois modos de fornecimento de N e anos, acontece por causa do maior incremento de massa seca da polpa em relação ao caroço ao longo dos estágios fenológicos, o que ficou evidente na colheita dos frutos no segundo ano de avaliação, em que a produção de massa seca da polpa foi maior que os caroço. Com isso, a polpa se torna maior dreno de N em relação ao caroço, inclusive estimulando a redistribuição de parte do N aplicado e que foi alocado nas caroço, para a polpa (Kuo et al., 2016; Pescie et al., 2018). A maior alocação do N na polpa poderá inclusive estimular a incidência de doenças fúngicas nos pêssegos na árvore no campo ou mesmo depois durante o armazenamento em câmara fria ou na prateleira, durante a comercialização (Brunetto et al., 2015; Bush et al., 2018). Porém, a maior presença do N aplicado na polpa ou caroço dos pêssegos, nos dois modos de fornecimento de N, foi observada no ano de aplicação do fertilizante, corroborando com os resultados de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff em folhas. Mas, a concentração total de N na polpa e caroço nos pêssegos colhidos no segundo ano após a aplicação do N de dois modos foram similares àqueles valores do ano da aplicação do N (2016), o que demonstra que os pessegueiros absorveram N nativo do solo, especialmente, derivado da mineralização da matéria orgânica do solo e da decomposição de resíduos (Bangroo and Malik, 2018; Morugán-Coronado et al., 2019).

N no perfil do solo e sua distribuição e recuperação em pessegueiros

Os maiores valores de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff nas camadas mais superficiais do solo, especialmente, no solo submetido a aplicação parcelada da dose de N (50B+50F) pode ser atribuído à complexação/adsorção de parte do N aplicado em compostos orgânicos da matéria orgânica do solo (Zhang et al., 2015), o que tem sido verificado em pomares submetidos ao fornecimento de doses e épocas de aplicações de N (Brunetto et al., 2016a; Roccuzzo et al., 2017). Com isso, se espera maior disponibilidade de formas de N mineral do solo, especialmente naquele submetido à aplicação parcelada de N (50B+50F), nas camadas mais superficiais do solo, que pode coincidir com uma região do solo normalmente explorada por raízes finais, que são mais ativas e absorvem intensamente água e nutrientes, como o N (Brunetto et al., 2016a). Isso também explica a maior presença de N aplicado na forma parcelada (50B+50F) em folhas e pêssegos.

Por outro lado, parte do N do fertilizante presente na superfície do solo poderá ser transferida pela solução escoada na superfície do solo (Baram et al., 2016) ou mesmo por volatilização, já que as camadas superficiais do solo estão mais próximas da atmosfera, facilitado o fluxo difusivo da NH_3 (Carranca et al., 2018; Dominghetti et al., 2016; Pescie et al., 2018). Além disso, caso aconteça a saturação das camadas superficiais do solo pela água, parte do N do fertilizante poderá ser perdida por desnitrificação nas formas de NO , N_2O e N_2 (Nevison et al., 2016). Destaca-se que parte do N derivado do N fornecido de dois modos, especialmente, no parcelamento, migrou no perfil do solo até a profundidade de 20 cm. Isso provavelmente aconteceu por causa do fluxo descendente de formas de N derivadas do fertilizante, especialmente, NO_3^- , já que este forma complexo de esfera externa com grupos funcionais de partículas reativas do solo, aumentando a sua mobilidade (Sparks, 2018). Isso possibilita o acesso das raízes mais profundas no perfil do solo ao N do fertilizante (Lynch and Wojciechowski, 2015). A migração de formas de N derivadas dos dois modos de fornecimento (100B e 50B+50F), reforçam a hipótese que parte do N aplicado foi perdido, por volatilização, desnitrificação, e inclusive por lixiviação, mesmo em um solo com $26,5 \text{ g kg}^{-1}$ de matéria orgânica na camada de 0-20 cm, explicando os baixos valores de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff nas camadas do solo, mas também nas folhas e frutos, no primeiro ano de avaliação (2016) e nos órgãos de pessegueiros no segundo ano de avaliação (2017).

Os pessegueiros submetidos a aplicação de N, especialmente, quando fornecido parceladamente (50B+50F), em relação à dose inteira aplicada em uma única vez (100B), acumularam as maiores quantidades de N total, Ndff e Ndffs na polpa dos pêssegos e folhas, que são órgãos anuais e estão em intenso crescimento e aumento de massa seca ao longo dos

estágios fenológicos (Pescie et al., 2018; Roccuzzo et al., 2017), tornando-se dreno de N, o que pode ser observado pela sua concentração de N total ou mesmo pelas percentagens de átomos de ^{15}N em excesso e Ndff (Figure 4c e 4d) o que indica que parte do N do fertilizante aplicado, independentemente do modo de fornecimento e parte do N derivado de fontes do solo são exportadas pelo fruto, mesmo no segundo ano após a aplicação do N. E parte do N do fertilizante aplicado e do solo poderão permanecer no pomar, por causa da senescência das folhas, seguido de posterior decomposição e liberação do N contido no tecido para o solo (Brunetto et al., 2018; Melo et al., 2016).

As raízes grossas dos pessegueiros submetidos aos dois modos de fornecimento acumularam Ndff e Ndffs , que se refletiu no acúmulo de N total, e apresentaram elevada produção de matéria seca. O Ndff nas raízes grossas pode ser derivado das aplicações dos modos de N no ano anterior, reforçando que as raízes normalmente acumulam N, especialmente, na forma de proteínas, que podem ser degradadas e o N redistribuído para órgãos de crescimento (Carranca et al., 2018; Roccuzzo et al., 2017). Somado a isso, o Ndff nas raízes pode ser derivado da redistribuição do N acumulado em órgãos anuais e perenes no ano anterior (Brunetto et al., 2016a; Roccuzzo et al., 2017) e, no presente estudo, devido à senescência e decomposição de folhas; mas também, da decomposição de raízes senescentes dos pessegueiros no ano anterior. O N presente em todos os órgãos dos pessegueiros submetidos aos modos de fornecimento (100B e 50B+50F), no segundo ano foi derivado de outras fontes que não o fertilizante, provavelmente, da mineralização da matéria orgânica e decomposição de resíduos, porque na maioria dos órgãos a percentagem do Ndff não ultrapassou 2,5%, sendo apenas nas raízes grossas observado valores próximos a 3,5% (Figure S1). Esses resultados reforçam a probabilidade de perdas de formas de N derivadas dos modos de aplicação de N e mostram claramente que o N precisa ser aplicado anualmente, porque o seu efeito residual no solo e no interior da planta é muito pequeno. Além disso, estes dados indicam a necessidade da manutenção dos teores de matéria orgânica do solo através de práticas de manejo como o mínimo revolvimento do solo, adubação orgânica, cultivo de plantas de cobertura do solo no interior do pomar e manutenção dos seus resíduos sobre o solo (Baldi et al., 2016; Brunetto et al., 2014; Radicetti et al., 2017).

CONCLUSÃO

Pessegueiros alocaram mais N do fertilizante em folhas e frutos (polpa e caroço) no ano de sua aplicação no solo e no ano seguinte, quando a dose de N foi aplicada parceladamente na brotação e florescimento. No ano seguinte a aplicação do N (2017) as maiores quantidades de N derivado do fertilizante foram observadas, especialmente, em folhas e frutos (órgãos anuais) e raízes grossas (órgão perene), em especial, quando a dose de N foi aplicada parceladamente na brotação e florescimento. Porém, no ano de aplicação e, especialmente no ano seguinte a aplicação, independente do modo de fornecimento do fertilizante, o N presente nos pessegueiros foi derivado de outras fontes.

REFERÊNCIAS

- Baldi, E., Marcolini, G., Quartieri, M., Sorrenti, G., Muzzi, E., Toselli, M., 2016. Erratum to: Organic fertilization in nectarine (*Prunus persica* var. *nucipersica*) orchard combines nutrient management and pollution impact (*Nutr Cycl Agroecosyst*, (2016), 105, (39-50), 10.1007/s10705-016-9772-3). *Nutr. Cycl. Agroecosystems* 106, 129–130. doi:10.1007/s10705-016-9785-y
- Bangroo, S., Malik, A.R., 2018. Soil Organic Carbon and Total Nitrogen in Temperate Apple Orchards of South Kashmir. *Int. J. Ecol. Environ. Sci.*
- Baram, S., Couvreur, V., Harter, T., Read, M., Brown, P.H., Kandelous, M., Smart, D.R., Hopmans, J.W., 2016. Estimating Nitrate Leaching to Groundwater from Orchards: Comparing Crop Nitrogen Excess, Deep Vadose Zone Data-Driven Estimates, and HYDRUS Modeling. *Vadose Zo. J.* 15, 0. doi:10.2136/vzj2016.07.0061
- Brunetto, G., Ceretta, C.A., Bastos de Melo, G.W., Kaminski, J., Trentin, G., Giroto, E., Ferreira, P.A.A., Miotto, A., Trivelin, P.C.O., 2014. Contribution of nitrogen from agricultural residues of rye to ‘Niagara Rosada’ grape nutrition. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 169, 66–70. doi:10.1016/J.SCIENTA.2014.02.019
- Brunetto, G., Ceretta, C.A., de Melo, G.W.B., Giroto, E., Ferreira, P.A.A., Lourenzi, C.R., da Rosa Couto, R., Tassinaria, A., Hammerschmitt, R.K., da Silva, L.O.S., Lazzaretti, B.P., de Souza Kulmann, M.S., Carranca, C., 2016a. Contribution of nitrogen from urea applied at different rates and times on grapevine nutrition. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 207, 1–6. doi:10.1016/j.scienta.2016.05.002
- Brunetto, G., Melo, G.W.B. De, Toselli, M., Quartieri, M., Tagliavini, M., 2015. The role of mineral nutrition on yields and fruit quality in grapevine, PEAR AND APPLE. *Rev. Bras. Frutic.* 37, 1089–1104. doi:10.1590/0100-2945-103/15
- Brunetto, G., Oliveira, B.S., Ambrosini, V.G., Couto, R. da R., Sete, P.B., Santos Junior, E. dos, Loss, A., Silva, L.O.S. da, Gatiboni, L.C., Brunetto, G., Oliveira, B.S., Ambrosini, V.G., Couto, R. da R., Sete, P.B., Santos Junior, E. dos, Loss, A., Silva, L.O.S. da, Gatiboni, L.C., 2018. Nitrogen availability in an apple orchard with weed management. *Ciência Rural* 48. doi:10.1590/0103-8478cr20160895
- Brunetto, G., Rozane, D.E., Wellington, G., Melo, B. De, Zalamena, J., Giroto, E., Lourenzi, C., Couto, R.R., Tiecher, T., Kaminski, J., 2016b. Capítulo IX.
- Bush, E.A., Yoder, K.S., Smith, A.H., 2018. Brown Rot on Peach and Other Stone Fruits. *Virginia Coop. Ext.* 1–6.
- Carranca, C., Brunetto, G., Tagliavini, M., 2018. Nitrogen Nutrition of Fruit Trees to Reconcile

- Productivity and Environmental Concerns. *Plants* 7, 4. doi:10.3390/plants7010004
- CQFS-RS/SC, 2016. Manual de Calagem e Adubação do RS/SC, 11th ed. Porto Alegre.
- Damour, G., Dorel, M., Quoc, H.T., Meynard, C., Risède, J.M., 2014. A trait-based characterization of cover plants to assess their potential to provide a set of ecological services in banana cropping systems. *Eur. J. Agron.* 52, 218–228. doi:10.1016/j.eja.2013.09.004
- Dominghetti, A.W., Guelfi, D.R., Guimarães, R.J., Caputo, A.L.C., Spehar, C.R., Faquin, V., Dominghetti, A.W., Guelfi, D.R., Guimarães, R.J., Caputo, A.L.C., Spehar, C.R., Faquin, V., 2016. Nitrogen loss by volatilization of nitrogen fertilizers applied to coffee orchard. *Ciência e Agrotecnologia* 40, 173–183. doi:10.1590/1413-70542016402029615
- El-Jendoubi, H., Abadía, J., Abadía, A., 2013. Assessment of nutrient removal in bearing peach trees (*Prunus persica* L. Batsch) based on whole tree analysis. *Plant Soil* 369, 421–437. doi:10.1007/s11104-012-1556-1
- García-Orenes, F., Roldán, A., Morugán-Coronado, A., Linares, C., Cerdà, A., Caravaca, F., 2016. Organic Fertilization in Traditional Mediterranean Grapevine Orchards Mediates Changes in Soil Microbial Community Structure and Enhances Soil Fertility. *L. Degrad. Dev.* 27, 1622–1628. doi:10.1002/ldr.2496
- Jannoyer, M.L., Le Bellec, F., Lavigne, C., Achard, R., Malézieux, E., 2011. Choosing cover crops to enhance ecological services in orchards: A multiple criteria and systemic approach applied to tropical areas. *Procedia Environ. Sci.* 9, 104–112. doi:10.1016/j.proenv.2011.11.017
- Jordan, M.-O., 2015. C depletion and tree dieback in young peach trees: a possible consequence of N shortage? *Ann. For. Sci.* 72, 529–537. doi:10.1007/s13595-015-0466-9
- Jordan, M.O., Wendler, R., Millard, P., 2012. Autumnal N storage determines the spring growth, N uptake and N internal cycling of young peach trees. *Trees - Struct. Funct.* 26, 393–404. doi:10.1007/s00468-011-0600-8
- Kuo, D., XueMei, W., BoLang, C., ZhongPing, C., XueFeng, W., 2016. Characteristics on nitrogen absorption and accumulation of Korla fragrant pear tree. *Southwest China J. Agric. Sci.* 29, 847–851.
- Lynch, J.P., Wojciechowski, T., 2015. Opportunities and challenges in the subsoil: pathways to deeper rooted crops. *J. Exp. Bot.* 66, 2199–2210. doi:10.1093/jxb/eru508
- Melo, G.W.B. de, Sete, P.B., Ambrosini, V.G., Freitas, R.F., Basso, A., Brunetto, G., 2016. Nutritional status, yield and composition of peach fruit subjected to the application of organic compost. *Acta Sci. Agron.* 38, 103. doi:10.4025/actasciagron.v38i1.25638
- Morugán-Coronado, A., García-Orenes, F., McMillan, M., Pereg, L., 2019. The effect of moisture on soil microbial properties and nitrogen cyclers in Mediterranean sweet orange orchards under organic and inorganic fertilization. *Sci. Total Environ.* 655, 158–167. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.11.174
- Muhammad, S., Sanden, B.L., Lampinen, B.D., Saa, S., Siddiqui, M.I., Smart, D.R., Olivos, A., Shackel, K.A., DeJong, T., Brown, P.H., 2015. Seasonal changes in nutrient content and concentrations in a mature deciduous tree species: Studies in almond (*Prunus dulcis* (Mill.) D. A. Webb). *Eur. J. Agron.* 65, 52–68. doi:10.1016/J.EJA.2015.01.004
- Neto, C., Carranca, C., Clemente, J., de Varennes, A., 2008. Nitrogen distribution, remobilization and re-cycling in young orchard of non-bearing “Rocha” pear trees. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 118, 299–307. doi:10.1016/j.scienta.2008.06.023
- Nevison, C., Hess, P., Riddick, S., Ward, D., 2016. Denitrification, leaching, and river nitrogen export in the Community Earth System Model. *J. Adv. Model. Earth Syst.* 8, 272–291. doi:10.1002/2015MS000573
- Pescie, M.A., Borda, M.P., Ortiz, D.P., Landriscini, M.R., Lavado, R.S., 2018. Absorption, distribution and accumulation of nitrogen applied at different phenological stages in

- southern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* interspecific hybrid). *Sci. Hortic.* (Amsterdam). 230, 11–17. doi:10.1016/j.scienta.2017.11.005
- Radicetti, E., Campiglia, E., Marucci, A., Mancinelli, R., 2017. How winter cover crops and tillage intensities affect nitrogen availability in eggplant. *Nutr. Cycl. Agroecosystems* 108, 177–194. doi:10.1007/s10705-017-9849-7
- Rivera, R., Bañados, P., Ayala, M., 2016. Distribution of 15N applied to the soil in the ‘Bing’/‘Gisela®6’ sweet cherry (*Prunus avium* L.) combination. *Sci. Hortic.* (Amsterdam). 210, 242–249. doi:10.1016/j.scienta.2016.06.035
- Rocuzzo, G., Scandellari, F., Allegra, M., Torrissi, B., Stagno, F., Mimmo, T., Zanutelli, D., Gioacchini, P., Millard, P., Tagliavini, M., 2017. Seasonal dynamics of root uptake and spring remobilisation of nitrogen in field grown orange trees. *Sci. Hortic.* (Amsterdam). 226, 223–230. doi:10.1016/j.scienta.2017.08.010
- Rocuzzo, G., Zanutelli, D., Allegra, M., Giuffrida, A., Torrissi, B.F., Leonardi, A., Quiñones, A., Intrigliolo, F., Tagliavini, M., 2012. Assessing nutrient uptake by field-grown orange trees. *Eur. J. Agron.* 41, 73–80. doi:10.1016/j.eja.2012.03.011
- Sabahi, H., Jamian, S.S., Ghashghae, F., 2016. Assessment of urea coated with pomegranate fruit powder as N slow-release fertilizer in maize. *J. Plant Nutr.* 39, 2092–2099. doi:10.1080/01904167.2016.1193607
- Soil Survey Staff, 2014. *Soil Survey Staff - Keys to Soil Taxonomy*, Twelfth Ed. ed. Washington D.C.
- Sparks, D.L., 2018. Kinetics and Mechanisms of Chemical Reactions at the Soil Mineral/Water Interface, in: *Soil Physical Chemistry*. CRC Press, pp. 135–192. doi:10.1201/9780203739280-4
- TerAvest, D., Smith, J.L., Carpenter-Boggs, L., Hoagland, L., Granatstein, D., Reganold, J.P., 2010. Influence of orchard floor management and compost application timing on nitrogen partitioning in apple trees. *HortScience* 45, 637–642.
- Ventura, M., Scandellari, F., Bonora, E., Tagliavini, M., 2010. Nutrient release during decomposition of leaf litter in a peach (*Prunus persica* L.) orchard. *Nutr. Cycl. Agroecosystems* 87, 115–125. doi:10.1007/s10705-009-9317-0
- Zhang, L., Han, M., Zhao, C., Liu, C., Zhang, F., Zhang, L., Li, B., 2012. Nitrogen Study on Absorption, Distribution and Utilization of Nitrogen Applied in Early Summer in Red Fuji Apple. *J. Plant Nutr.* 35, 1557–1571. doi:10.1080/01904167.2012.689914
- Zhang, Y., Zhang, J., Zhu, T., Müller, C., Cai, Z., 2015. Effect of orchard age on soil nitrogen transformation in subtropical China and implications. *J. Environ. Sci.* 34, 10–19. doi:10.1016/J.JES.2015.03.005

SUPPLEMENTARY

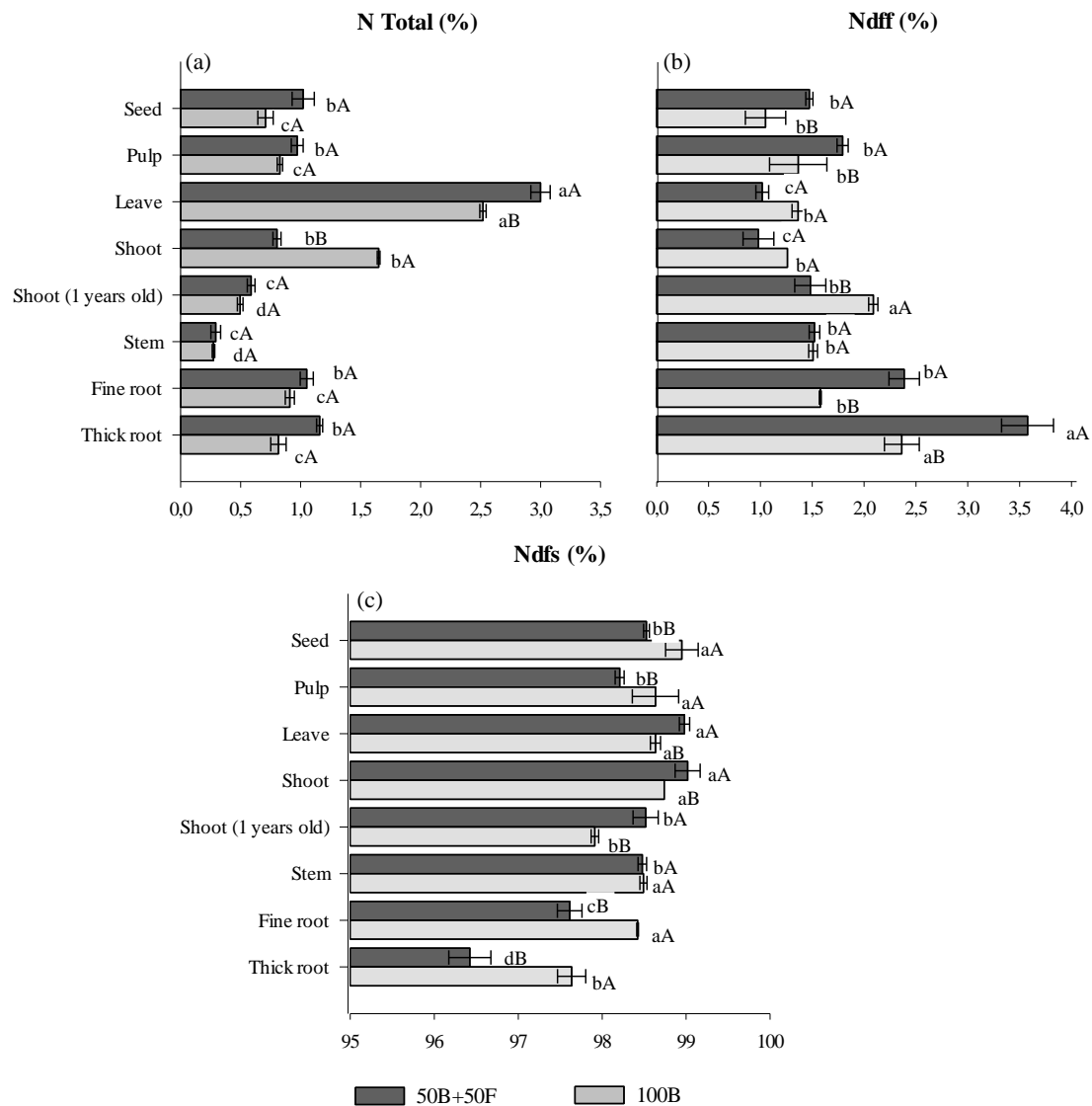


Figure S1. N total (a), N derivado do fertilizante (b) e N derivado do solo (c) Os pessegueiros foram submetidos a aplicação de 40 kg N ha⁻¹ na forma de uréia, na brotação (100% da dose na brotação - 100B) e parcelada na brotação e florescimento (50% da dose na brotação e 50% da dose no florescimento - 50B + 50F), em 2016. Em 2017, depois da colheita dos frutos, as plantas foram arrancadas* Letras minúsculas diferem órgãos dentro de cada modo de parcelamento e letras maiúsculas diferem entre os modos de parcelamento da dose de N em cada órgão pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

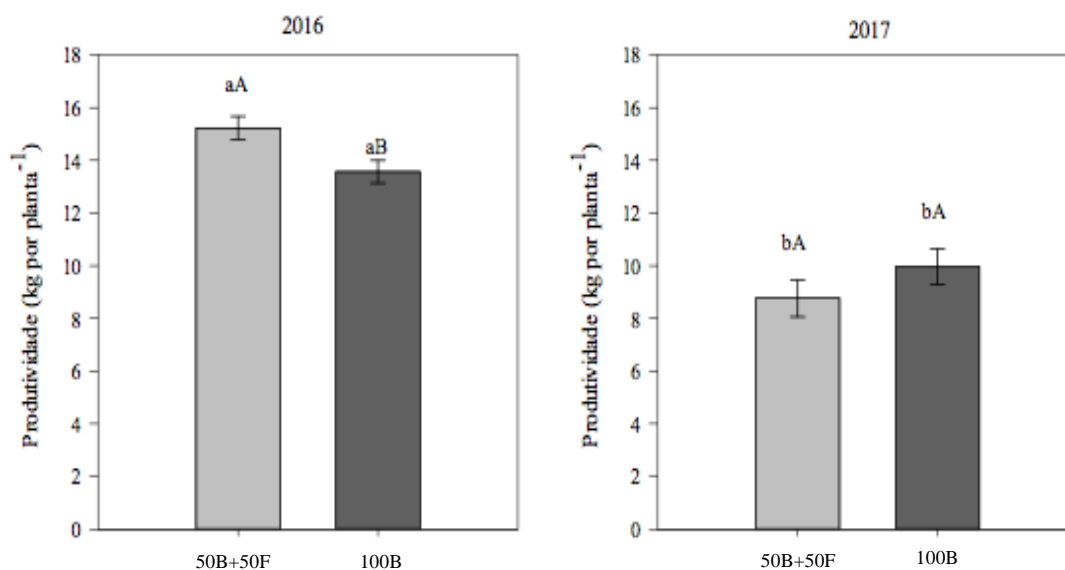


Figure S2- Produção em 2016 e 2017 de pessegueiros foram submetidos a aplicação de 40 kg N ha⁻¹ na forma de uréia, na brotação (100% da dose na brotação - 100B) e parcelada na brotação e florescimento (50% da dose na brotação e 50% da dose no florescimento - 50B + 50F), em 2016. Em 2017, depois da colheita dos frutos, as plantas foram arrancadas *Letras minúsculas diferem produtividade de cada tratamento entre os anos e letras maiúsculas comparam a produtividade de cada tratamento em cada ano pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$).

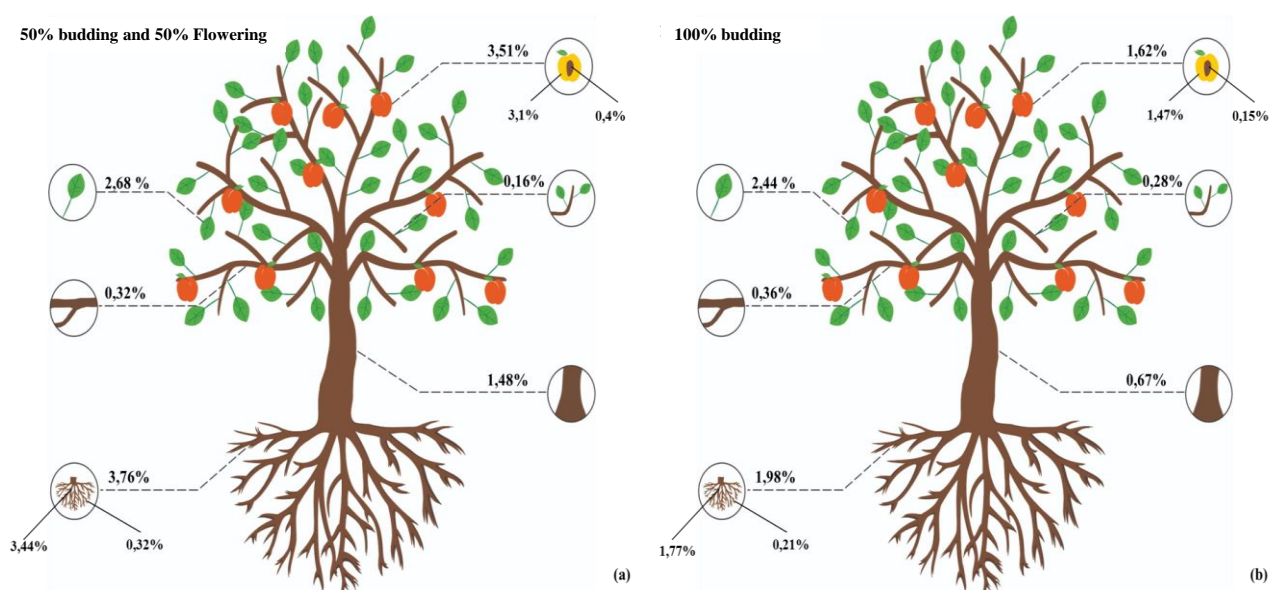


Figure S3- Recuperação de N derivado do fertilizante (%) em órgãos de pessegueiros submetidos a aplicação de 40 kg N ha⁻¹ na forma de uréia, na brotação (100% da dose na brotação - 100B) e parcelada na brotação e florescimento (50% da dose na brotação e 50% da dose no florescimento - 50B + 50F).

Tabela S1. Médias mensais de precipitação, temperatura do ar e umidade relativa do ar, durante os meses de condução do experimento no ano de 2016 e 2017.

Mês	Estágio fenológico	Temperatura média do ar (°C)		Precipitação (mm)		Umidade Relativa do ar (%)	
		2016	2017	2016	2017	2016	2017
Fevereiro	Início da senescência	22,6	22,2	146	147	79,2	79,7
Junho	Brotação	10,0	13,8	7	160	78,2	81,5
Julho	Florescimento	12,8	14,5	192	29	77,5	69,5
Setembro	Crescimento dos frutos	14,2	19,1	84	107	74,1	73,9
Novembro	Início da frutificação	18,6	18,2	104	1620	70,9	70,4

6. DISCUSSÃO GERAL

O Brasil possui regiões com condições edafoclimáticas favoráveis para a produção de pêssegos destinados à indústria de conservas ou de mesa para consumo *in natura*. Mas, apesar de cultivares de pessegueiros serem cultivadas no país, especialmente, na região Sul do Brasil, que possui a maior área cultivada, a produtividade ainda é baixa, com média próxima de 12 Mg ha⁻¹.

Um dos motivos que pode explicar, em parte, essa baixa produtividade é o fato que o pessegueiros são cultivado em solos que nem sempre possuem disponibilidade adequada de formas de N nativo, capazes de suprirem a necessidade das plantas. O N é o nutriente que normalmente mais impacta a produtividade e qualidade dos pêssegos. A necessidade de alicação e as doses de fontes de fertilizantes nitrogenados podem ser definidas por critérios de predição de adubação, como a análise de solo, análise de tecido (normalmente folhas), expectativa de produtividade, crescimento vegetativo das plantas, etc. (CQFS-RS/SC, 2016).

Quando o fertilizante nitrogenado é aplicado, na maioria das vezes a recuperação do N, seja por pessegueiros jovens em crescimento ou adultos em produção, é baixa. Por isso, torna-se necessário escolher estratégias para aumentar a recuperação do N aplicado, em que se pode destacar a seleção de porta-enxertos ou cultivares mais eficientes na absorção, as fontes de N e os melhores modos/épocas de aplicação de N. Com isso, pode-se obter maior produtividade, frutos com melhores parâmetros de qualidade e menor potencial de contaminação, por exemplo, de águas, especialmente pelo NO₃⁻.

A avaliação dos parâmetros cinéticos de absorção que são velocidade máxima - V_{max} , constante de afinidade - K_m , concentração mínima de nutriente na solução - C_{min} e Influxo máximo - I_{max} permite selecionar porta-enxertos de pessegueiros e cultivares mais eficientes na absorção de N. Para isso, o primeiro desafio foi desenvolver uma metodologia que permitisse esgotar as reservas internas de N do pessegueiro, pois, até o presente momento, as metodologias existentes foram desenvolvidas para culturas anuais, normalmente, em períodos de crescimentos iniciais após a germinação. Com base nesta problemática foram realizados o Estudos 1 e 2 com o objetivo de determinar o melhor período de esgotamento de reservas internas de N, permitindo a estimativa dos parâmetros cinéticos relacionados à absorção de N em porta-enxertos (Estudo 1) ou em cultivares (Estudo 2) de pessegueiros.

Nos Estudo 1 e 2 observou-se que o esgotamento das reservas internas durante 30 dias em solução de CaSO₄ se mostrou eficiente para esgotar as reservas internas de N, bem como a

avaliação da marcha cinética durante 60 horas de coleta permitiram a obtenção de valores dos parâmetros cinéticos relacionados à absorção de formas de N. O porta-enxerto Tsukuba 1 apresentou menor valor de C_{\min} e maior valor de V_{\max} que as cultivares Aldrighi e Clone 15, indicando que a cultivar Tsukuba I possui maior aptidão/potencial de ser cultivada em solos com baixa disponibilidade de N nativo ou ainda pode ser submetida à adição de menores doses de fertilizantes. No Estudo 2 observou-se que os porta-enxertos possuem capacidades de absorção de formas de N distintas e que os parâmetros cinéticos de absorção de N estão relacionados com parâmetros morfológicos como a massa seca de folhas.

Entretanto, na cultura do pessegueiro, os porta-enxertos são enxertados com outras cultivares copa no viveiro e depois são transplantados a campo, indicando a necessidade de estudar se as características acrescentadas pela cultivar copa influenciariam os parâmetros de absorção de N do porta-enxerto. Assim, o Estudo 3 teve objetivo de avaliar se a enxertia do porta-enxerto Okinawa com a cultivar copa Chimarrita modifica os parâmetros cinéticos relacionados a absorção de N. Verificou-se que o porta-enxerto 'Okinawa' enxertado com 'Chimarrita' foi mais eficiente na absorção de NO_3^- e NH_4^+ , porque apresentou os menores valores de K_m e C_{\min} para NO_3^- e o maior valor de V_{\max} para NH_4^+ , quando comparado ao porta-enxerto 'Okinawa' sem enxerto. Além disso, os parâmetros morfológicos juntamente com os fisiológicos se relacionam fortemente com os parâmetros cinéticos de absorção de N em pessegueiro, o que permite que os parâmetros morfológicos e fisiológicos possam ser usados como indicativos ou complementares sobre os parâmetros cinéticos, especialmente para o caso das cultivares de pessegueiro que já estão no mercado, os parâmetros morfológicos e fisiológicos.

Após a seleção de porta-enxertos e o transplante de pessegueiros, e quando diagnosticada a necessidade da aplicação de fertilizantes nitrogenados, a ureia é o fertilizante mais utilizado, porque possui elevado teor de N e menor custo por unidade do nutriente. Porém, possui rápida hidrólise, potencializando as perdas de N por volatilização ou mesmo por lixiviação, o que pode diminuir a recuperação de N pelas plantas. Por isso, a aplicação de fontes orgânicas, como o composto orgânico, é uma alternativa como fonte de N aos pessegueiros.

No caso de pomar em crescimento, parte do N aplicado, seja na forma de ureia ou composto orgânico, pode ser absorvida pelas plantas que coabitam o pomar. Caso isso aconteça, a quantidade de N recuperada pelos pessegueiros poderá ser ainda menor. Por isso foi elaborado o Estudo 4 com o objetivo de avaliar a absorção de N e os parâmetros fisiológicos em pessegueiros jovens cultivados em solo, com e sem presença de *Paspalum notatum*. Os pessegueiros cultivados com aplicação de ureia absorveram maior quantidade de N, quando

comparado à aplicação de composto orgânico, mesmo na presença de *Paspalum notatum*. O *Paspalum notatum* diminuiu a absorção de N pelos pessegueiros e, conseqüentemente, os teores de pigmentos fotossintéticos dos pessegueiros, estimulando a antecipação da senescência em cerca de 30 dias. Mas, em nenhum tratamento houve redução significativa da produção de matéria seca total dos pessegueiros.

Entretanto, a campo sem restrição de solo explorado pelas raízes, pode ser que a competição com a espécie de planta de cobertura estimule o pessegueiro a inicialmente investir mais recursos em crescimento de raízes em profundidade, talvez retardando o crescimento da parte aérea no primeiro ano, o que seria compensado no segundo ano de crescimento; visto que o pessegueiro poderia adquirir o N necessário para o crescimento da parte aérea explorando camadas mais profundas do solo. Dessa forma, recomenda-se a aplicação de ureia como fonte de N na fase de crescimento do pessegueiro, e nos primeiros dois anos de cultivo, manter as plantas de cobertura roçadas frequentemente na linha a fim de evitar a competição por N.

Finalmente, quando o pomar atinge a fase adulta e começa a produzir, quando diagnosticada a necessidade, fertilizantes nitrogenados como a ureia são aplicados sobre o solo, sem incorporação, em mais de um estágio fenológico. Como, algumas vezes a quantidade de N recuperada do fertilizante é pequena porque o N foi aplicado em estágio fenológico ou período de baixa demanda pela planta, estudou-se o efeito da aplicação em estágios fenológicos de maior demanda, e se o N derivado do fertilizante residual imobilizado no solo poderia ser absorvido pelo pessegueiro no ano seguinte. Através do Estudo 5 verificou-se que os pessegueiros recuperam mais N do fertilizante em folhas e frutos (polpa e caroço), no ano de sua aplicação no solo e no ano seguinte, quando a dose de N foi aplicada parceladamente na brotação e florescimento. No ano seguinte a aplicação do N (2017) as maiores quantidades de N derivado do fertilizante foram observadas especialmente em folhas e frutos (órgãos anuais) e raízes grossas (órgão perene), em especial, quando a dose de N foi aplicada parceladamente na brotação e florescimento. Além disso, no ano de aplicação do N, parceladamente ou dose inteira, o N presente nos pessegueiros foi derivado de outras fontes, e o mesmo ocorreu no ano seguinte à aplicação, o que justifica, quando for o caso, aplicações anuais de N.

Apesar da diferença estatística entre a recuperação do N em dose única e parcelada, o aumento do N recuperado no fruto é benéfico do ponto de vista de qualidade de fruto, mas é preciso verificar se há aumento de produtividade sem maior incidência de doenças ou diminuição do tempo em que o pêssego permanecerá sadio na prateleira. Além disso, é necessário calcular se a aplicação parcelada do N é economicamente viável para o agricultor, considerando o gasto com maquinário e mão de obra.

Em resumo, concluímos que para aumentar a recuperação de N em pessegueiro, o primeiro passo é selecionar cultivares que sejam capazes de absorver N em grande quantidade (alto V_{\max} e IL) e/ou em concentrações mais baixas (baixo K_m e C_{\min}). Em seguida, na fase de crescimento, a adubação com ureia é interessante, porém, deve-se atentar para a presença de plantas de cobertura, como o *Paspalum notatum*, que poderão competir pelo N e antecipar a senescência foliar, sendo então prudente manter a linha de plantio roçada nos primeiros dois anos. E por fim, na fase de produção, a aplicação de N de forma parcelada nos estágios da brotação e no final da floração pode ser uma estratégia interessante se compensar os custos da aplicação. Somado a isso, investir em um manejo do solo que vise a manutenção dos teores de matéria orgânica no solo, através do cultivo de plantas de cobertura que garantam a cobertura total do solo o ano todo e/ou fixem N atmosférico pode ser uma estratégia mais barata e mais eficiente para aumentar a recuperação de N em pessegueiro.

7. PERSPECTIVAS DE ESTUDOS FUTUROS

- I. Avaliar os parâmetros cinéticos relacionados à absorção de nutriente em outros porta-enxertos e cultivares enxertadas, em parceria com o melhoramento genético antes do lançamento de novas cultivares no mercado; afim de não somente conhecer a capacidade que cada cultivar possui em se adaptar a determinado solo ou clima, mas também evitar gasto de recursos financeiros desnecessários com implantação de pomares para zoneamento de cultivares;
- II. Realizar estudos moleculares visando conhecer melhor os transportadores e mecanismos envolvidos na absorção de N em pessegueiros, para que futuramente seja possível melhorar geneticamente determinadas características de absorção de N em cultivares de pessegueiros;
- III. Validar o estudo realizado em casa de vegetação que avaliou a aplicação de fontes de N, com e sem o consórcio de pessegueiros jovens com plantas de cobertura, em experimento à campo, preferencialmente, testando outras fontes orgânicas, com o objetivo de melhorar o estado nutricional e produtividade do pessegueiro;
- IV. Compreender a dinâmica da mineralização da matéria orgânica em pomares e elaborar estratégias que poderão ser adotadas para manter e/ou incrementar os teores de matéria orgânica do solo em pomares de pessegueiros, especialmente em solos arenosos;
- V. Estudar a dinâmica do crescimento de raízes em tipos de solos e em cada estágio fenológico na fase de crescimento e na fase de produção de cultivares de pessegueiro, porque isso possui relação com a eficiência de absorção de nutrientes, como N.

8. REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL 2016: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: Instituto FNP, 2014. Disponível em: Acesso em: 14 jun. 2016.
- AITA, C.. Dinâmica do nitrogênio no solo durante a decomposição de plantas de cobertura - efeito sobre a disponibilidade de nitrogênio para a cultura em sucessão. In: MARCOS RUBENS FRIES; RICARDO SIMÃO DINIZ DALMOLIN. (Org.). **Atualização em recomendação de adubação e calagem - ênfase em plantio direto**. 1 ed. Santa Maria: editora Palotti, v. , p. 76-111. 1997.
- AMBROSANO, E. J.; TRIVELIN, P. C. O.; MURAOKA, T. Técnica para marcação dos adubos verdes crotalária júncea e mucuna-preta com 15N para estudos de dinâmica do nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 56, p. 219-224, 1997.
- ANDREWS, M., RAVEN, J. A., & LEA, P. J. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. **Annals of applied biology**, 163(2), 174-199. 2013.
- BALDI E, TOSELLI M, EISEENSTAT DM, MARANGONI B. Organic fertilization leads to increase peach root production and lifespan. *Tree Physiol.* 30: 1373–1382. 2010.
- BALDI, E. M. TOSELLI, G. MARCOLINI, M. QUARTIERI, E. CIRILLO, A. INNOCENTI, B. Marangoni O adubo pode substituir com êxito os fertilizantes minerais sem a gestão de nutrientes do pomar comercial de pessegueiro **Soil Use Manage.**, 26, pp. 346-353. 2010.
- BARAM, S. et al. Estimating Nitrate Leaching to Groundwater from Orchards: Comparing Crop Nitrogen Excess, Deep Vadose Zone Data-Driven Estimates, and HYDRUS Modeling. **Vadose Zone Journal**, v. 15, n. 11, p. 0, 7 set. 2016.
- BELDING, R. D., MAJEK, B. A., LOKAJ, G. R., HAMMERSTEDT, J., & AYENI, A. O. Orchard Floor Management Influence on Summer Annual Weeds and Young Peach Tree Performance1. **Weed technology**, 18(2), 215-222. 2004.
- BRUNETTO, G., ROZANE, D. E., MELO, G. W. B. D., ZALAMENA, J., GIROTTO, E., LOURENZI, C., ... & KAMINSKI, J. Manejo da fertilidade de solos em pomares de frutíferas de clima temperado. **Manejo e conservação do solo e da água em pequenas propriedades rurais no sul do Brasil: práticas alternativas de manejo visando a conservação do solo e da água**. Cap. 9, p. 141-158. 2016.
- BUSTAMANTE, M.A.; SAIL-PULLICINO, D.; AGULLÓ, E.; ANDREU, J.; PAREDES, C.; MORAL, R. Application of winneryand distilleywast compost to a Jumilla(SE Spain) vineyard: Effects on the characteristics of a calcareous Sandy-loam soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.140, p.80-87, 2011.
- CAMPOS, A.D.; FREIRE, C.J.S.; NAKASU, B.H.; FORTESW, J.F. **Qualidade dos frutos e crescimento dos ramos de pessegueiro em função do nitrogênio e potássio foliar**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14., Curitiba. Anais. Curitiba, SBF, p. 379. 1996.
- CELETTE, F., FINDELING, A., & GARY, C. Competition for nitrogen in an unfertilized intercropping system: The case of an association of grapevine and grass cover in a Mediterranean climate. **European Journal of Agronomy**, 30(1), 41-51. 2009.
- CHALFUN, N.N.J.; HOFFMANN, A. Propagação de pessegueiro e ameixeira. **Revista Informativo Agropecuário**, v.18, p.23-29, 1997.

COMIOTTO, A., FACHINELLO, J. C., HOFFMANN, A., MACHADO, N. P., GALARÇA, S. P., & BETEMPS, D. L. Vigour, flowering, yield and quality of 'Chimarita' and 'Maciel' for different rootstocks. **Ciência Rural**, 42(5), 788-794. 2012.

ERNANI, Paulo Roberto. **Disponibilidade de nitrogênio e adubação nitrogenada para a macieira**. UDESC, 2003.

FAO - Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. (banco de dados. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 21 de outubro. 2016.

FARIAS, R. de M.; NUNES, J. L.da S.; MARTINS, C. R.; GUERRA, D. S.; ZANINI, C.; MARODIN, G. A. B. Produção convencional x integrada em pessegueiro cv. Marli na depressão central do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.253- 255, 2003.

CQFS-RS/SC. **Manual de Calagem e Adubação do RS/SC**. 11. ed. Porto Alegre: [s.n.].

FOREY, O., METAY, A., & WERY, J. Differential effect of regulated deficit irrigation on growth and photosynthesis in young peach trees intercropped with grass. **European Journal of Agronomy**, 81, 106-116. 2016.

GARCÍA-DÍAZ, A. et al. Nitrogen losses in vineyards under different types of soil groundcover. A field runoff simulator approach in central Spain. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 236, n. December 2016, p. 256–267, 2017.

GUERRA, B., & STEENWERTH, K. Influence of floor management technique on grapevine growth, disease pressure, and juice and wine composition: a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, ajev- 2012.

HALFORD, N. G., CURTIS, T. Y., MUTTUCUMARU, N., POSTLES, J., & MOTTRAM, D. S. Sugars in crop plants. **Annals of Applied Biology**, 158(1), 1-25. 2011.

HARDARSON, G. **Use of nuclear techniques in studies of soil-plant relationships**. Vienna: IAEA. 223 p. (Training Course Series, 2). 1990.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006**. Disponível em: <www.ibge.org.br>. Acesso em: 12 jul. 2017.

JORDAN, M. O. C depletion and tree dieback in young peach trees: a possible consequence of N shortage? **Annals of forest science**, 72(5), 529-537. 2015.

LIMA, M. R., AUGUSTIN, E., CHOER, E., & RASEIRA, M. D. C. B. Caracterização de cultivares de pessegueiro e nectarineira por marcadores moleculares. **Pesquisa agropecuária brasileira**, 38(3), 349-355. 2003.

MADAIL, J. C., & RASEIRA, M. Aspectos da produção e mercado do pêsego no Brasil. Embrapa Clima Temperado. **Circular técnica**. 2008.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. New York: Academic Press, 651 p. 2012

MARTÍNEZ-ALCÁNTARA, B., MARTÍNEZ-CUENCA, M. R., BERMEJO, A., LEGAZ, F., & QUIÑONES, A. Liquid Organic Fertilizers for Sustainable Agriculture: Nutrient Uptake of Organic versus Mineral Fertilizers in Citrus Trees. **Plos one**, 11(10). 2016.

MARTINS, A. S., BIANCHI, V. J., ZANANDREA, I., SPINELLI, V. M., & FACHINELLO, J. C. Efeito da estratificação de sementes na emergência e desenvolvimento inicial de plântulas de porta-enxertos de pessegueiro. **Científica**, 42(4), 366-375. 2014.

- MAYER, N.A.; PEREIRA, F.M. Vigor de clones de umezeiro e pessegueiro 'Okinawa' propagados por estacas herbáceas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p.883-887, 2006.
- MOTA, M., NETO, C. B., MONTEIRO, A. A., & OLIVEIRA, C. M. Preferential ammonium uptake during growth cycle and identification of ammonium transporter genes in young pear trees. **Journal of plant nutrition**, 34(6), 798-814. 2011.
- NARIO, A., PINO, I., ZAPATA, F., ALBORNOZ, M. P., & BAHERLE, P. Nitrogen (15N) fertiliser use efficiency in peach (*Prunus persica* L.) cv. Goldencrest trees in Chile. **Scientia Horticulturae**, 97(3), 279-287. 2003.
- NAVA, G. DECHEN A. R, BASSO C, NACHTIGALL G. R. KATSURAYAMA J. M. Composição mineral de folhas e vigor da macieira 'Fuji' em resposta a nitrogênio e potássio. **Agropecuária Catarinense**. 23:77-83. 2009.
- PICOLOTTO, L., MANICA-BERTO, R., PAZIN, D., PASA, M. D. S., SCHMITZ, J. D., PREZOTTO, M. E., ... & FACHINELLO, J. C. (2009). Características vegetativas, fenológicas e produtivas do pessegueiro cultivar Chimarrita enxertado em diferentes porta-enxertos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 44(6), 583-589p. 2009.
- PICOLOTTO, L.; SCHMITZ, J. D.; PASA, M. S.; BIANCHI, V. J.; FACHINELLO, J. C. Desenvolvimento vegetativo e produtivo da cultivar 'Maciel' em diferentes porta-enxertos, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, p. 969-974, 2012.
- RASEIRA, M. C. B. et al. THE FIRST PEACH CULTIVARS PROTECTED IN BRAZIL. **Acta Horticulturae**, n. 1084, p. 39-43, maio 2015.
- RATO, A.E. et al. Soil and rootstock influence on fruit quality of plums (*Prunus domestica* L.). **Scientia Horticulturae**, v.118, p.218-222, 2008.
- REMORINI, D., TAVARINI, S., DEGL'INNOCENTI, E., LORETI, F., MASSAI, R., & GUIDI, L. Efeito de porta-enxertos e tempo de colheita sobre a qualidade nutricional da casca e da polpa dos frutos de pêsego. **Food Chemistry**, 110 (2), 361-367. 2008.
- ROSSI, A. N. D. R. E. A., Fachinello, J. C., Rufato, L., Parisotto, E., Picolotto, L., & Kruger, L. R. Comportamento do pessegueiro 'Granada' sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 26, 446-449. 2004.
- SALAZAR, D., & P. MELGAREJO. Manejo del suelo. In Viticultura. Técnicas de cultivo de la vid, calidad de la uva y atributos de los vinos. **Madrid Vicente**, A.(ed.), pp. 201-208. 2005.
- SERRAT, B.M.; REISMANN, C.B; MOTTA, A.C.V.; MARQUES, R. Nutrição mineral de fruteira de caroço. In: MONTEIRO, L.B.; MAY-DE MIO, L.L.; SERRAT, B.M.; MOTTA A.C.; CUQUEL F.L. **Fruteiras de caroço: uma visão ecológica**, Curitiba, UFPR, p.71-95. 2004.
- SETE, P. B., DE MELO, G. W. B., OLIVEIRA, B. S., FREITAS, R. F., DAL MAGRO, R., AMBROSINI, V. G., & BRUNETTO, G. Perdas de nitrogênio do solo e resposta do pessegueiro à adição de composto orgânico. **Ciência Rural**, 45(4), 651-657. 2015.
- STEENWERTH, K., & K.M. BELINA. Cover crops enhance soil organic matter, carbon dynamics and microbiological function in a vineyard agroecosystem. **App. Soil Ecol.** 40:359-369. 2008.
- SWANTON, C. J., NKOA, R., & BLACKSHAW, R. E. Experimental methods for crop-weed competition studies. **Weed Science**, 63(sp1), 2-11. 2015.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: ARTMED, 5. ed., 2013.

TERAVEST, D., SMITH, J. L., CARPENTER-BOGGS, L., HOAGLAND, L., GRANATSTEIN, D., & REGANOLD, J. P. Influence of orchard floor management and compost application timing on nitrogen partitioning in apple trees. **HortScience**, 45(4), 637-642. 2010.

TRIVELIN, P. C. O.; SALATI, E.; MATSUI, E. **Preparo de amostras para análise de ^{15}N por espectrometria de massa**. Piracicaba. Centro de Energia Nuclear na Agricultura e Escola Superior de Agricultura “Luiz de Agricultura Luiz de Queiroz”, 41 p. 1973.

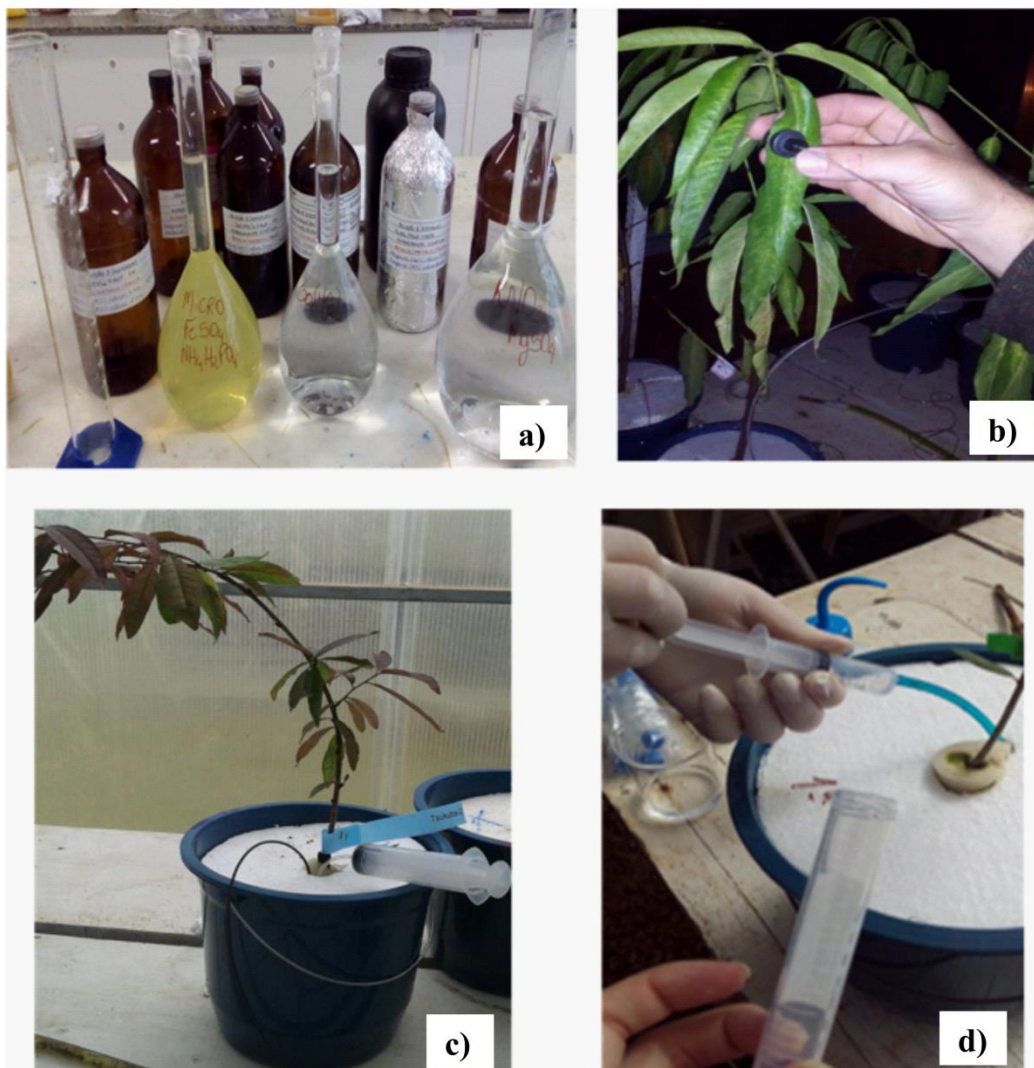
TWORKOSKI, T. J., & GLENN, D. M. Long-term effects of managed grass competition and two pruning methods on growth and yield of peach trees. **Scientia horticultrae**, 126(2), 130-137. 2010.

WARSCHEFSKY, E. J., KLEIN, L. L., FRANK, M. H., CHITWOOD, D. H., LONDO, J. P., VON WETTBERG, E. J., & MILLER, A. J. Rootstocks: diversity, domestication, and impacts on shoot phenotypes. **Trends in plant science**, 21(5), 418-437. 2016.

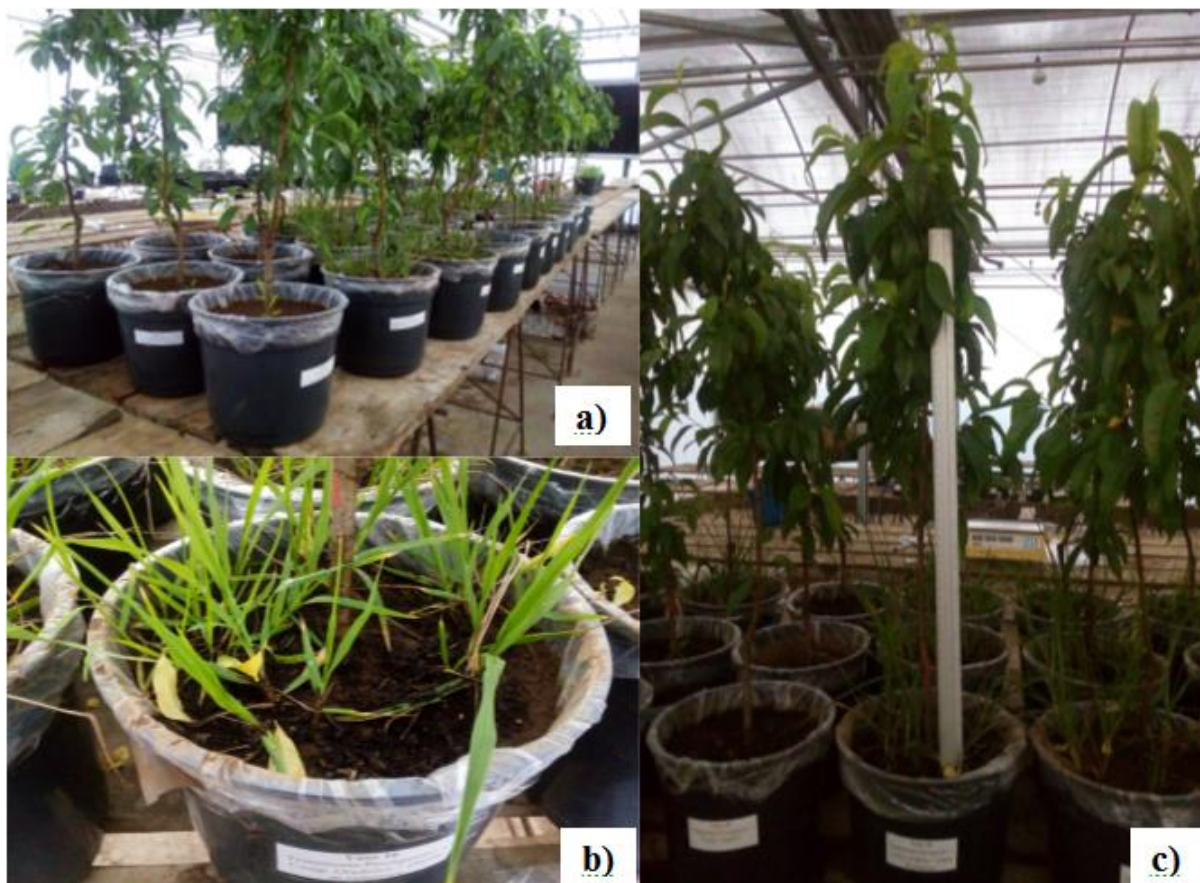
ZHANG, L., HAN, M., ZHAO, C., LIU, C., ZHANG, F., ZHANG, L., & LI, B. ^{15}N study on absorption, distribution and utilization of nitrogen applied in early summer in red fuji apple. **Journal of plant nutrition**, 35(10), 1557-1571. 2012.

ZHANG, Y. et al. Effect of orchard age on soil nitrogen transformation in subtropical China and implications. **Journal of Environmental Sciences**, v. 34, p. 10–19, 1 ago. 2015.

9. APENDICES



APÊNDICE 1 – Estudo de parâmetros cinéticos em pessegueiro: Preparo da solução nutritiva Hoagland 50% da força (a), fluorescência da clorofila a (b), Esquema de alocação das plantas durante o experimento (c) e coleta de solução nutritiva (d). Fonte: Autora.



APÊNDICE 2 – Estudo de aplicação de fontes de N com e sem a presença de *Paspalum notatum*: Pessequeiros alocados na bancada da casa de vegetação (a), distribuição das plantas no vaso (b), medição de altura dos pessequeiros (c). Fonte: Autora.



APÊNDICE 3 – Estudo de aplicação de N de forma parcelada e não parcelada: Área de aplicação da ureia enriquecida com ^{15}N (a), Remoção das plantas (b), particionamento das raízes de pessegueiros (c), amostragem de raízes finas e grossas (d), particionamento da parte aérea do pessegueiro (e), amostragem de ramos de anos anteriores (f), amostragem de ramos do ano (g), pêssegos antes da coleta (h) e polpa de pêssego particionada (i). Fonte: Autora.

APÊNDICE 4:

Pudim de leite condensado com cobertura caramelizada.

Caracterização:

A origem do pudim de leite condensado consumido no Brasil é incerta, mas a ideia que mais se repete é de que seria uma adaptação da receita do abade católico Manuel Joaquim Machado Rebelo, que em meados do século XVII morava na cidade de Priscos, no concelho português de Braga. Conhecido por ser exímio cozinheiro, ele não revelava nem sob tortura a receita de seu pudim. Dizem ainda que, para acabar com as inúmeras solicitações de divulgação do modo de preparo, o abade criou uma competição entre confeitores para que tentassem adivinhar a receita. Nenhum conseguiu acertar. Apenas com a morte de Manuel, o segredo foi finalmente desvendado: tratava-se de uma massa feita com ovos, açúcar, leite e toucinho. Isso mesmo, um bom pedaço de carne suína!

Com o passar dos anos, a receita rompeu as fronteiras de Portugal e chegou ao Brasil, onde se popularizou junto com o leite condensado, que substituiu o demorado processo de redução do leite com a adição do açúcar, mas perdeu o toucinho.

Soluções e reagentes:

- 2 caixas de leite condensado
- 2 caixas de leite (usar a caixa de leite condensado como medida)
- 3 colheres (sopa) de amido de milho
- 4 ovos
- 8 colheres (sopa) de açúcar cristalizado

Procedimento de Análise:

Bata no liquidificador todos os ingredientes, exceto o açúcar, por 5 minutos e reserve.

Em uma forma para pudim de alumínio que possua tampa, derreta o açúcar sem deixar queimar (para a calda não ficar amarga). Quando o açúcar tiver totalmente derretido espalhe pelas bordas da forma com o auxílio de uma colher.

Macete: Utilize um pegador de massa de alumínio para segurar a forma sem se queimar.

Escolha uma panela que caiba a forma de pudim dentro com folga de diâmetro de 10 cm entre a forma e a panela, leve ao fogo (180° C) com 250 ml de água, e coloque a forma dentro (banho Maria).

Adicione a mistura batida no liquidificador e deixe cozinhar, reponha a água sempre que necessário antes que a panela fique seca.

Macete: Tampe a forma para que fique pronto mais rápido e não entre água no pudim.

Deixe cozinhar por 50 minutos, verifique com o garfo se está pronto (o ponto de viragem é uma cor amarela clara com uma consistência mole mas que não sai no garfo), se estiver desligue o fogo, deixe esfriar fora da panela e posteriormente leve a geladeira. Depois é só desenformar e servir.

Determinação:

O pudim de leite condensado sempre é uma boa opção para servir após o almoço de domingo em família ou para agradar as pessoas especiais em nossa vida.

Observações:

Sempre referencie a fonte da receita desse pudim, pois com certeza ficará delicioso e fará sucesso!

E lembre-se que são as pequenas coisas que fazemos fora da pós-graduação que nos ajudam a terminar a pós-graduação, pois conforme Tedesco (1995) nem só de ciência vive o homem.

VITA

Betania Vahl de Paula nasceu em 10 de junho de 1991, em Morro Redondo, Rio Grande do Sul (RS). Filha de agricultores e desde jovem realizou atividades agropecuárias com sua família, que tinha como base de sua subsistência o cultivo do pessegueiro.

Cursou de 1ª à 4ª série na Escola Municipal de Ensino Fundamental Padre Bucker, localizada próxima a sua casa, na Colônia Santa Bernardina, Morro Redondo (RS). Foi alfabetizada pelas professoras Neli Von Pfeil e Vania Grim Thies.

Em 2002, ingressou na Escola Estadual Nosso Senhor do Bonfim, localizada na rua dos Pinus S/N, no centro de Morro Redondo (RS), onde cursou da 5ª série até 3º ano do ensino médio. Formando – se no ensino médio em dezembro de 2008.

Em 2009, ingressou no Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Anhanguera de Pelotas, sendo bolsista integral pelo programa PROUNI. Recebeu o título de Licenciada em Ciências Biológicas em 2012.

Em 2013, ingressou no Curso de Mestrado em Agronomia com ênfase em Sistemas de Produção Agrícola Familiar na Universidade Federal de Pelotas (UFPel), sob orientação da professora Ph.D. Ana Claudia Rodrigues Lima e co-orientação do professor Dr. Helvio Casalinho, cuja Dissertação de Mestrado versou sobre avaliação da qualidade do solo sob cultivo de pessegueiro em agrossistemas familiares.

Em 2015, ingressou no Curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), sob orientação do professor Dr. Gustavo Brunetto, buscando aprofundar seus conhecimentos na área de Química, Fertilidade do Solo e de Nutrição Mineral de Plantas, onde realizou atividades, especialmente, no projeto “Estratégias para aumentar a recuperação de N em pessegueiro”. Além disso, integrou o GEPACES – Grupo de estudos de predição de adubação e potencial de contaminação de elementos em solos (www.gepaces.com.br), onde atuou muito ativamente em inúmeras atividades de ensino, extensão e campo.