

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Sazonalidade da concentração de nutrientes no solo, nas folhas e na
seiva do xilema do citros**

Pedro Luiz Fávero Filho

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2022**

Pedro Luiz Fávero Filho
Engenheiro Agrônomo

**Sazonalidade da concentração de nutrientes no solo, nas folhas e na seiva do xilema do
cítricos**

versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **PAULO MAZZAFERA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2022

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Fávero Filho, Pedro Luiz

Sazonalidade da concentração de nutrientes no solo, nas folhas e na seiva do xilema do citros / Pedro Luiz Fávero Filho - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2022.

88 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Citrus 2. Laranja 3. Sistema Vascular 4. Seiva 5. Adubação 6. Nutrientes I. Título

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu pai, Pedro Luiz, meu maior e melhor orientador na vida, pilar da minha formação como ser humano e como profissional, e a principal fonte de motivação ao longo de todo o projeto.

Aos meus saudosos Avô Aleixo e Tio Brejeiro (*in memoriam*), citricultores natos, referências de humildade, bondade e persistência, que sempre valorizaram e acreditaram na importância dos estudos, mesmo nos momentos mais difíceis. Eternamente queridos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela minha vida, pela saúde e pelas bênçãos que me foram concedidas para completar mais essa fase.

À minha família e minha esposa Jéssica, pela força, incentivo, paciência e compreensão durante esse tempo.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” /Universidade de São Paulo por mais uma oportunidade de acrescentar ainda mais à minha formação profissional.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Mazzafera pelo exemplo de pessoa e profissional, pela atenção e confiança depositadas em mim, pelos ensinamentos, ideias e disposição para me ajudar sempre que foi preciso durante a execução desse projeto.

Aos amigos Tiago Tezotto (Sauipe) e João Leonardo (Bobodá) por todo o suporte, ajuda, discussões e companheirismo durante esse período.

À Alfa Citrus Comércio de Frutas LTDA, por ceder a Fazenda Anhumas para a realização do experimento.

Ao amigo José Luis Ferreira (Dico), por toda ajuda nas coletas de seiva.

Ao grande amigo, colega de profissão e de trabalho Luiz Augusto Vasconcellos, por todo conhecimento transmitido e ajuda nas discussões sobre o trabalho.

A todos os amigos do Laboratório Multiusuário da Produção Vegetal (ESALQ/USP) pelo companheirismo durante todo esse tempo de convivência, em especial Edson Ademir de Moraes, Lucas (Lixo) e Mayara Rodrigues.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para o sucesso dessa jornada.

MUITO OBRIGADO!

“So don't you sit upon the shoreline, and say you're satisfied
Choose to chance the rapids, and dare to dance the tide”

Garth Brooks – The River

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	11
2. HIPÓTESE E OBJETIVO	17
2.1. Hipótese	17
2.2. Objetivo	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1. Fenologia dos Citros	19
3.2. Nutrientes	21
3.3. Métodos de análise	31
3.4. Métodos de extração de seiva do xilema	38
4. MATERIAL E MÉTODOS	41
5. RESULTADOS	55
5.1. Gráficos de correlação entre as análises (Análise de Pearson)	55
5.2. Concentração de nutrientes no solo, nas folhas e na seiva do xilema dos citros	58
5.3. Produtividade do Talhão	65
6. DISCUSSÃO	67
6.1. Correlações das concentrações de nutrientes na seiva com teores no solo e na folha ..	67
6.2. Análise da variação ao longo do ciclo da cultura, em função dos fenômenos ou estádios	69
6.3. Discussão geral	71
7. CONCLUSÕES	75
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
REFERÊNCIAS	79

RESUMO

Sazonalidade da concentração de nutrientes no solo, nas folhas e na seiva do xilema do citros

O Brasil se destaca como maior produtor mundial de laranja, com 45 milhões de toneladas na última safra, e responde por mais de três quartos das exportações de suco da fruta ao redor do mundo. No país, a atividade predomina na região Sudeste, e o estado de São Paulo é o maior produtor nacional. A busca constante em melhorar a nutrição dos citros é uma estratégia viável para aumentar a produtividade das plantas e manter produtores no negócio nessa era do HLB (Huanglongbing), a mais importante e destrutiva doença da citricultura mundial, uma vez que alguns deles têm aplicado mais nutrientes que o necessário para compensar efeitos negativos da doença. Para otimizar o manejo, é necessário compreender a demanda da cultura em seus estádios fenológicos, e ter ferramentas para avaliá-la em tempo real. Nesse contexto, as formas tradicionais de se monitorar os nutrientes disponíveis para as plantas são as análises de solo e folha. Existem procedimentos já definidos para ambos os métodos, além de tabelas de referência para interpretação de resultados para o citros. Como metodologia complementar, a análise de seiva pode fornecer uma oportunidade para os produtores ajustarem mais precisamente as necessidades específicas de nutrientes, correlacionando com o que é demandado, com estádios fenológicos, e com os dados de análises de folha e solo, visando ser mais assertivo nas decisões e tornar a atividade mais rentável. Embora ainda exista pouca informação na literatura sobre as concentrações de nutrientes na seiva pura do xilema, com esse tipo de análise os níveis nutricionais, deficiências e excessos poderiam ser determinados antes mesmo de causar qualquer dano ao desenvolvimento da planta, uma vez que os nutrientes encontrados na seiva estão prontamente disponíveis. Desta forma, o trabalho atual vem propor uma estimativa acurada da variação dos nutrientes na seiva do xilema ao longo do ano da cultura de citros, levando em conta as épocas de aplicação e as demandas nutricionais nos vários estágios fenológicos. Para isso realizou-se um experimento em campo, no município de Botucatu-SP, em uma propriedade de citros da empresa Alfa Citrus, com a variedade 'Laranja Pera' sobre porta-enxerto de 'Limão Cravo', durante o ano de 2019. Foram realizadas 7 coletas de solo, folha e seiva. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com cinco repetições, e cada parcela era constituída de uma única planta aleatoriamente distribuída no talhão. As análises de solo e folha seguiram as recomendações para a cultura, e a coleta de seiva foi realizada com uma bomba de Scholander com câmara de pressão. As análises de seiva foram feitas por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), e os dados expressos em ppm. O objetivo foi verificar se as concentrações de nutrientes na seiva do xilema podem auxiliar na interpretação das necessidades nutricionais do citros, seja expressando a demanda da planta ou refletindo as adubações realizadas na cultura. Não foram verificadas correlações entre as análises de seiva com folha e solo, com exceção do P, que apresentou correlação positiva entre os teores de P no solo e na seiva. Os resultados encontrados sugerem que os teores de nutrientes na seiva são afetados principalmente pelo estado dos mesmos na planta, e não pela disponibilidade no solo. Não é muito provável que a variação dos teores de nutrientes encontrados na seiva do xilema seja reflexo do fornecimento de nutrientes realizado na cultura, tanto via solo quanto adubação foliar; mas poderia expressar, sim, a demanda da planta em seus diferentes estádios fenológicos.

Palavras-chave: Citros, Laranja, Sistema vascular, Seiva, Adubação, Nutrientes, Análise

ABSTRACT

Seasonality of nutrient concentration in soil, leaves and xylem sap of citrus

Brazil is the world's largest orange producer, with 45 million tons in the last harvest, and accounts for more than three quarters of orange juice exports around the world. In the country, the activity predominates in the Southeast region, and the São Paulo state is the largest national producer. Constant search for improving citrus nutrition is a feasible strategy to increase plant productivity and keep farmers in business in the HLB (Huanglongbing) era, the most important and destructive disease in the world citrus industry, since some of them have applied more nutrients than necessary to offset the negative effects of the disease. To optimize management, it is necessary to understand the demand of the crop during its phenological stages and have tool to assess this demand in real time. In this context, the traditional ways of monitoring the available nutrients for plants are soil and leaf analyzes. There are already defined procedures for both methods, besides to reference tables for the interpretation of results for citrus. As a complementary methodology, sap analysis can provide an opportunity for farmers to adjust more precisely specific nutrient requirements, correlating with the demand, with phenological stages, and with leaf and soil data, aiming to be more assertive in management decisions and make the activity more profitable. Although there is still little information in the literature about nutrient concentrations in pure xylem sap, through this type of analysis nutritional levels, deficiencies and excesses could be determined even before causing any damage to the plant's development, since the nutrients found in the sap are readily available for the plant. Thus, the current work proposes a more accurate estimate of the variation of nutrients in the xylem sap throughout the citrus crop year, taking into account fertilizing and the nutritional requirements at the various phenological stages. For this, an experiment was carried out in the field, in the city of Botucatu-SP, in a citrus property of the company Alfa Citrus, with the orange variety 'Pera' on rootstock of 'Rangpur Lime', during the year 2019. Seven soil, leaf and sap collections were carried out. The experimental design was randomized blocks with five replications, and each plot consisted of a single plant randomly distributed in the plot. Soil and leaf analyzes followed the recommendations for the crop, and sap collection was performed with a Scholander pump with a pressure chamber. Sap analyzes were performed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES), and data expressed in ppm. The objective was to verify if the concentrations of nutrients in the xylem sap can help in the interpretation of the nutritional needs of citrus, either expressing the demand of the plant or reflecting the fertilizations carried out in the crop. There were no correlations between sap analysis with leaf and soil analyzes, except for P, which showed a positive correlation between P contents in the soil and in the sap. The results suggest that nutrient contents in the sap are mainly affected by their state in the plant, and not by their availability in the soil. It is not very likely that the variation in the nutrient contents found in the xylem sap reflects the nutrients supply carried out in the crop, both via soil and foliar fertilization; but it could express, indeed, the plant demand in its different phenological stages.

Keywords: Citrus, Orange, Vascular system, Sap, Fertilizing, Nutrients, Analyze

1. INTRODUÇÃO

As frutas cítricas estão entre as mais cultivadas no mundo. Sua produção aumenta a cada ano devido à crescente demanda, o que gera milhões de empregos em mais de 137 países, relacionados aos processos de colheita, manuseio, transporte, marketing e entrega da produção proveniente das indústrias citrícolas (GARCÍA-MARTÍN; OLMO; GARCÍA, 2018; SHARMA *et al.*, 2017). Nessa cadeia, as laranjas são as mais produzidas, com uma produção mundial de aproximadamente 45 milhões de toneladas na safra 2019/20 (USDA, 2021). O Brasil se destaca como maior produtor, e responde por mais de três quartos das exportações de suco de laranja ao redor do mundo, seguido pela China e pelos Estados Unidos (USDA, 2021).

Segundo a Citros BR (2020), 34% da produção mundial de laranja está no Brasil, assim como 61% da produção mundial de suco. A área do cinturão citrícola, maior região produtora do mundo, foi estimada em 395.764 hectares, e fechou a safra 2019/2020 em aproximadamente 387 milhões de caixas peso (40,8 kg), num ano considerado de alta produção, levando em conta a bienalidade que a cultura vem apresentando (BASSANEZI, 2019).

No Brasil, a citricultura predomina na região Sudeste, e o estado de São Paulo é o maior produtor nacional (Rodrigues *et al.*, 2020). Nesse estado, o suco de laranja é o terceiro produto mais relevante, atrás da cadeia da cana-de-açúcar (30%) e carnes (12,98%), com 11,96% de participação na pauta agropecuária paulista (IEA, 2019). A cadeia citrícola no país gera 200.000 empregos diretos e indiretos, e entrega ao PIB cerca de 6,5 bilhões de dólares (CITROS BR, 2020).

O principal destino de toda a produção de laranjas no Brasil é a indústria de suco, exportando 98% do volume produzido (CITROS BR, 2020); e uma pequena parcela é destinada ao mercado *in natura*, interno e para exportação. Em função dessa demanda, existe uma diferença no manejo da cultura, de acordo com a intenção de comércio. O manejo fitossanitário, por exemplo, é mais intenso nas frutas de mesa, já que a boa aparência da casca é um fator importante. Por outro lado, a indústria está especificamente focada no rendimento de suco, independente da condição externa da fruta. Logo, o manejo da nutrição das plantas deve ser ajustado em função do objetivo do produtor, pois a adubação interfere diretamente no desenvolvimento dos frutos, tanto no tamanho quanto na qualidade.

As referências e recomendações de adubação para os citros foram atualizadas no último Boletim Técnico 100 (QUAGGIO; MATTOS JR.; BOARETTO, 2018), justamente visando diferenciar produções voltadas para indústria e mercado. Em ambas as situações, há a necessidade de se conhecer a demanda nutricional das plantas durante todo o ciclo da cultura, e para isso são feitas coletas de folhas e solo, com metodologia e recomendações já consolidadas.

Quanto à fitossanidade da lavoura, o maior desafio da produção de laranja atualmente está relacionado ao Huanglongbing (HLB, ex-Greening), a mais importante e destrutiva doença da citricultura mundial (BOVÉ, 2006; GOTTWALD; GRAÇA; BASSANEZI, 2007). Pelos danos que causa e pela dificuldade do seu manejo, o HLB coloca em risco o futuro da atividade como exportadora dessa *commodity*, tanto no Brasil quanto nos EUA (BELASQUE JR. *et al.*, 2017).

O HLB tem seus sintomas expressos por deficiências nutricionais induzidas pela condição da planta (HOCHMUTH, 2012), e isso pode ser um primeiro motivo para se avaliar a um maior nível de detalhe a situação de certos nutrientes no sistema vascular de laranjeiras, tanto em concentração quanto disponibilidade. Neste cenário desafiador pelo qual passa a citricultura, novas pesquisas e ensaios começaram a ser feitos tentando melhorar as produtividades, aumentar a longevidade dos pomares e a precocidade de produção, e minimizar os sintomas da doença, através de nutrientes e hormônios fornecidos via pulverização foliar.

A busca constante em melhorar a nutrição dos citros é uma estratégia viável para aumentar a produtividade das plantas e manter produtores no negócio nessa era do HLB (ESTEVES *et al.*, 2021a), já que alguns deles têm aplicado mais nutrientes que o necessário para compensar os efeitos negativos da doença (UTHMAN *et al.*, 2020). A agricultura, em geral, busca alcançar um manejo nutricional cada vez mais preciso, e certas técnicas mais eficientes e otimizadas estão surgindo. Para melhorar o fornecimento de nutrientes, é necessário compreender a demanda da cultura e ter sempre ferramentas de leitura em tempo real. Nesse contexto, são feitas as análises de folha e solo para os diagnósticos, mas segundo Cadahía, (2005), os nutrientes contidos no tecido das folhas podem refletir um acúmulo durante todo o seu ciclo, ao invés de indicar a concentração de determinados nutrientes naquele momento, e que está disponível para o desenvolvimento da planta, principalmente com elementos que provavelmente não são remobilizados, já que são incorporados nos tecidos, como o Cálcio.

Embora as análises de solo e folha sejam procedimentos já consolidados para avaliação nutricional na maioria das culturas (inclusive citros), a análise de seiva pode fornecer uma oportunidade para os produtores de ajustar mais precisamente as necessidades específicas de nutrientes, correlacionando com o que é demandado, com estádios fenológicos, e com os dados de folha e solo também levantados, não somente para a nutrição em si, mas para tornar a atividade mais rentável e sustentável (ESTEVEES *et al.*, 2021b).

Os nutrientes encontrados na seiva do xilema estão prontamente disponíveis para o desenvolvimento das plantas (OLSEN; LYONS, 1994); por isso a análise deste conteúdo pode ser comparada a um “exame de sangue” da árvore. Níveis nutricionais, deficiências e excessos poderiam ser determinados antes mesmo de causar qualquer dano ao desenvolvimento da planta e conseqüentemente ao rendimento dos frutos (CADAHÍA, 2005). Diferentes métodos estão disponíveis para analisar seiva, e alguns laboratórios e empresas privadas têm trabalhado comparando seiva de folhas novas e velhas, principalmente para analisar a questão da mobilidade (ESTEVEES *et al.*, 2021b).

Nos últimos anos, a análise de seiva tem recebido mais atenção em citros, já que ela pode avaliar a absorção de nutrientes mais precisamente, aumentar a eficiência da adubação, reduzir as restrições ambientais, melhorar a qualidade das frutas e o manejo de doenças (INCROCCI; MASSA; PARDOSSI, 2017). A metodologia não deve ser enxergada como uma alternativa à análise de folhas, mas como uma ferramenta complementar no manejo nutricional e de doenças (ROSEN; ELIASON, 2005).

Certamente, existem limitações para esse tipo de análise. A disponibilidade de diferentes equipamentos e metodologias pode trazer variabilidade e falta de acurácia nos resultados, reduzindo a confiabilidade das informações (HARTZ, 2003). Segundo Wu *et al.* (2007), há uma “lacuna” a ser preenchida entre coleta, análise química e suplementação de nutrientes na análise de seiva. São necessárias pesquisas futuras para padronizar metodologias de amostragem e análise, estabelecer níveis de referências para cada nutriente e desenvolver correlações com variáveis de rendimento e qualidade de fruto.

Mesmo com tais limitações, dentro de um método adotado pode ser possível acompanhar o estado nutricional durante o ciclo da planta, fazendo análises paralelas com solo e folha. Muitos estudos focados principalmente em N foram feitos em culturas em casas de vegetação (FARNESELLI; TEI; SIMONNE, 2014; HOCHMUTH, 2012), porém pouca pesquisa tem sido conduzida com micronutrientes, os quais também parecem aliviar os efeitos

de doenças de plantas, como o HLB em citros (ZAMBON; KADYAMPAKENI; GROSSER, 2019).

A análise de seiva de plantas, mais particularmente sua obtenção, diz respeito a métodos que devem ser operacionalmente definidos. Isto significa que os resultados obtidos dependerão da metodologia escolhida. Ainda não há consenso entre a comunidade científica sobre um método específico para coleta, tipo de tecido (pecíolos, ramos, bainha de folhas), equipamentos de pressão, extração de seiva e análise dos fluidos (OLIVEIRA *et al.*, 2003; OLSEN; LYONS, 1994; PADILLA *et al.*, 2020). Apesar dessa discussão, certamente que a seiva pura é a ideal para responder à pergunta sobre a relação da demanda de nutrientes pela planta e a fornecida no solo, e ela só é obtida com a bomba de pressão. Os três principais passos na análise de seiva são: coleta de amostra, extração e análise do material.

Alguns trabalhos com análise de seiva foram realizados em citros e em outras culturas. Purcino *et al.* (2007) desenvolveram um trabalho para caracterizar a composição de substâncias orgânicas e inorgânicas relacionadas com o metabolismo de nitrogênio presentes na seiva do xilema de laranjeiras com CVC (Clorose variegada dos citros), outra doença de grande importância econômica na citricultura brasileira, causada pela bactéria *Xylella fastidiosa* (ROSSETTI; NEGRI, 2011). O mecanismo primário de patogenicidade da Xf é a oclusão dos vasos do xilema pelo biofilme formado pela bactéria (SOUZA; TAKITA; COLETTA-FILHO, 2006). Nesse trabalho, a seiva foi coletada da parte apical de ramos de plantas sadias (PS) e plantas doentes (PD) com o uso de uma câmara de pressão (bomba de Scholander), conforme utilizado por Gould (1991). A quantificação da concentração do NO_3^- em PS e PD mostraram que esse íon tem uma tendência a se acumular tanto nas folhas como na seiva do xilema das PD. A maior concentração de NO_3^- encontrada tanto na seiva do xilema como nas folhas de plantas com CVC, e a ausência de NH_4^+ pode ter ocorrido em consequência da redução do metabolismo desse íon na raiz, uma vez que para a completa assimilação é necessária a redução até NH_4^+ , o qual é extremamente tóxico não sendo transportado pela seiva do xilema.

Em tomateiro, o acúmulo de N na biomassa mostrou-se altamente correlacionado com a concentração de nitrato na seiva extraída pelo método de esmagamento de pecíolos das folhas mais novas e totalmente expandidas, durante o ciclo da cultura (FARNESELLI; TEI; SIMONNE, 2014). Além disso, o resultado do teor de nitrato encontrado em um leitor portátil correspondeu com as análises laboratoriais em toda a gama de concentrações de N-nitrato examinadas. Entretanto, a limitação desse trabalho, como realçado pelos próprios autores, é

que a leitura de seiva pode mostrar concentrações constantes de N, um nutriente altamente móvel, uma vez que os pecíolos são sempre coletados do topo das plantas (novos fluxos). Com base nisso, pode-se inferir que culturas perenes em condições de campo aberto demandam mais de uma amostragem por safra.

O trabalho de Moreno e García-Martínez (1983) demonstrou que a análise da seiva pode ser muito útil para compreender o metabolismo de espécies de plantas lenhosas. Eles extraíram seiva do xilema de ramos maduros de laranjeiras Washington Navel e concluíram que cerca de 98% do N presente nos vasos xilemáticos estava na forma de compostos aminados e aminoácidos, e somente 2% na forma mineral. Resultados similares foram encontrados por Bar-Akiva e Sagiv (1967), os quais demonstraram que os citros possuem alta atividade de redutase do nitrato, mas não é conclusivo que o baixo teor de nitrato na seiva ocorre devido às folhas receberem o N na forma reduzida, ou se o nitrato é rapidamente metabolizado nas folhas.

Souza et al. (2012) realizaram um trabalho usando um método que certamente o que foi chamado de seiva traz contaminantes de outros tecidos. Os próprios autores reconhecem esta possibilidade na descrição do método. Ramos foram picados em fragmentos de 1 cm e extraídos com acetato de etila em freezer comum (-18°C). Uma fração aquosa formada foi separada após uma semana e chamada de seiva. Uma vez que acetato de etila é um solvente apolar, células da casca (tecidos vivos) foram extraídas, inclusive floema. Também é improvável que a seiva do xilema tenha sido extraída eficientemente, já que o solvente é imiscível com água, o principal constituinte da seiva do xilema. Sabendo que os autores não fizeram um controle determinando os componentes orgânicos dessa fração, o que poderia dar uma ideia da contaminação por células vivas, é difícil dizer exatamente se ela representa de fato a maior parte do conteúdo mineral xilemático.

Assim, o trabalho atual vem propor uma estimativa mais acurada da variação dos nutrientes na seiva do xilema ao longo do ano da cultura de citrus, levando em conta as épocas de aplicação e as demandas nutricionais nos vários estágios fenológicos. Para isto, a extração da seiva foi feita com bomba de pressão.

2. HIPÓTESE E OBJETIVO

2.1. Hipótese

Os teores de nutrientes encontrados na seiva do xilema ao longo de um ciclo reprodutivo do citros poderia expressar a demanda da planta ou refletir as adubações realizadas na cultura.

2.2. Objetivo

Este trabalho teve como objetivo principal verificar se as concentrações de nutrientes na seiva do xilema podem auxiliar na interpretação das necessidades nutricionais do citros.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Fenologia dos Citros

Os citros são árvores frutíferas pertencentes a um grupo de plantas sempre-verdes, isto é, aquelas que mantêm as folhas verdes e ativas fotossinteticamente durante o ano inteiro. Como a maioria das espécies arbóreas, os citros possuem metabolismo fotossintético do tipo C3, no qual a primeira molécula estável resultante da fixação do carbono atmosférico apresenta três átomos de carbono (triose). Todavia, como todos os fatores ambientais variam sazonalmente, a fotossíntese e os demais processos fisiológicos que influenciam no desenvolvimento também oscilam. No Brasil, na região subtropical, de julho a agosto as condições térmicas e hídricas condicionam o repouso vegetativo, e em setembro, na primavera, as condições climáticas tornam-se favoráveis à vegetação e florescimento (MEDINA *et al.*, 2005).

O crescimento ocorre em dois surtos anuais definidos nas regiões de clima frio, mas pode variar de três a cinco nas regiões mais quentes, de clima tropical ou subtropical úmido (DAVIES; ALBRIGO, 1994; MEDINA *et al.*, 2005; SPIEGEL-ROY; GOLDSCHMIDT, 1996). O surto de florescimento na primavera é o principal, quando a planta emite ramos vegetativos e reprodutivos; esta brotação ocorre em gemas axilares com um ano de idade, em ramos do crescimento da primavera anterior, ou até mesmo do verão ou outono. Os demais fluxos de vegetação ocorrem no verão e outono; são mais vigorosos e apresentam flores somente se as condições são indutivas (MEDINA *et al.*, 2005).

Durante a primavera, a vegetação, o desenvolvimento, a antese e o pegamento de frutos demandam grande quantidade de energia, representando consumo de aproximadamente 27% da produção anual de carboidratos. A fotossíntese corrente pode não ser suficiente para atender essa demanda, havendo necessidade de mobilização de reservas da planta, ou seja, aquelas sintetizadas durante a fase de repouso (outono e inverno) (BUSTAN; GOLDSCHMIDT, 1998).

Normalmente, poucas flores e frutos são produzidos nos primeiros dois ou três anos após plantio. O desenvolvimento da copa e o crescimento vegetativo atingem um ótimo entre 6 e 12 anos, dependendo da densidade de plantio, momento esse onde a máxima produção é obtida (MEDINA *et al.*, 2005). Neste ponto, um equilíbrio entre o crescimento vegetativo e reprodutivo é estabelecido em função das condições do ambiente, genótipo do cultivar, disponibilidade de nutrientes e luz (AIT-OUBAHOU; EL-OTMANI, 2000).

O ciclo da cultura pode variar de seis a dezesseis meses, dependendo da espécie, variedade e variação sazonal das temperaturas e precipitações do local (REUTHER; RIOS-CASTANO, 1970). O florescimento das laranjeiras está associado à emissão de brotações após um período indutivo em resposta ao clima regional. Nesse desenvolvimento dos ramos, os fatores que mais influenciam são temperatura e umidade (MENDEL, 1969).

As fases fenológicas dos citros (Figura 1) podem ser divididas em: indução floral (IF); repouso vegetativo (RV); florescimento (F); divisão celular (DVC); diferenciação celular (DFC); expansão celular (EC); maturação (M) e ponto de colheita (PC), associado às condições climáticas das regiões produtoras do norte do Estado de São Paulo (SENTELHAS, 2005).

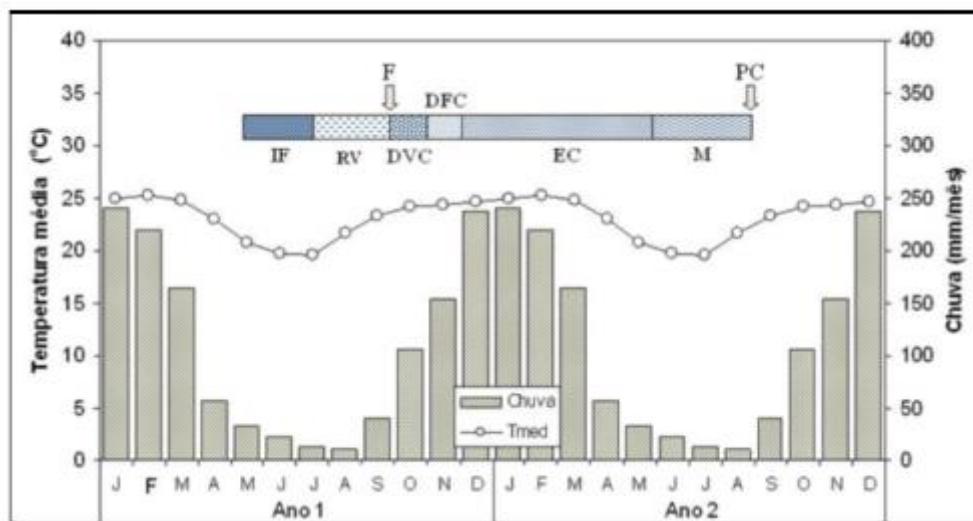


Figura 1. Representação esquemática das fases fenológicas dos citros, considerando-se as condições climáticas das regiões produtoras do norte do Estado de São Paulo (Fonte: SENTELHAS, 2005).

O crescimento dos frutos de citros pode ser dividido em quatro fases: i) divisão celular, na qual são formadas todas as células do fruto e o potencial do tamanho é definido (SENTELHAS, 2005); ii) diferenciação celular, em que são formados os diferentes tipos de tecidos nos frutos (RODRIGUEZ, 1987; SENTELHAS, 2005); iii) expansão celular, com rápido crescimento do fruto, somado ao aumento da respiração e da porcentagem total de sólidos solúveis (SENTELHAS, 2005); e por fim iv) maturação dos frutos, cujo início ocorre

quando a casca começa a perder a coloração verde intenso. É caracterizada pelo lento crescimento do fruto, leve aumento dos sólidos solúveis totais, e rápida queda da acidez total (ERICKSON, 1968; RODRIGUEZ, 1987; SENTELHAS, 2005) podendo durar vários meses, conforme as condições térmicas.

Existem diversas variedades de de citros disponíveis e utilizadas na agricultura brasileira, e a laranjeira ‘Pera-Rio’ ou ‘Pera’ (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) é a variedade de citros mais utilizada como copa, uma vez que seus frutos apresentam excelente qualidade para os mercados interno e externo de fruta fresca para a industrialização, participando com cerca de 38% de plantas (POMPEU JUNIOR, 2001)

A laranja ‘Pera’ é uma cultivar de maturação meia-estação, sendo a colheita realizada, principalmente, entre os meses de julho e setembro, podendo alcançar até dezembro, considerando-se a ocorrência de floradas extemporâneas no Brasil (DE MATTOS JÚNIOR; BATTAGLIA; QUAGGIO, 2005). Segundo Moreira e Rodrigues Filho (1965): “os frutos pequenos, cor laranja, ovalados; casca quase abundante e suco ligeiramente ácido (São Paulo) ou doce (Rio); (3-4) sementes por fruto; árvores de porte médio, galhos mais ou menos eretos, folhas acuminadas; bem produtiva, maturação tardia; os frutos conservam-se no pé, alguns meses depois de maduros”. É possível que apresente três a quatro floradas por ano, ocorrendo a produção de frutas temporãs praticamente durante o ano todo (PIO *et al.*, 2005).

A enxertia da laranja “Pera” é realizada geralmente sobre porta-enxerto de Limão-cravo (*C. limonia*), devido às seguintes características: tolerância à tristeza (Citrus Tristeza Virus), resistência à seca, fácil obtenção de sementes, grande vigor no viveiro, bom pegamento de mudas no plantio, rápido crescimento, produção precoce, altas produções e de frutos de qualidade regular, compatibilidade com todas as variedades-copa, média tolerância ao frio e bom comportamento em solos arenosos (QUAGGIO; DE MATTOS JÚNIOR; CANTARELLA, 2005).

3.2. Nutrientes

Os citros, como qualquer outra planta superior, necessitam para viver de uma série de elementos. Três deles - carbono (C), hidrogênio (H) e oxigênio (O) - constituem a maior proporção da planta e são fornecidos pelo ar (CO₂) e pela água (MALAVOLTA *et al.*, 1994). E somado a eles, estão os nutrientes minerais que desempenham funções fundamentais em

algum processo fisiológico, de forma que qualquer carência pode impedir o desenvolvimento normal do ciclo de vida. Esses elementos são majoritariamente absorvidos pelas raízes, e permitem a síntese de todos os compostos orgânicos que a árvore necessita para seu metabolismo e crescimento (PRIMO-MILLO, 2017).

A limitação de nutrientes afeta, direta ou indiretamente, a capacidade fotossintética das plantas cítricas. Em solos com baixa deficiência mineral, o suprimento de nutrientes para a fotossíntese é menos decisivo do que o clima. No entanto, quase sempre as maiores taxas fotossintéticas são alcançadas por meio da adubação (LARCHER, 2000). Esse fato é mais importante para solos tropicais, principalmente os ácidos e arenosos, os quais, muitas vezes, apresentam pouca disponibilidade de nutrientes. Além disso, os elementos minerais exercem papel essencial nos efeitos bioquímicos sobre a fotossíntese, já que são componentes de enzimas e pigmentos, e ativadores ou catalisadores desses processos (MEDINA *et al.*, 2005).

Os nutrientes minerais são divididos em macronutrientes, referentes aos elementos que as plantas necessitam em grandes quantidades (N, P, K, Ca, Mg, S) e micronutrientes, os quais são necessários em menores quantidades (Fe, Zn, Mn, B, Cu, Mo, Ni) (KADYAMPAKENI; MORGAN, 2020). A seguir, são descritas suas principais funções, as formas nas quais são absorvidos e transportados na planta, e como se caracterizam algumas deficiências.

Nitrogênio

O nitrogênio (N) é um dos elementos minerais que os citros necessitam em maior quantidade. Seu conteúdo em N total referente ao peso seco varia de 1 – 4%, dependendo do órgão, e é componente chave das principais biomoléculas que constituem a planta (PRIMO-MILLO, 2017). Desta forma, participando de muitas funções vitais, sua disponibilidade é essencial para a planta, e sua carência afeta muito negativamente a produtividade.

O nitrato (NO_3^-) é a principal fonte mineral de N utilizada na adubação para os citros, e devido à sua alta mobilidade, pode alcançar a subsuperfície do solo, atingindo uma zona de maior densidade radicular para ser absorvido. O amônio (NH_4^+) também é uma forma absorvível pelas raízes, porém fica majoritariamente retido na CTC do solo, ficando menos disponível para a planta (PRIMO-MILLO, 2017).

O transporte do N absorvido pelas raízes até a parte aérea se realiza principalmente por meio do xilema (KATO, 1980; MORENO; GARCÍA-MARTINEZ, 1980). Em trabalho realizado por Kato *et al.* (1985) com o uso de compostos nitrogenados marcados com C^{14} , foi demonstrado que os aminoácidos arginina, asparagina e prolina se movem para cima, tanto pelo xilema quanto pelo floema, mas a translocação pelo primeiro é muito superior. A concentração de N na seiva do xilema é muito variável, dependendo das condições da árvore e sua nutrição, assim como da época do ano (CALOT, 1996; MORENO; GARCÍA-MARTINEZ, 1983). Os valores encontrados para esse parâmetro oscilam entre 0,005 e 0,1%, e a maior parte desse nitrogênio se encontra na forma de aminoácidos (mais de 85%), e o resto na forma de nitrato (PRIMO-MILLO, 2017).

Os compostos nitrogenados que se encontram na seiva não provêm somente do absorvido e assimilado pelas raízes finas, mas também do armazenado nas células vivas de outros tecidos da planta. Segundo Kato (1980), a asparagina, a glutamina e o nitrato são os principais compostos fornecidos pelas raízes à seiva do xilema, ao passo que a prolina e a arginina parecem vir dos tecidos parenquimáticos de reserva dos troncos e das raízes. Também foi constatado que imediatamente após uma adubação nitrogenada aparecem fortes picos na concentração do nitrato de da asparagina na seiva, alcançando cerca de 14 e 30% da concentração de N total, respectivamente, e confirmando que ambos são as principais formas de transporte do N recém absorvido (PRIMO-MILLO, 2017).

O N acumulado em diferentes partes da planta pode constituir uma reserva desse elemento, que se mobiliza até os órgãos em desenvolvimento, principalmente em épocas de alta demanda, como acontece durante a primavera (AKAO; KUBOTA; HAYASHIDA, 1978). Quase 50% de todo o N acumulado no ciclo anterior se mobiliza no início desse período. O N procedente das reservas se reparte em partes aproximadamente iguais entre os brotos vegetativos e os órgãos frutíferos. Porém, durante o verão e outono, a quantidade enviada para as folhas jovens é muito maior, uma vez que a necessidade de N dos frutos diminui com o avanço do seu desenvolvimento.

Fósforo

O fósforo (P) se encontra na planta como fosfato, seja na forma livre (PO_4^{-3}) ou formando ésteres fosfóricos com grupos hidroxila de compostos orgânicos. Outras moléculas importantes que contém fosfato são o ATP (adenosina trifosfato) e ADP (adenosina

difosfato), onde se une mediante ligações anidras ricas em energia (PRIMO-MILLO, 2017). A maior parte na forma livre se armazena no vacúolo, enquanto o resto se localiza no citosol e nas organelas citoplasmáticas. Ainda segundo MILLO (2017), o fósforo é essencial para manter o metabolismo e crescimento da planta, já que desempenha uma função estrutural, unido por ligações éster a lipídeos das membranas celulares, formando fosfolipídios, e participa dos principais processos vitais: respiração, fotossíntese, multiplicação celular, funcionamento das membranas e qualquer reação metabólica que requer a transferência de energia do ATP.

Os citros absorvem o fósforo inorgânico (Pi) majoritariamente como íon ortofosfato (H_2PO_4^-), embora em solos básicos pode também absorver como ânion bivalente (HPO_4^{2-}) (PRIMO-MILLO, 2017). Considerando que no solo existe um certo equilíbrio entre o P dissolvido e o precipitado, este último pode solubilizar-se lentamente à medida que o primeiro vai sendo consumido pelas plantas. Além disso, os íons fosfato devem movimentar-se aos lugares de absorção das raízes pelo processo de difusão (KADYAMPAKANI; MORGAN, 2020).

O fósforo é considerado um nutriente muito móvel na planta (KADYAMPAKANI; MORGAN, 2020). Uma vez absorvido pelas raízes, é rapidamente transferido ao xilema, e movimenta-se por meio deste até a parte aérea, onde se acumula preferencialmente nos órgãos de crescimento. O Pi se movimenta facilmente tanto pelo xilema quanto pelo floema, refletindo numa constante carga e descarga deste nutriente nos diferentes órgãos. Em condições de deficiência, é remobilizado dos órgãos velhos e senescentes para os novos, em fase de desenvolvimento (PRIMO-MILLO, 2017).

Potássio

O potássio (K) é um dos elementos mais abundantes nas células vegetais, chegando a compor até 4% do peso seco dos tecidos dos citros (PRIMO-MILLO, 2017). Desempenha importantes funções na planta, tanto a nível bioquímico quanto biofísico. A manutenção geral da fotossíntese demanda íons K^+ , portanto sua deficiência reduz a atividade fotossintética, além da translocação de fotoassimilados. O fechamento estomático é resultado da pressão de turgor gerada pelo K^+ nas células guarda (KOO *et al.*, 1974). Além disso, a pressão osmótica que produz o acúmulo desse cátion permite o alongamento das células, portanto intervém no crescimento dos órgãos e na expansão das folhas (LAVON *et al.*, 1995).

As raízes absorvem o potássio da solução do solo como íon K^+ (MARSCHNER, 2012), dentro de um amplo intervalo de concentrações. O influxo de K^+ , em função de sua concentração no meio externo, segue um modelo bifásico, resultante da adição dos mecanismos distintos de absorção que operam na membrana plasmática. O sistema de alta afinidade catalisa o transporte ativo de K^+ a baixas concentrações, estimulado em condições de carência do elemento, e podendo ser fortemente inibido pela presença de íons NH_4^+ , por conta de eventual concorrência de sítios, enquanto o sistema de baixa afinidade funciona predominantemente a altas concentrações externas (maior que 1mM). O influxo de K^+ mediado por esse sistema não é reduzido pelas altas concentrações externas de K^+ , e pode ser inibido pela presença de íons de sódio (Na^+) (PRIMO-MILLO, 2017).

O K^+ é muito móvel na planta, podendo ser remobilizado entre as folhas e raízes, tanto através do xilema quanto do floema. Tal mobilidade se evidencia na evolução da concentração de K nas folhas ao longo do ano (EMBLETON, 1973; REUTHER; SMITH, 1950). No xilema pode ser transportado para cima tanto associado a íons de nitrato como a aminoácidos, enquanto íons K^+ liberados no floema das folhas podem constituir um sinal que module o influxo de K^+ nas raízes. Conforme descrito por Primo-Millo (2017), a concentração de K nas folhas é muito alta nos estádios iniciais de desenvolvimento, diminuindo com seu crescimento, até sua estabilização a partir do verão.

Cálcio

O cálcio (Ca) é o elemento mineral mais abundante nos citros, podendo alcançar sua concentração nas folhas valores de até 7% (KADYAMPAKENI; MORGAN, 2020). Possui função na planta tanto a nível estrutural como funcional. O íon Ca^{2+} é parte integral da parede celular, onde estabelece ligações cruzadas entre as moléculas de pectina, garantindo estabilidade; também é indispensável para manter a integridade das membranas celulares, e assegurar a permeabilidade seletiva da membrana plasmática (PRIMO-MILLO, 2017). A nível funcional, é essencial para a divisão e expansão celular. E a nível nutricional, uma correta absorção de Ca^{2+} equilibra o balanço entre os cátions (KERBAUY, 2013).

As células da raiz absorvem o cálcio da solução do solo como íon Ca^{2+} . É necessário um considerável gradiente de potencial eletroquímico, o qual impulsiona o influxo de Ca^{2+} nas células, por meio de diversos canais permeáveis, cuja abertura é fortemente regulada (PRIMO-MILLO, 2017). Ainda segundo este autor, o Ca^{2+} se transporta das raízes para cima

pelo xilema, seja na forma de íon livre, como na forma de complexos com ácidos orgânicos. A raiz precisa efetuar uma forte descarga de Ca^{2+} no xilema para suprir a alta demanda do nutriente na parte aérea, especialmente das folhas onde se alcançam concentrações bem elevadas, sendo o fluxo majoritário ocorrendo via apoplasto, através do córtex da raiz até a endoderme.

A taxa de transporte de Ca^{2+} pelo floema é muito baixa, por isso os órgãos maduros ou senescentes retêm uma grande quantidade desse elemento. A baixa mobilidade do íon pode ser constatada pelo fato da concentração desse elemento nas folhas aumentar com a idade das mesmas, o que indica uma tendência cumulativa (EMBLETON, 1973; REUTHER; SMITH, 1950). Segundo Kadyampakeni e Morgan (2020), a deficiência de Ca é muito rara, uma vez que aplicações ocasionais de calcáreo são usadas para controlar a acidez do solo.

Magnésio

O magnésio (Mg) participa de funções vitais essenciais da planta, como a fotossíntese, a biossíntese de proteínas e a transcrição de mensagens genéticas. Também interfere no processo de transferência de energia metabólica na planta, já que as ATPases utilizam como substrato um complexo Mg-ATP. Além disso, os íons desse elemento são necessários para a formação do ATP a partir da fosforilação do ADP (PRIMO-MILLO, 2017).

Na solução do solo, está presente como íon Mg^{2+} e assim é absorvido pelas raízes. O Mg^{2+} se transporta das raízes para a parte aérea pelo xilema, tanto na forma de íon livre como unido a ácidos orgânicos, mediante ligações complexas. A taxa de transporte para cima é influenciada pela intensidade do fluxo gerado no xilema pela transpiração e pela demanda de Mg^{2+} na parte aérea (MALAVOLTA, 1980; PRIMO-MILLO, 2017). Diferente do que se observa no Ca, também se move via floema, ocorrendo rapidamente sua translocação das folhas maduras para os órgãos vegetativos e frutíferos em desenvolvimento. Devido a essa grande mobilidade, as folhas velhas são as primeiras a demonstrar sintomas de deficiência (KADYAMPAKENI; MORGAN, 2020). Ainda segundo esses autores, o calcário dolomítico, frequentemente usado para corrigir a acidez do solo, é uma fonte de Mg mas altos níveis de cálcio em solos alcalinos pode ser antagonico à absorção de Mg.

Manganês

O manganês (Mn) é um micronutriente essencial para o citros, já que interfere em diversos processos metabólicos. Na fotossíntese, particularmente, desempenha um papel importante, formando o complexo Mn-proteína, o qual necessita de ao menos 4 átomos desse elemento para formar o centro de reação que catalisa a oxidação da água induzida pela luz. O íon Mn^{+2} é o cofator da superóxido dismutase, presente nas mitocôndrias, peroxissomos e cloroplastos, sendo também necessário para a atividade de algumas enzimas respiratórias do ciclo de Krebs. Por fim, desempenha uma função na manutenção da estrutura dos cloroplastos (PRIMO-MILLO, 2017).

Segundo Malavolta (1980), as raízes dos citros absorvem o manganês do solo na sua forma mais reduzida, como cátion bivalente Mn^{+2} . Em solos ácidos, a absorção de Mn é maior (Figura 2), já que existe uma maior liberação de Mn^{+2} na solução do solo, provenientes das formas insolúveis. Além disso, a deficiência de ferro pode incrementar a absorção de Mn.

Uma vez absorvido, o Mn^{+2} se transporta até a parte aérea pelo xilema, dirigindo-se preferencialmente aos órgãos jovens em desenvolvimento, onde fica acumulado em sua maior parte. Por isso, a taxa de translocação do manganês pelo floema, das folhas maduras para as brotações novas, é limitada. Padrões de deficiência leve temporária em novos brotos não são prejudiciais ao crescimento ou frutificação de árvores cítricas. Medidas corretivas podem ser tomadas em caso de sintomas persistentes de deficiência (KADYAMPAKENI; MORGAN, 2020).

Zinco

O zinco (Zn) é outro micronutriente que atua como cofator de enzimas e, e junto com o cobre (Cu), algumas superóxidos dismutases. Esse elemento contribui com a manutenção da estrutura e funcionamento da membrana plasmática, impedindo a oxidação de certos grupos das proteínas e a peroxidação dos lipídios. Também ativa a RNA polimerase e participa na estabilidade do ribossomo (PRIMO-MILLO, 2017).

As raízes das plantas cítricas absorvem o nutriente na forma iônica Zn^{+2} . Da mesma forma que o Mn, em solos ácidos há uma maior liberação de Zn^{+2} na solução, oriundas das formas insolúveis, por isso nesses solos a absorção é elevada (Figura 2). Por outro lado, em solos alcalinos ocorre a fixação do cátion no complexo argilo-húmico (KADYAMPAKENI;

MORGAN, 2020). Segundo Primo-Millo (2017), o incremento na concentração de Cu na solução do solo reduz a absorção de Zn^{+2} pelas raízes.

Depois de absorvido pelas células da epiderme e do córtex da raiz, o Zn^{+2} se movimenta pela via simplástica até o xilema, através dos plasmodesmos, e ao chegar nos vasos é arrastado pela corrente de transpiração até os órgãos aéreos, onde é imobilizado em sua maior parte. Porém uma pequena proporção do Zn acumulado nas folhas maduras pode se remobilizar até as novas brotações ou aos frutos pelo floema (PRIMO-MILLO, 2017). A deficiência severa de Zn restringe o crescimento e reduz a produção de frutos, e reduz o tamanho das novas brotações e das folhas, acompanhada de clorose acentuada do limbo entre as nervuras (DECHEN *et al.*, 2004).

Cobre

Apesar da forma majoritária do cobre (Cu) na solução do solo ser o íon Cu^{+2} , as plantas o absorvem principalmente como íon Cu^{+} (PRIMO-MILLO, 2017). Este nutriente regula vários processos bioquímicos da planta e tem função importante no metabolismo das raízes, pois a concentração de cobre em raízes fibrosas, em citros, pode ser de cinco a dez vezes maior que em folhas (DECHEN *et al.*, 2004).

A essencialidade do cobre (Cu) se deve fundamentalmente à sua presença em diversas proteínas envolvidas em processos de oxirredução. A mais abundante delas é a plastocianina, uma proteína cloroplástica que atua na fotossíntese. Outra é a citocromo C oxidase, uma enzima respiratória, que catalisa a transferência de elétrons até o oxigênio nas mitocôndrias (PRIMO-MILLO, 2017).

Segundo Malavolta e Violante-Netto (1989), o Cu é considerado um elemento imóvel no floema, por isso os sintomas de deficiência se mostram, em geral, nas folhas mais novas, as quais ficam grandes e verde escuras. Os ramos ficam alongados e ondulados nos estádios iniciais, e ocorrem gemas múltiplas e novos brotos podem se formar nos nós.

Ferro

O ferro (Fe) é um elemento abundante na maioria dos solos, onde se encontra em proporções que, normalmente, oscilam entre 0,02 e 5%. Porém a concentração de Fe total não

é um indicativo da disponibilidade do mesmo para as plantas, sendo o íon Fe^{+2} a única forma diretamente absorvível pelas raízes dos citros (PRIMO-MILLO, 2017).

A essencialidade do ferro para a planta deriva da importância das proteínas às quais está unido, constituindo um elemento fundamental para sua atividade. Segundo Primo-Millo (2017), a biossíntese da clorofila é dependente do Fe, e os átomos desse elemento atuam como doadores ou receptores de elétrons, refletindo sua importante participação na respiração e na fotossíntese, como componente dos citocromos e da ferredoxina, os quais formam parte da cadeia de transporte de elétrons.

Os íons de Fe se encontram nos solos principalmente na forma trivalente, mas são transportados ao interior das células no estado bivalente, portanto precisa ser reduzido antes de ser absorvido. Aceita-se, de forma geral, que o Fe se transporta majoritariamente pelo xilema, e em menor proporção pelo floema (MALAVOLTA, 1980), no qual a remobilização dos órgãos maduros para as novas brotações em formação é escassa. Essa baixa taxa de translocação faz com que o elemento se acumule nas folhas mais velhas, causando os sintomas de deficiência em folhas novas. Níveis elevados de Zn^{+2} e Mn^{+2} no meio de cultivo podem induzir deficiência de Fe (KADYAMPAKENI; MORGAN, 2020).

Boro

O boro (B) é absorvido pelas raízes na forma de ácido bórico dissociado. Está envolvido no funcionamento de vários sistemas enzimáticos, metabolismo de carboidratos e viabilidade do pólen e formação dos vasos condutores (MALAVOLTA, 2008). O trabalho de Boaretto et al. (2004) mostrou que o B é móvel no xilema, que é a principal forma de transporte deste das raízes para a parte aérea, mas é pouco móvel no floema, por onde deveria ser transportado das folhas que recebem a adubação foliar para as partes jovens da planta, que são os principais drenos.

A maior parte do boro (B) da planta se encontra unido às paredes celulares mediante ligações éster do ácido bórico com os grupos cis-diol de algumas moléculas. Isso reflete, portanto, na sua importância na manutenção da estrutura da parede celular e, possivelmente, sua participação na formação e expansão da mesma (PRIMO-MILLO, 2017). Portanto, a deficiência de B reduz a atividade de diversas enzimas hidrolíticas da parede celular, que desempenham um papel fundamental no crescimento celular (expansão). O boro deve ser

aplicado todos os anos no solo ou foliar, mas não ambos. A aplicação foliar para corrigir deficiência é mais vantajosa devido à rápida absorção das árvores (KADYAMPAKENI; MORGAN, 2020).

Enxofre

O enxofre (S) é absorvido pelas raízes como íon sulfato (SO_4^-), mas pode ser absorvido, também, pelos estômatos das folhas na forma de dióxido de enxofre (SO_2) (PRIMO-MILLO, 2017). Na planta, o S se desloca da raiz à parte aérea pelos vasos do xilema, na forma de ânion (SO_4^{2-}). Diferente do que ocorre com outros macronutrientes, o deslocamento do S dos tecidos maduros para os órgãos jovens em desenvolvimento é bastante restrito, por isso a deficiência de S geralmente é vista primeiramente nas folhas mais novas (KADYAMPAKENI; MORGAN, 2020).

Quanto às funções, o S participa desde a formação de aminoácidos e proteínas, até controle hormonal, fotossíntese e mecanismos de defesa da planta contra patógenos. Faz parte da composição de coenzimas, como tiamina e biotina, e da coenzima A (CoA), composto essencial no estágio inicial do ciclo de Krebs – uma das etapas do processo de respiração celular dos organismos aeróbios (VITTI; OTTO; SAVIETO, 2015).

As plantas perenes, como os citros, dependem de duas fontes principais de nutrientes: absorção de elementos minerais do solo pelas raízes e remobilização de nutrientes dos tecidos (MARSCHNER, 2012). A remobilização é avaliada estudando a variação do conteúdo mineral dos órgãos do ano atual em comparação com os órgãos mais antigos (FIFE; NAMBIAR, 1984). Alguns cálculos realizados, tanto em bases sazonais quanto anuais, mostraram que a remobilização fornece uma grande parte da demanda anual por elementos como P, N e Mg (DIERBERG; STRAUB; HENDRY, 1986).

A capacidade de absorção de cada nutriente varia de acordo com o ambiente e o estágio de desenvolvimento da planta, e sua disponibilidade é um dos principais fatores que regulam as taxas de absorção (PRIMO-MILLO, 2017). Segundo Kerbauy (2013), na solução do solo tanto os cátions como os ânions estão presentes em concentrações e formas diferentes, e estes podem interagir durante sua absorção por sinergismo ou inibição. O primeiro ocorre quando a absorção de um elemento é estimulada pela presença do outro, como, por exemplo, quando o Mg aumenta a absorção de P, enquanto baixas concentrações de Zn também

induzem o mesmo efeito. Já a inibição ocorre quando há redução na taxa de absorção de certo elemento em virtude da presença de outro, como ocorre quando há competição por sítios transportadores.

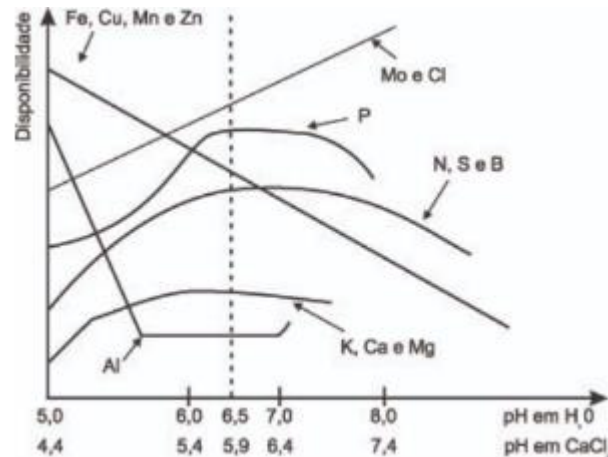


Figura 2. Relação entre o pH e a disponibilidade dos elementos no solo. Fonte: MALAVOLTA (1980)

De acordo com De Mattos Júnior *et al.* (2005), o manejo ideal visa o fornecimento de nutrientes adequado e sincronizado com os períodos de maior demanda da planta. Se um único elemento estiver abaixo do nível crítico de disponibilidade, o crescimento e o rendimento da cultura são prejudicados, mesmo se os outros elementos estiverem em oferta suficiente, conforme a ‘Lei do Mínimo’, estabelecida por Liebig (VAN DER PLOEG; BÖHM; KIRKHAM, 1999).

A adoção de técnicas que permitam verificar o estado nutricional das plantas para determinar a quantidade de fertilizante a ser fornecida é imprescindível. A adubação adequada, somada ao manejo e tratos culturais eficientes, representa um dos principais fatores para obtenção de altas produtividades e melhores qualidades dos frutos (TORRES, 1996).

3.3. Métodos de análise

Existem duas práticas consolidadas que o citricultor pode usar para confirmar diagnósticos de deficiência, excesso ou desequilíbrio, distinguir entre anormalidade

nutricional e outras causas, e prevenir ou corrigir essas desordens. A técnica mais tradicional é a análise do solo, que deve ser feita todos os anos. Ela fornece uma primeira indicação a respeito das carências ou excessos no mesmo, que poderão interferir no desenvolvimento da cultura, e que necessitam ser corrigidos. A indicação mais segura sobre o estado nutricional, entretanto, é dada pela análise das folhas, que não dispensa a análise do solo, mas a complementa (MALAVOLTA *et al.*, 1994).

Coleta e análise de solos

Os métodos empregados para a análise química de solo no Estado de São Paulo são referentes ao Sistema IAC de Análise de Solo. As principais características desses métodos são a extração simultânea de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) com a resina trocadora de íons. Tais métodos são ajustados às condições de solos tropicais e subtropicais, mas apresentam boa adaptação às características de outros solos (QUAGGIO *et al.*, 2018).

A eficiência da análise de solo depende da representatividade da amostra de terra em relação à área ou talhão a ser considerado. A amostragem de solo deve ser feita em glebas ou talhões homogêneos quanto à cor e textura do solo, posição no relevo e manejo do pomar, idade das árvores, combinações de copa e porta-enxerto e produtividade (VAN RAIJ *et al.*, 1997). As amostras de solo devem ser coletadas nas profundidades de 0-20 cm, com o intuito de recomendar a adubação e a calagem, e de 20-40 cm, com o objetivo de diagnosticar barreiras químicas ao desenvolvimento das raízes, ou seja, deficiências de Ca e ou excesso de alumínio (QUAGGIO; DE MATTOS JÚNIOR; CANTARELLA, 2005).

Pensando numa maior eficiência e representatividade da amostragem, recomenda-se coletar 10 a 15 subamostras por talhão, com trados do tipo holandês ou sonda. Em pomares formados, a amostragem deve ser feita anualmente, sendo a melhor época entre a segunda e terceira parcelas de adubação, garantindo-se um intervalo mínimo de 30 dias após a última adubação. Para melhor representar o sistema radicular dos citros, em pomares não irrigados, as subamostras devem ser retiradas na faixa de adubação, sendo uma subamostra coletada cerca de 50 cm para dentro e outra 50 cm para fora da projeção da copa das árvores. A época mais apropriada para coleta é de março a abril, garantindo-se um intervalo mínimo de 60 dias após a última adubação (QUAGGIO *et al.*, 2018).

Como recomendação geral, o citricultor deve procurar manter os solos dos pomares nas classes de teores médios para todos os nutrientes e para a saturação por bases, evitando, assim, deficiências ou excessos, pois ambos limitam a produtividade e a qualidade dos frutos cítricos (MALAVOLTA *et al.*, 1994). Padrões de fertilidade do solo foram definidos por meio de curvas de calibração das análises de macro (Tabela 1) e de micronutrientes (Tabela 2) no solo, específicas para citros.

Tabela 1. Interpretação de resultados de análise de solo para macronutrientes e saturação por bases na camada arável do solo para a citricultura. Fonte: Novo Boletim 100 (QUAGGIO *et al.*, 2018).

Classes de teores	P-resina mg dm ⁻³	K mmolc dm ⁻³	Mg	Saturação por bases %
Baixo	<15	<1,5	<5	<50
Médio	15-30	1,5-3,0	5-9	50-70
Alto	>30	>3,0	>9	>70

Tabela 2. Interpretação de resultados de análise de solo para micronutrientes na camada arável do solo para a citricultura. Fonte: Novo Boletim 100 (QUAGGIO *et al.*, 2018).

Classes de teores	B	Cu ⁽¹⁾	Mn	Zn
	----- mg dm ⁻³ -----			
Baixo	<0,6	<2,0	<5,0	<5,0
Médio	0,6-1,0	2,0-5,0	5,0-10,0	5,0-10,0
Alto	>1,0	>5,0	>10,0	>10,0

(1) Valores acima de 10 mg dm⁻³ podem causar toxicidade às raízes dos citros

No planejamento da adubação, a análise de solo é uma ferramenta fundamental para melhor entender as demandas da cultura pelos diversos nutrientes ao longo do ciclo de produção. A manutenção dos níveis adequados de saturação por bases (V% = 50-70%) também é importante na condução do pomar, e o investimento em aplicação de calcário e gesso deve ser levado em conta, considerando os resultados encontrados (DE MATTOS JÚNIOR; BATTAGLIA; QUAGGIO, 2005).

Coleta e análise de folha

Os citros armazenam na biomassa, grande quantidade de nutrientes que podem ser redistribuídos, principalmente, para órgãos em desenvolvimento como folhas e frutos. Por essa razão, a análise foliar é uma ferramenta bastante útil para complementar a análise de solo e aferir o equilíbrio nutricional da planta cítrica. Ao contrário da análise de solo, a análise química de folhas determina os teores totais dos nutrientes, no tecido vegetal, e é menos sujeita a interferência devido ao método empregado, que tem por base a digestão da amostra por via seca a 550 °C ou úmida, utilizando-se ácidos concentrados ou misturas aquecidas a temperaturas até 350 °C (BATAGLIA, 1983; MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Os teores foliares dos nutrientes não dependem unicamente da disponibilidade do elemento no solo, pois sofrem influência de vários outros fatores como taxa de crescimento da planta, idade da folha, combinações copa e porta-enxerto, e interações com outros nutrientes (QUAGGIO *et al.*, 2018). Os teores de nutrientes com boa redistribuição dentro da planta, como N, P e K, diminuem com a idade da folha, enquanto os teores de nutriente imóveis, como Ca e B, aumentam nas folhas mais maduras (KADYAMPAKENI; MORGAN, 2020).

Segundo o Novo Boletim 100 (QUAGGIO *et al.*, 2018), a amostragem deve ser feita coletando-se a 3ª ou 4ª folha do ramo com fruto, geradas na primavera, próximas dos seis meses de idade, entre fevereiro e março, em ramos com frutos de 2 a 4 cm de diâmetro. O ideal é amostrar pelo menos 25 árvores por talhão, coletando-se quatro folhas não danificadas por árvore, uma em cada quadrante e na altura mediana da copa. Cuidado com pulverizações com adubos foliares ou o uso de defensivos contendo nutrientes, pois podem ficar aderidos na superfície do limbo foliar por muito tempo. Recomenda-se, portanto, não coletar folhas em um intervalo mínimo 30 dias após a última pulverização. As amostras devem ser acondicionadas em sacos de papel e enviadas para o laboratório em período inferior a dois dias após a coleta no campo.

A interpretação do resultado da análise foliar é feita comparando-se os resultados do laboratório com valores apresentados na Tabela 3, e com base nisso se define um programa de adubação, buscando manter os níveis dentro do adequado (QUAGGIO *et al.*, 2018).

Tabela 3. Faixas para interpretação de teores de macro e micronutrientes nas folhas de citros, geradas na primavera, com seis meses de idade, de ramos com frutos de 2 a 4 cm de diâmetro.

Fonte: Novo Boletim 100 (QUAGGIO *et al.*, 2018).

Nutriente	Baixo	Adequado	Alto
----- g kg ⁻¹ -----			
N	<25	25-30	>30
P	<1,2	1,2-1,6	>1,6
K	<12	12-16	>16
Ca	<35	35-50	>50
Mg	<3,5	3,5-5,0	>5,0
S	<2,0	2,0-3,0	>3,0
----- mg kg ⁻¹ -----			
B	<50	75-150	>150
Cu	<10	10-20	>20
Fe	<50	50-150	>150
Mn	<35	35-70	>70
Zn	<50	50-75	>75
Mo	<0,5	0,5-2,0	>2,0

Outras tecnologias

Além das duas ferramentas descritas acima, atualmente estão disponíveis outras tecnologias que permitem o diagnóstico rápido da disponibilidade dos nutrientes e do estado nutricional das plantas, como a análise da solução do solo, da clorofila e da seiva das plantas, e que possibilitam ajustes imediatos na adubação que vem sendo conduzida (PAYE *et al.*, 2018).

Apesar dos benefícios e vantagens observados em campo, ainda há carência de informações validadas, relacionadas ao uso isolado ou associado dessas tecnologias, principalmente da análise de seiva das plantas.

Uma das premissas mais antigas da análise foliar baseia-se na ideia de que o conteúdo de nutrientes acumulados na planta seria proporcional à sua disponibilidade no solo. Entretanto, diversos fatores interferem nas relações entre os teores no solo e o conteúdo na planta (VAN RAIJ, 1981). Além disso, a análise foliar representa o acúmulo de nutrientes, desde a formação da folha até sua coleta. Nesse contexto, a análise da seiva tem sido considerada uma nova tecnologia para avaliar o estado nutricional das plantas no momento da amostragem. Trata-se de uma técnica de diagnóstico bastante precisa e sensível às oscilações

dos nutrientes nas plantas, tanto durante o ciclo de cultivo como em resposta a uma adubação (PAYE *et al.*, 2018).

O xilema e o floema são essenciais para a troca de solutos e sinais entre os órgãos das plantas terrestres. A sinergia de ambos permite o transporte, a partição de água, nutrientes, produtos metabólicos e sinais entre os órgãos das plantas. A coleta e análise da seiva do xilema permitem suposições sobre a quantidade de nutrientes transportados no fluxo de transpiração (ALEXOU; PEUKE, 2013).

De acordo com Moreira (2015), o xilema é o tecido responsável pelo transporte de água e sais minerais solúveis a partir das raízes até a parte aérea, e por repor os níveis de água durante a transpiração e fotossíntese. As taxas de fluxo de solutos da seiva do xilema são a soma da absorção líquida do solo mais a recirculação de solutos através da seiva do floema. A importância relativa desses mecanismos ainda é motivo de discussão (DAMBRINE *et al.*, 1995).

A composição da seiva do xilema foi utilizada como ferramenta de diagnóstico da disponibilidade de nutrientes do solo em relação às exigências de nutrientes em árvores adultas (STARK; ESSIG; BAKER, 1989). Em contraste, Kazda e Weilgony (1988) enfatizaram que a composição da seiva do xilema reflete principalmente a translocação de elementos internos ao invés da disponibilidade de nutrientes do solo. Portanto, medições de concentração e fluxos de nutrientes na seiva do xilema são necessárias para maiores esclarecimentos. É importante considerar que o procedimento de extração, o tipo de órgão de onde a seiva é extraída, a época de amostragem, a disponibilidade de nutrientes do solo e o potencial hídrico do solo são fatores que podem causar variabilidade nos resultados encontrados (DAMBRINE *et al.*, 1995).

Assim como qualquer método de diagnose nutricional, diversos fatores influenciam a concentração de nutrientes na seiva, como a concentração de nutrientes na solução do solo, a quantidade de água presente no solo (precipitação e/ou irrigação), os estádios de desenvolvimento da cultura, a temperatura, a hora do dia, estações do ano, e a idade das plantas (Souza *et al.*, 2018). No entanto, as concentrações mais altas de nutrientes na seiva do xilema em comparação com as soluções do solo sugerem que o conteúdo de seiva é afetado principalmente pelo status dos nutrientes da árvore, e não pela disponibilidade de nutrientes no solo (DAMBRINE *et al.*, 1995).

Mesmo com certas dificuldades na interpretação dos resultados, a análise da seiva demonstra ter maior sensibilidade, além de outras vantagens sobre a diagnose foliar. Cadahía e Lucena (2000) citam algumas vantagens da análise da seiva em relação à análise convencional de tecido foliar: variação na concentração de nutrientes absorvidos durante o desenvolvimento da cultura; rápida resposta à adubação, com a possibilidade de realizar correções de doses e fontes; detecção da falta de algum nutriente na planta antes do surgimento de sintomas visuais, expressando a mudança que está ocorrendo na solução do solo e/ou na seletividade da planta em função do desbalanço de íons.

A análise da seiva é realizada na Espanha para diversas culturas como tomate, pimentão, melão, trigo, milho, rosa, cana-de-açúcar e citros (CADAHÍA; LUCENA, 2000). No Brasil, algumas pesquisas com tomate (BLANCO, 2004; CANTARELLA, 2007; FONTES; RONCHI, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2003), rúcula (PURQUERIO, 2005) e laranja (SOUZA *et al.*, 2012) já foram realizadas utilizando esta técnica. Esses trabalhos apresentam altas correlações entre os teores observados na análise do tecido foliar, a concentração do nutriente na seiva da planta e a produtividade das culturas.

Amostragem

A amostra deve ser representativa e realizada com os mesmos critérios da análise foliar. O material convencionalmente chamado de “seiva” corresponde ao líquido extraído de uma parte específica das plantas, geralmente de tecidos condutores (CADAHÍA; LUCENA, 2000). A quantidade de material amostrado depende da parte da planta a ser utilizada e do método de extração.

Segundo Medina (2002) as coletas devem ser feitas no amanhecer, quando a tensão nos vasos do xilema não é tão alta e ainda existe certa transpiração nas plantas. Além disso, evitar coletar após adubações, fertirrigações ou mesmo após chuvas. Após a coleta das amostras, o transporte do campo ao laboratório e o processamento deve ser realizado em menor tempo possível, pois a extração é feita com o material fresco. Se for necessário, usar compartimento térmico com gelo para uma manutenção provisória das amostras.

Tempo e frequência

A consistência é um aspecto crítico da amostragem da seiva da planta, pois tanto a hora do dia quanto a frequência devem permanecer constantes para comparar os resultados. A hora do dia é um fator essencial, pois as concentrações de nutrientes podem variar ao longo do dia (ESTEVES *et al.*, 2021b). Em um experimento com tomates, valores mais altos de seiva de NO_3^- , NH_4^+ e H_2PO_4^- foram encontrados à tarde (OLIVEIRA *et al.*, 2003). No entanto, nas videiras ‘Sultana’, os níveis de K foram 50% mais baixos à tarde (NAGARAJAH, 1999). O horário de coleta de amostras de seiva também tem sido inconsistente entre diferentes estudos. As flutuações na concentração de nutrientes provavelmente estão associadas às variações do potencial hídrico foliar; portanto, o horário da manhã pode ser sugerido para amostragem de seiva, pois isso minimizaria a variabilidade (VITOSH; SILVA, 1996).

A frequência de amostragem é outro fator a ser considerado. Ao trabalhar com pimentão em condições de casa de vegetação, o teor de nitrato da seiva do pecíolo permaneceu relativamente estável ao longo do ciclo da cultura (RODRÍGUEZ *et al.*, 2021). Resultados semelhantes foram encontrados em melão e tomate (PEÑA-FLEITAS *et al.*, 2015). No entanto, em condições de campo aberto, os níveis de nutrientes podem aumentar ou diminuir dependendo do estágio da cultura (CADAHÍA, 2008; KADYAMPAKANI; MORGAN, 2020). Culturas perenes em condições de campo aberto, como os citros, podem exigir mais de uma amostragem por safra, e a frequência dependeria, também, do mercado e da variedade.

3.4. Métodos de extração de seiva do xilema

A extração da seiva pode ser realizada por diferentes métodos: a) extração com auxílio de prensas (BLANCO, 2004; FONTES; RONCHI, 2002), b) extração com éter etílico e posterior congelamento de amostras (CADAHÍA; LUCENA, 2000), c) extração utilizando câmara de pressão, d) coleta de exsudatos (OLIVEIRA *et al.*, 2003) e e) extração realizada com acetato de etila, 1-butanol, éter de petróleo ou xileno (MORENO; GARCÍA-MARTINEZ, 1980). Em todos eles, os autores denominam seiva o material extraído. A quantidade obtida geralmente é pequena, e costuma apresentar elevada concentração de nutrientes. Desta forma, o material extraído poderá ser diluído e apenas, se necessário, filtrado (PAYE *et al.*, 2018). É possível determinar com facilidade os seguintes nutrientes: N- NO_3^- , N- NH_4^+ , N-orgânico, P, K, Ca, Mg, Na, Cl, Fe, Cu, Zn, Mo e B, além de aminoácidos e açúcares. Ainda segundo PAYE *et al.* (2018) a leitura da concentração dos nutrientes na seiva

poderá ser realizada no campo, utilizando kits específicos, ou analisada em laboratório, utilizando espectrômetros de plasma de argônio ou de emissão atômica, fotômetro de chama, entre outros métodos.

Considerando o método de extração por câmara de pressão, quatro procedimentos simples para coleta de seiva do xilema podem ser executados, a maioria dos quais também pode ser aplicada no campo: (1) exsudação de pressão de raiz, (2) câmara de pressão Scholander-Hammel, (3) câmara pressurizadora do sistema radicular (PASSIOURA, 1980), e (4) bomba de vácuo operada manualmente ou por bateria (ALEXOU; PEUKE, 2013).

Câmara de pressão Scholander-Hammel

De acordo com o método de Scholander et al. (1965), proposto nesse trabalho, a pressão do gás é aplicada a uma parte/galho da planta para compensar a pressão negativa nos vasos de xilema e, assim, causar fluxo de seiva na direção oposta. Geralmente é usado para ramos e raízes de árvores e arbustos, que uma vez cortados do caule, devem ser levados ao dispositivo o mais rápido possível. Este dispositivo consiste principalmente de um cilindro metálico vertical (50 cm de comprimento dependendo do modelo) em um suporte, com a extremidade superior aberta e sua parte inferior firmemente fixada neste suporte. O cilindro é fornecido com N₂ proveniente de um cilindro de gás fixado na lateral do dispositivo, e pode ser hermeticamente fechado com um copo especial, no meio do qual o ramo ou raiz é posicionado apropriadamente para fins de amostragem (ALEXOU; PEUKE, 2013).

Rep et al. (2002) usaram um método simples de extração de seiva do xilema (SATOH et al., 1992) para procurar fatores de virulência secretados *in planta* do patógeno fúngico, em que caules cortados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* foram colocados na posição horizontal e a seiva foi obtida da superfície cortada. Floerl et al. (2008) utilizaram uma câmara de pressão de Scholander para obter seiva de xilema de colza infectada com *Verticillium longisporum*.

De acordo com Flajšman et al. (2017), é difícil tirar qualquer conclusão sobre qual método funciona melhor para qual tipo de planta, pois não foram realizados estudos comparativos sobre os métodos em diferentes espécies. Aparentemente, as espécies de plantas com caules macios e suculentos não precisam de pressão adicionada para obter a seiva do xilema, e métodos simples são eficientes para o procedimento. Isso pode estar relacionado à pressão da raiz, que faz com que a seiva do xilema suba através do caule da planta em direção

às folhas devido à osmose nas raízes (TAIZ; ZEIGER, 2010). As plantas de lúpulo têm raízes lenhosas e a exposição das raízes à pressão não causa danos ao tecido radicular e nenhuma contaminação (por exemplo, com líquidos do citosol, membranas celulares e outras partes). Portanto, Flajšman et al. (2017) usaram uma câmara de pressão Scholander para coleta.

Análise de amostras

A análise da seiva da planta pode ser realizada por um laboratório com equipamentos especializados ou pelo usuário/agricultor com dispositivos portáteis. No entanto, antes de qualquer análise, pode ser necessária uma diluição. Normalmente, a seiva é diluída porque a concentração do nutriente excede a faixa de medição do dispositivo (HARTZ, 2003; THOMPSON *et al.*, 2017).

Dispositivos portáteis são geralmente um método mais rápido e barato para obter resultados (GOFFART; OLIVIER; FRANKINET, 2008; HOCHMUTH, 2012). Ao usar algumas tiras seletivas de íon, um reagente de cor é adicionado à seiva prensada e a cor é comparada com uma cor padrão do gráfico que indica diferentes níveis (baixo, médio e alto) (HAVLIN; TISDALE; NELSON, 2013). Essas tiras também podem ser analisadas com um leitor baseado em reflectometria, que atualiza o método de semiquantitativo para quantitativo (HOCHMUTH, 2012; PARKS; IRVING; MILHAM, 2012).

Em Cadahía (2008) foi utilizado espectrofotometria de absorção atômica e Llanderal *et al.* (2019) utilizaram cromatografia líquida de alta eficiência. JORIS et al. (2014) utilizaram o método de Kjeldahl para formas inorgânicas de N, e digestão sulfúrica e destilação para o restante dos nutrientes. Um espectrômetro de plasma também foi usado para analisar seiva em citros (ARNON, 1939), enquanto em Ceballos-Laita et al. (2018), um analisador de fluxo segmentado contínuo foi usado para medir os níveis de seiva de tomate e pimentão, respectivamente.

A vasta gama de métodos para cada etapa é evidente. As diferenças de metodologias tornam mais desafiador interpretar resultados, desenvolver níveis de referência e difundir o conceito entre usuários/produtores. A exatidão e precisão podem diferir de método para método, além do tempo de resposta para a obtenção dos resultados (ESTEVES *et al.*, 2021b).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no município de Botucatu, Estado de São Paulo, em área da Fazenda Anhumas, pertencente à empresa Alfa Citrus, com a variedade de copa ‘Laranja Pêra’ sobre o porta-enxerto ‘Limão Cravo’. A propriedade se encontra a 520 m de altitude, o solo é um Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico, de textura média, e o clima é classificado como Cfa, segundo (KÖPPEN; GEIGER, 1936).

O talhão onde o experimento foi realizado não possui sistema de irrigação e foi plantado em 2008, com o espaçamento 6,5 m entre as linhas e 3,0 m entre plantas, totalizando 12 hectares com 6169 plantas. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com cinco repetições, e cada parcela era constituída de uma única planta aleatoriamente distribuída no talhão (Figuras 3 e 4). O trabalho foi conduzido durante o ano de 2019, estando as plantas com 11 anos de idade.



Figura 3. Distribuição das plantas utilizadas no experimento, no talhão 10 da Fazenda Anhumas.]



Figura 4. Disposição das plantas de citros no talhão 10 da Fazenda Anhumas.

Dados climáticos

Os dados de temperatura são do Agrymax/estação UNESP-Botucatu e os dados de precipitação foram obtidos na própria fazenda, com registros diários (Figura 5).

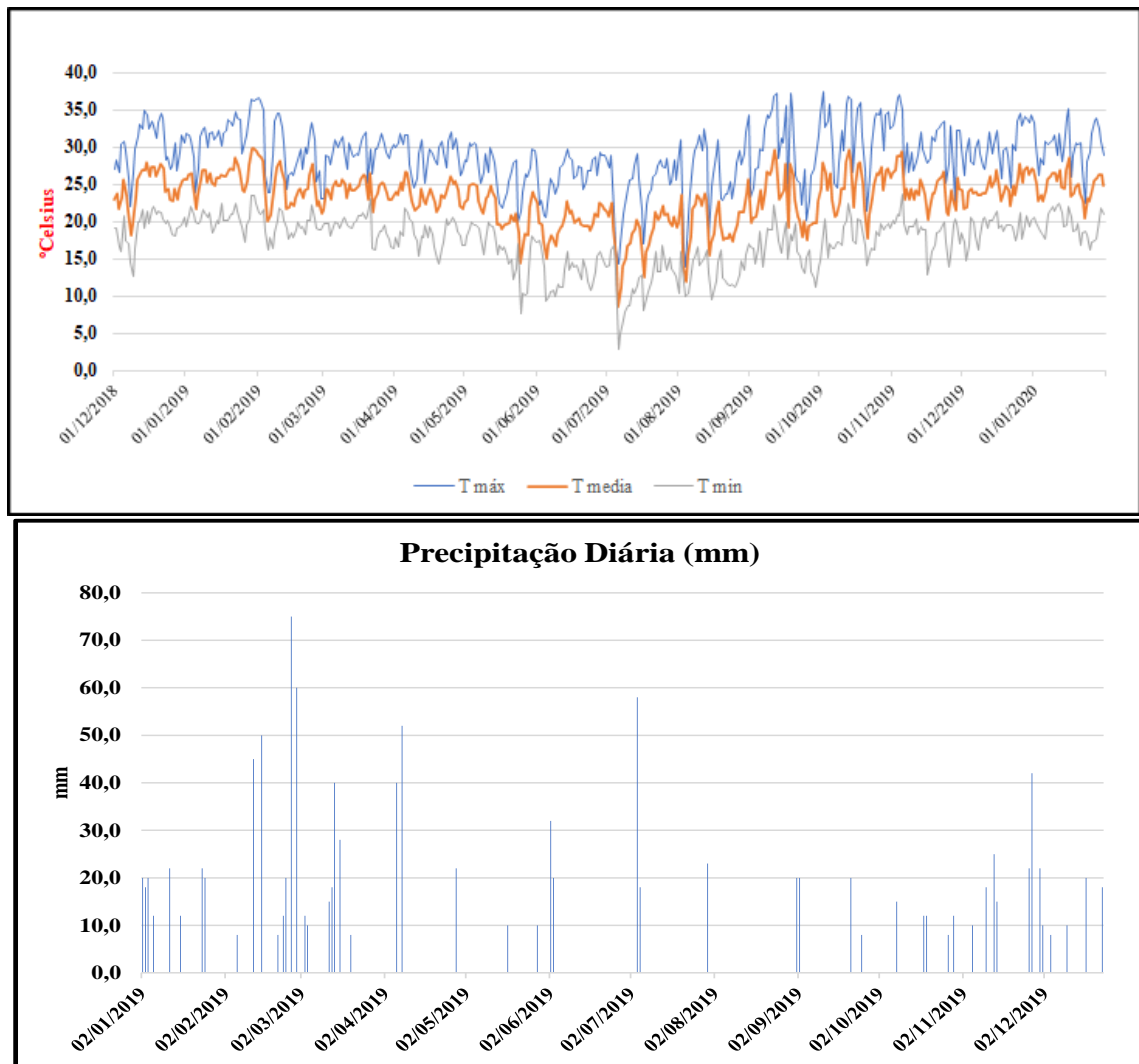


Figura 5. Temperaturas e precipitação diária durante o ano de 2019

O manejo nutricional das laranjeiras na fazenda é feito durante a época das chuvas e dos fluxos vegetativos, visando um maior aproveitamento dos insumos. Micronutrientes foram fornecidos via pulverização foliar, e macronutrientes foram fornecidos via adubação no solo, com uso de formulados NPK, parcelados em 3 aplicações. As dosagens seguiram recomendação técnica dos engenheiros agrônomos responsáveis, em função da demanda da cultura naquele ciclo ou safra.

Aplicação de fertilizantes

As adubações foram realizadas com trator mecanizado e implemento KAMAQ Komander (adubadeira de arrasto com capacidade de 3000 kg). As pulverizações foliares foram feitas com trator mecanizado e turbo-atomizador bilateral de 4000 litros Natali ALFA 4000 – Citrus (Figura 6).

Tabela 4. Descrição dos tratos culturais e coletas realizadas na área durante o período de realização do experimento.

Data	Atividade	Produto	Qtde por planta	Quantidade por ha	Composição	Motivo
26/12/2018	Pulv. Foliar	Mover Stoller	5,65 mL	3 L	Micronutrientes	Nutrição
08/01/2019	Adubação solo	Adubo 16-04-20	590 g	302 kg	N, P, K	Nutrição
24/01/2019	Coleta	Coleta 1	-	-	-	-
01/03/2019	Pulv. Foliar	Comet	1,4 mL	0,7 L	Estrobilurina	Fitossanitário
01/03/2019	Pulv. Foliar	Citrolino Stoller	12,56 mL	6,4 L	Micronutrientes	Nutrição
		Recop	7,85 g	4 kg	Oxicloreto de cobre	Fitossanitário
		Comet	1,25 mL	0,64 L	Estrobilurina	Fitossanitário
14/03/2019	Adubação solo	Adubo 21-00-21	600 g	307 kg	N, P	Nutrição
01/04/2019	Coleta	Coleta 2	-	-	-	-
05/04/2019	Pulv. Foliar	Ureia	15,2 g	7,8 kg	Nitrogênio	Nutrição
		Comet	1,25 mL	0,64 L	Estrobilurina	Fitossanitário
01/05/2019	Pulv. Foliar	Citrolino Stoller	10,86 mL	5,6 L	Micronutrientes	Nutrição
		Comet	1,08 mL	0,55 L	Estrobilurina	Fitossanitário
06/06/2019	Coleta	Coleta 3	-	-	-	-
11/06/2019	Gessagem	Gesso Agrícola	1000 g	512 kg	Enxofre e Cálcio	Nutrição
30/07/2019	Coleta	Coleta 4	-	-	-	-
10/09/2019	Pulv. Foliar	Citrolino Stoller	12 mL	6,1 L	Micronutrientes	Nutrição
20/09/2019	Pulv. Foliar	Sulfato de	0,21 g	0,1 kg	Sulfato de	Nutrição

						Cobre			Cobre	
						Recop	10,64 g	5,5 kg	Oxicloreto de cobre	Fitossanitário
29/09/2019	Adubação solo				Adubo 16-04-20	500 g	256 kg	N, P, K	Nutrição	
02/10/2019	Pulv. Foliar				Neoran	10,94 g	5,6 kg	Oxicloreto de cobre	Fitossanitário	
03/10/2019	Coleta				Coleta 5	-	-	-	-	
04/11/2019	Pulv. Foliar				Neoran	17,33 g	8,8 kg	Oxicloreto de cobre	Fitossanitário	
14/11/2019	Pulv. Foliar				Sulf. Cobre	0,32 g	0,16 kg	Sulfato de Cobre	Nutrição	
						Neoran	16,0 g	8,2 kg	Oxicloreto de cobre	Fitossanitário
03/12/2019	Coleta				Coleta 6	-	-	-	-	
13/12/2019	Adubação solo	Adubo 16-04-20	600 g	307 kg	N, P, K	Nutrição				
23/12/2019	Pulv. Foliar	Nutry Planta Forte	12,23 g	6,3 kg	Micronutrientes	Nutrição				
		Recop	15,3 g	7,8 kg	Oxicloreto de cobre	Fitossanitário				
15/01/2020	Coleta	Coleta 7	-	-	-	-				



Figura 6. Adubadeira Kamaq Komander 60, utilizada para aplicação de fertilizantes no solo (esq.) e Turbo atomizador Natali Alfa 4000 – Citrus (Fonte: Autor e Natali Agrícola).

As fontes de N, P_2O_5 e K_2O utilizadas foram, respectivamente, nitrato de amônio (33% de N), ácido fosfórico (60% de P_2O_5) e cloreto de potássio (60% de K_2O). Os micronutrientes B, Mn, Cu, Mo e Zn foram aplicados via pulverização foliar, conforme Tabelas 1 e 2, nas formas de ácido bórico, sulfato de manganês, sulfato de cobre, molibdato de sódio e sulfato de zinco, respectivamente. Durante o período, também houve a aplicação de gesso agrícola (sulfato de cálcio) no talhão em estudo (Tabela 4).

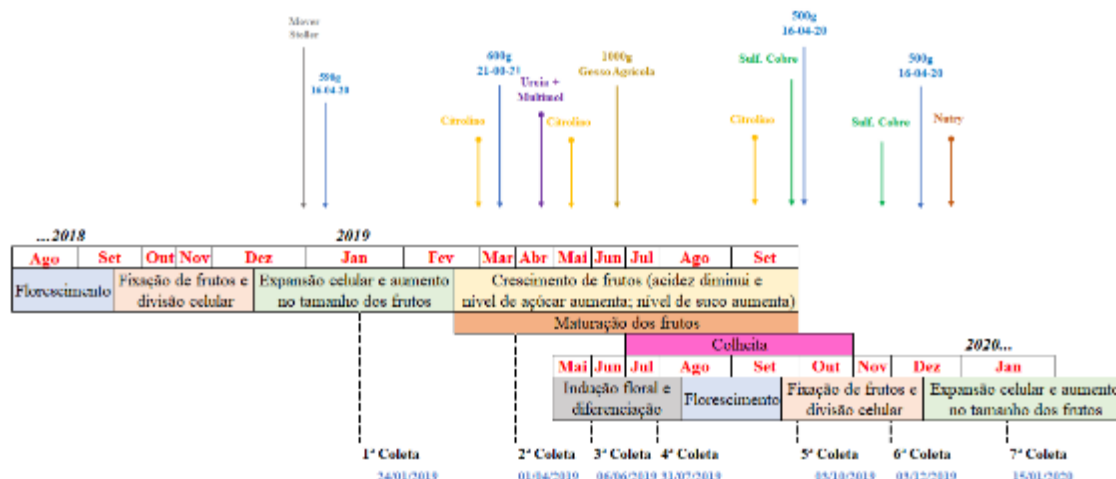


Figura 7. Esquema dos estádios fenológicos com adubações e coletas realizadas no decorrer do experimento.

Tabela 5. Dados sobre composição dos fertilizantes foliares utilizados no manejo da cultura.

Prod. Comercial	Composição	Garantia	%
Mover Stoller	Boro	52 g/L	4,0%
	Zinco	59 g/L	4,5%
	Cobre	2,2 g/L	0,2%
	Molibdênio	0,2 g/L	0,02%
	Nitrogenio	66 g/L	5,0%
Citrolino Stoller	Magnésio**	6,8 g/L	0,5%
	**não vem bula Nitrogênio	68 g/L	5,0%
	Enxofre	63 g/L	4,6%
	Manganês	41 g/L	3,0%
	Zinco	82 g/L	6,0%
Nutry Planta Forte	Boro	30 g/kg	3,0%
	Óxido de Potássio	10 g/kg	1,0%
	Magnésio	40 g/kg	4,0%
	Manganês	90 g/kg	9,0%
	Zinco	90 g/kg	9,0%
	Enxofre	145 g/kg	14,5%

Coletas de folhas e solo

Durante o ano, foram realizadas 7 coletas de seiva, solo e folhas, sendo a primeira em 24 de janeiro de 2019. As coletas seguintes foram feitas num intervalo aproximado de 60 dias,

variando em função de chuvas e trato cultural (adubação). Quando foi feita adubação, aguardou-se um intervalo de 15 e 20 dias para realizar nova coleta.

Foram coletadas 16 folhas por planta, compondo uma amostra de 72 folhas, e seguindo as recomendações de Trani *et al.* (1983). Também foi coletada uma amostra de solo por planta, de 0-20 cm, na projeção da copa, com o uso de trado tipo Sonda, seguindo a recomendação de Van Raij *et al.* (1997), e essas 5 coletas compuseram uma amostra (Figura 8). As folhas foram acondicionadas em sacos de papel, e a amostra de solo em saco plástico, e imediatamente foram levados ao laboratório para análise.



Figura 8. Coleta de solo com uso de trado tipo Sonda Amostradora de 40 cm.

O laboratório responsável pelas análises de solo e folhas foi a TechSolo, no município de Lençóis Paulista-SP. Este laboratório utiliza a metodologia do IAC (Instituto Agrônomo de Campinas) para as análises de solo, e utiliza metodologia dos programas de proficiência da ESALQ (certificação SBCS) para análise de folhas.

Seiva e frutos

Extração da seiva do xilema e análises

As coletas de seiva foram feitas antes do sol nascer, seguindo procedimento descrito por Alexou e Peuke (2013). Para obter a seiva do xilema foi usada uma bomba de Scholander

com câmara de pressão de 10 cm x 50 cm, ou 1.570 L (SAPS II – Model 3115, Soilmoisture Equipment Corp., CA - USA). Os ramos, com tamanho aproximado de 50 cm, foram cortados com lâmina afiada e inseridos na câmara. A região do corte foi lavada com água deionizada e seca brevemente com papel absorvente. O gás (CO₂) foi liberado até a seiva começar a molhar o corte (Figura 6), e as pressões aferidas no manômetro encontram-se na Tabela 6. Retirou-se um ramo por quadrante, na altura mediana da planta, e as seivas foram misturadas, totalizando 3-4 ml por planta. Durante a coleta a seiva foi mantida em gelo e depois, congelada a -20°C, em congelador comum.



Figura 9. Preparo da câmara de Scholander com o ramo de laranjeira para extração de seiva.

Tabela 6. Valores de pressão na bomba de Scholander necessários para a exsudação da seiva no momento de cada coleta, expressos em atm.

Coleta	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4	Planta 5
Coleta 1	12,1	14,0	14,3	18,5	17,3
Coleta 2	16,3	18,1	18,0	21,0	23,4
Coleta 3	18,1	19,0	22,3	23,5	21,4
Coleta 4	15,0	14,5	16,0	16,5	18,3
Coleta 5	17,1	19,0	15,3	18,3	17,3
Coleta 6	14,2	14,5	16,1	15,1	18,7
Coleta 7	10,5	12,0	12,3	13,0	17,0

Parte das amostras de seiva foram secas em estufa 60°C nos tubos de digestão usados para a digestão nitro-perclórica. Em seguida, foram adicionados 4 ml de mistura nitro-perclórica e feita a digestão de acordo com Tezotto *et al.* (2012). O volume do digerido foi ajustado para 10 ml, filtrado e levado para as determinações de nutrientes por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES - Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) em um equipamento Optima 8000 da Perkin Elmer. Os dados de seiva foram expressos em ppm.

Coleta dos frutos e análises

Foram coletados cinco frutos por parcela, quando estes atingiram a maturação (ou ponto de colheita), no mês de setembro, e levados ao laboratório (Figura 10). Foi feita a pesagem dos frutos, extração do suco por meio de espremedor convencional, e o resto do material foi seco em estufa (60°C) por 14 dias, quando se obteve a massa seca (Figura 11). Foram calculados o volume de suco/fruto e a massa seca de casca+albedo/fruto.



Figura 10. Frutos utilizados para extração de suco e casca (a e b), pesagem de frutos (c), e quantificação de suco extraído dos mesmos (d).



Figura 11. Separação de material para secagem (esq.) e pesagem de do material já seco após 14 dias de estufa (dir.).

A determinação dos nutrientes no suco das laranjas e nos resíduos (flavedo + albedo, designadas daqui em diante como apenas RF, resíduos dos frutos) também foram feitas por ICP-OES. O suco foi filtrado para remoção de resíduos das vesículas, e 1,5 ml foi seco, digerido e analisado tal qual realizado para a seiva do xilema. Os RFs foram fracionados em moinho de facas, passadas em peneira 40 mesh e 100 mg foram digeridos com 4 ml de mistura nitro-perclórica. Após a digestão, o volume foi completado para 10 ml, filtrado e levado para análise no ICP-OES. Os dados foram expressos em ppm (para suco) e mg/kg (para RF).

Na seiva, no suco e na casca também foram analisados os teores de NO_3 e aminoácidos solúveis (AAs). Seiva e suco foram centrifugados em 12.000 rpm em centrífuga de bancada e o sobrenadante usado diretamente para análise. NO_3 e AAs foram determinados pelos métodos de CATALDO *et al.* (1975) e YEMM; COCKING; RICKETTS (1955). Na casca, 100 mg foram extraídos com solução aquosa com 2% de etanol, por 30 minutos sob agitação em mesa orbital a 100 rpm. Após centrifugação, NO_3 e AAs foram determinados no sobrenadante. Também tentou-se determinar NH_4 na seiva, suco e casca, mas os valores foram demasiadamente baixos.

Análise dos dados

Os resultados de seiva de N, P, K, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn e Zn foram comparados com análises de solo e folhas das plantas. Foi realizada uma análise de série temporal para entender como cada nutriente variou durante um ciclo, e foram feitas correlações entre a concentração de seiva com resultados de solo e folha para confirmar as hipóteses. Os dados foram avaliados aplicando-se o teste de correlação de Pearson e análise de regressão linear simples.

5. RESULTADOS

5.1. Gráficos de correlação entre as análises (Análise de Pearson)

Os resultados da análise de seiva foram correlacionados com o teor foliar de N (Figura 12), e com os teores de solo e folha para P, K, Ca, Mg (Figuras 12 e 13), Zn, Mn, Fe (Figura 14), Cu e B (Figura 15) por regressão do modelo linear, e o parâmetro R^2 foi avaliado, com dados apresentados na Tabela 7.

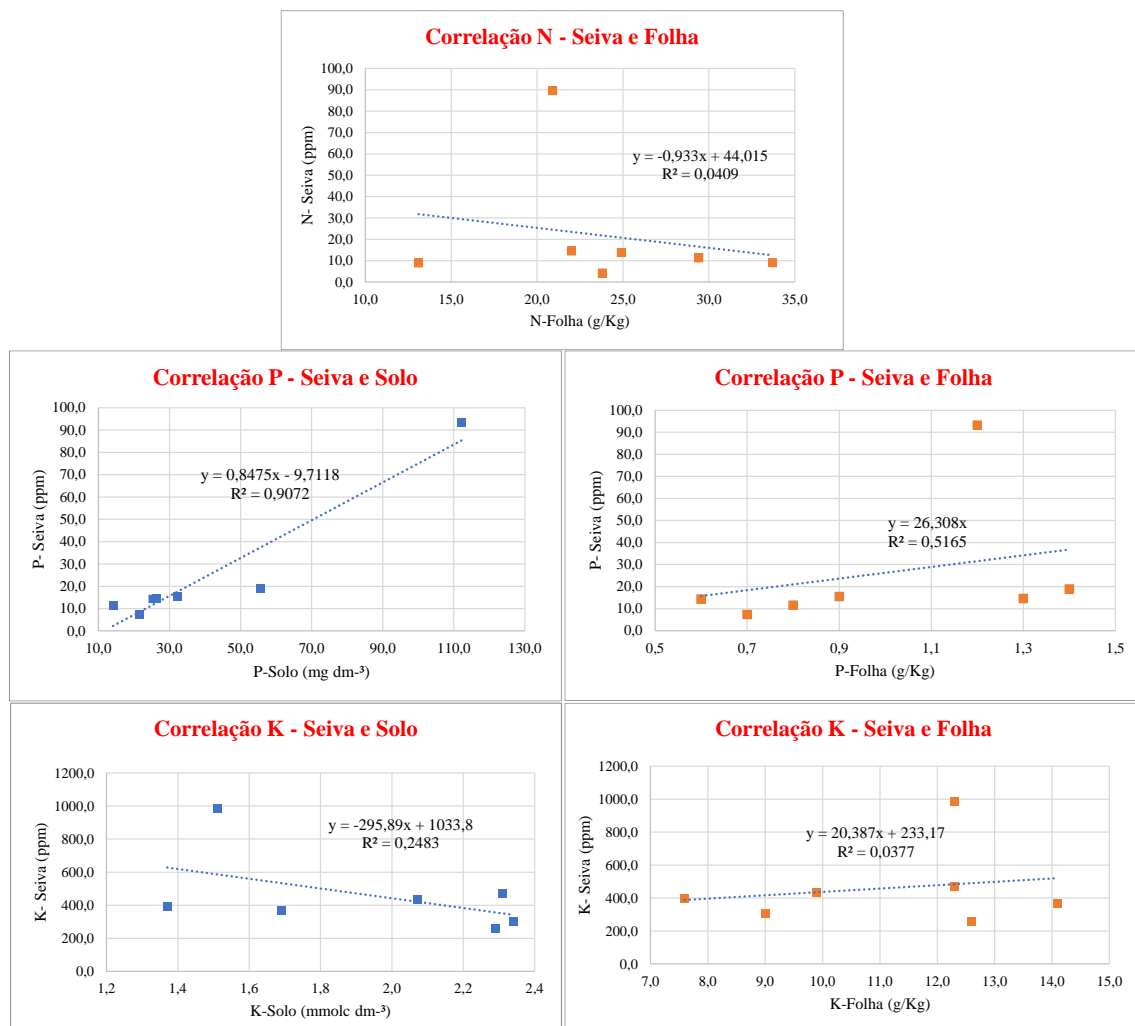


Figura 12. Correlações entre os valores encontrados na seiva com os teores de solo e folha para os macronutrientes primários N, P e K.

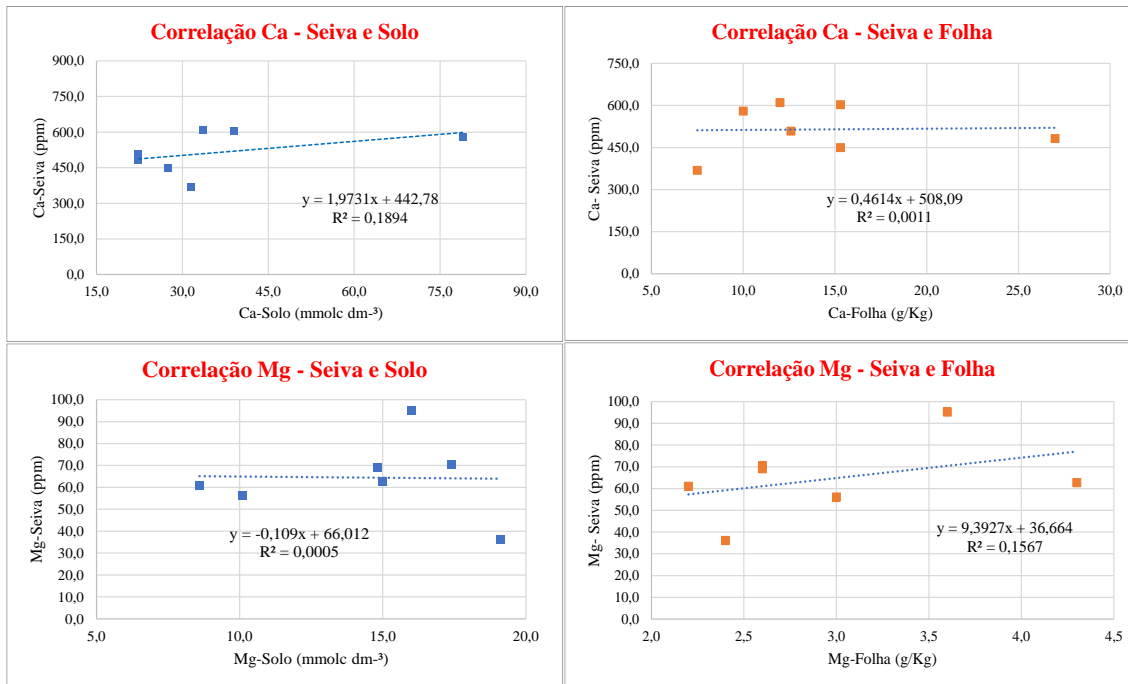


Figura 13. Correlações entre os valores encontrados na seiva com os teores de solo e folha para os macronutrientes secundários Ca e Mg.

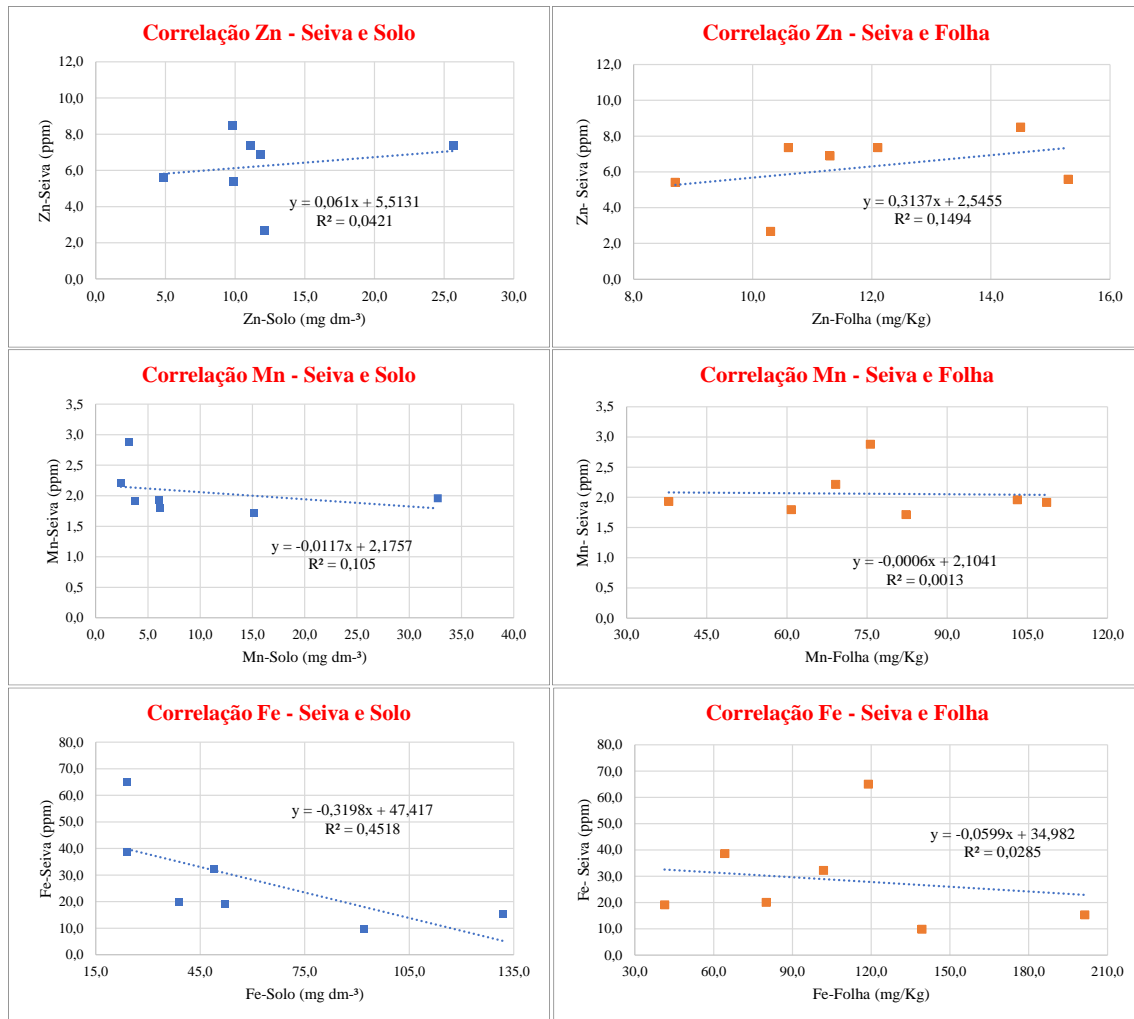


Figura 14. Correlações entre os valores encontrados na seiva com os teores de solo e folha para os micronutrientes Zn, Mn e Fe.

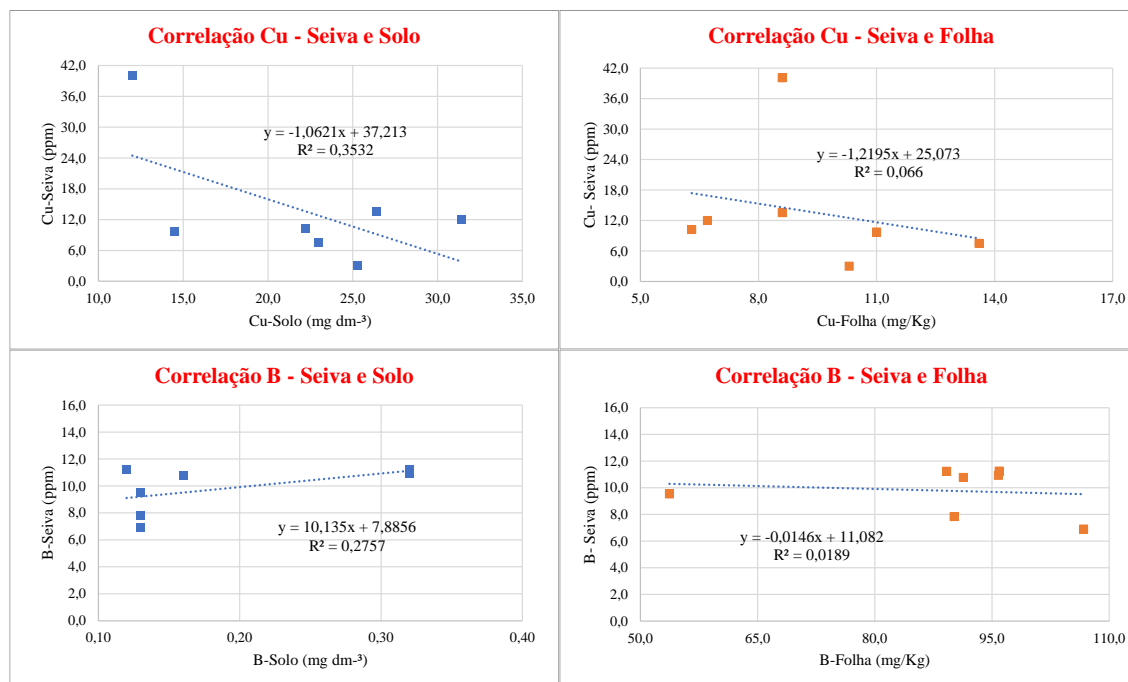


Figura 15. Correlações entre os valores encontrados na seiva com os teores de solo e folha para os micronutrientes Cu e B.

Tabela 7. Relação entre a concentração de nutrientes no solo (0 - 20 cm) e nas folhas com a seiva. R^2 é o coeficiente de regressão do modelo linear da análise de seiva com as análises tradicionais de folha e solo

Elemento	Solo			Folha		
	Faixa	Unidade	R^2	Faixa	Unidade	R^2
N	-	-	-	13,1-33,7		0,0409
P	14,1-112,3	mg.dm ⁻³	0,9072	0,6-1,4		0,5165
K	1,4-2,3		0,2483	7,6-14,1	g/kg	0,0377
Ca	22,3-78,9	mmolc dm ⁻³	0,1894	7,5-27,0		0,0011
Mg	8,6-19,1		0,0005	2,2-4,3		0,1567
Zn	4,9-25,7		0,0421	8,7-15,3		0,1494
B	0,12-0,32		0,2757	53,7-106,7		0,0189
Cu	12,0-31,4	mg.dm ⁻³	0,3532	6,3-13,6	mg/kg	0,0660
Mn	2,4-32,7		0,1050	37,9-108,6		0,0013
Fe	24,0-132,0		0,4518	41,3-201,3		0,0285

5.2. Concentração de nutrientes no solo, nas folhas e na seiva do xilema dos citros

A variação dos nutrientes na seiva, folha e solo foram avaliados ao longo do ciclo reprodutivo do citros, conforme Figuras 16 a 21 abaixo, com exceção do teor do N no solo. Também foi avaliada a variação na concentração de aminoácidos na seiva do xilema (Figura 17).

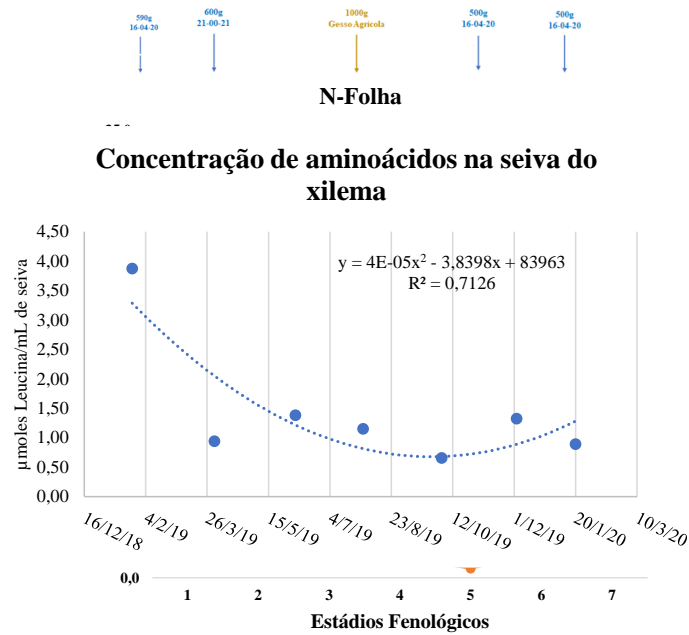


Figura 16. Variação na concentração de N (NO_3^-) na seiva e nas folhas de citros, ao longo dos seguintes estádios fenológicos: 1. Expansão celular, 2. Crescimento de frutos, 3. Indução floral/maturação, 4. Diferenciação/Início do florescimento, 5. Fixação de frutos/Divisão celular, 6. Divisão celular/Expansão celular e 7. Expansão celular

Figura 17. Variação na concentração de aminoácidos na seiva de citros, ao longo de um ciclo reprodutivo (datas de cada coleta).

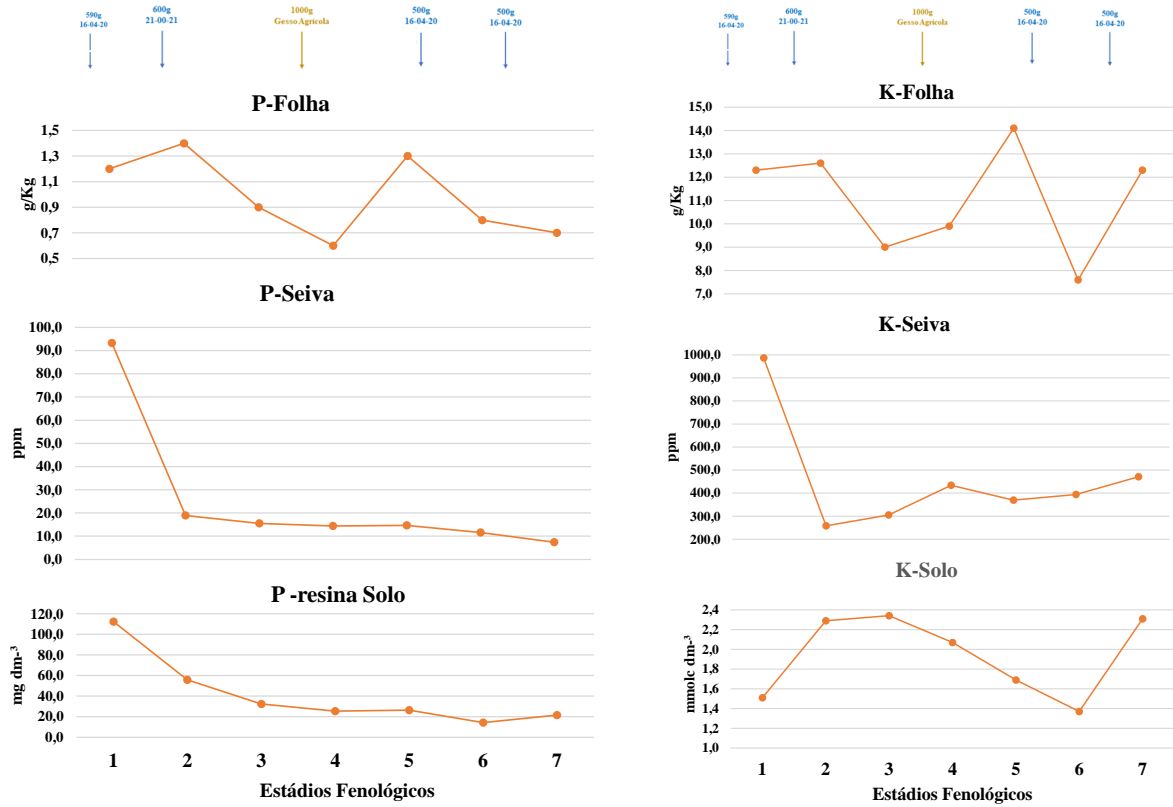


Figura 18. Variação na concentração de P (esq.) e K no solo, na seiva e nas folhas de citros, ao longo dos seguintes estádios fenológicos: 1. Expansão celular, 2. Crescimento de frutos, 3. Indução floral/maturação, 4. Diferenciação/Início do florescimento, 5. Fixação de frutos/Divisão celular, 6. Divisão celular/Expansão celular e 7. Expansão celular.

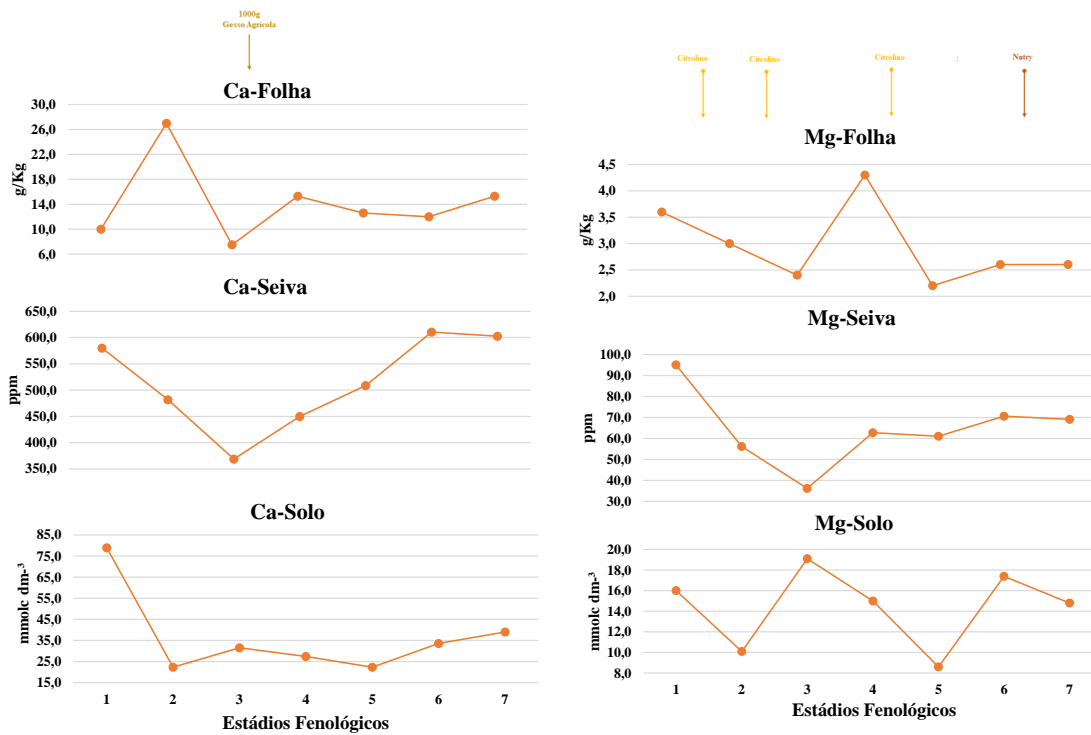


Figura 19. Variação na concentração de Ca (esq.) e Mg no solo, na seiva e nas folhas de citros, ao longo dos seguintes estádios fenológicos: 1. Expansão celular, 2. Crescimento de frutos, 3. Indução floral/maturação, 4. Diferenciação/Início do florescimento, 5. Fixação de frutos/Divisão celular, 6. Divisão celular/Expansão celular e 7. Expansão celular.

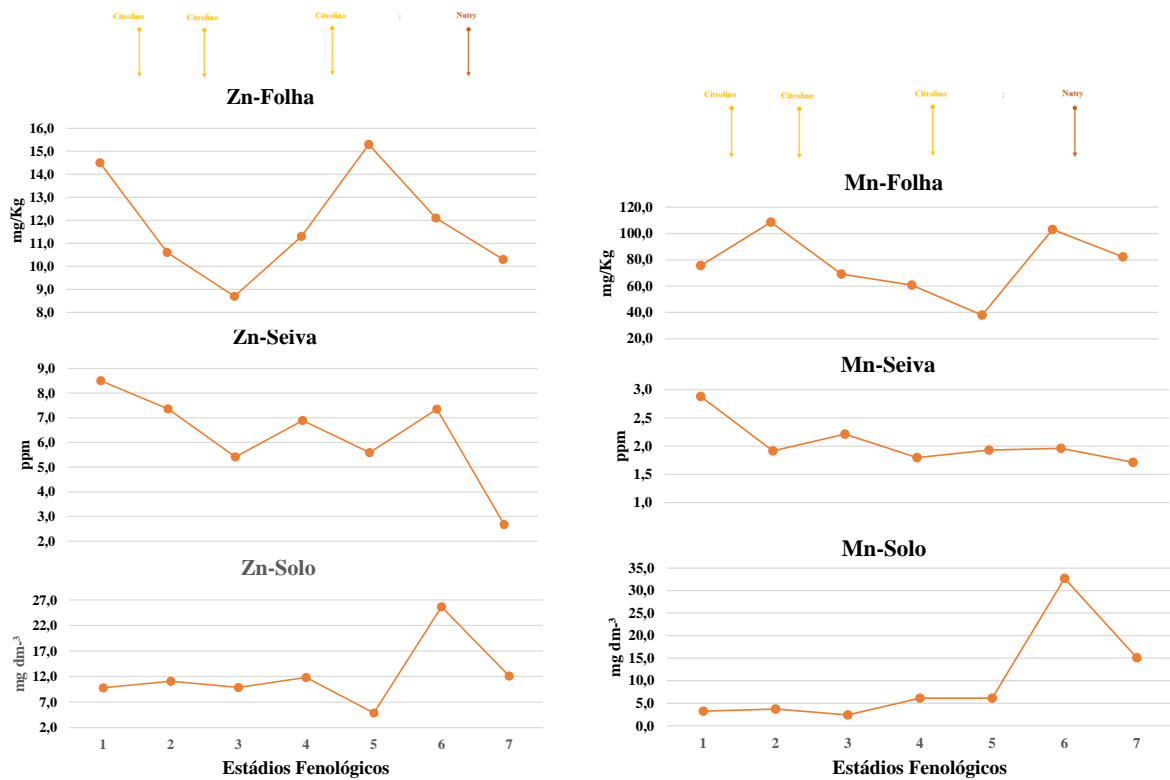


Figura 20. Variação na concentração de Zn (esq.) e Mn no solo, na seiva e nas folhas de citros, ao longo dos seguintes estádios fenológicos: 1. Expansão celular, 2. Crescimento de frutos, 3. Indução floral/maturação, 4. Diferenciação/Início do florescimento, 5. Fixação de frutos/Divisão celular, 6. Divisão celular/Expansão celular e 7. Expansão celular.

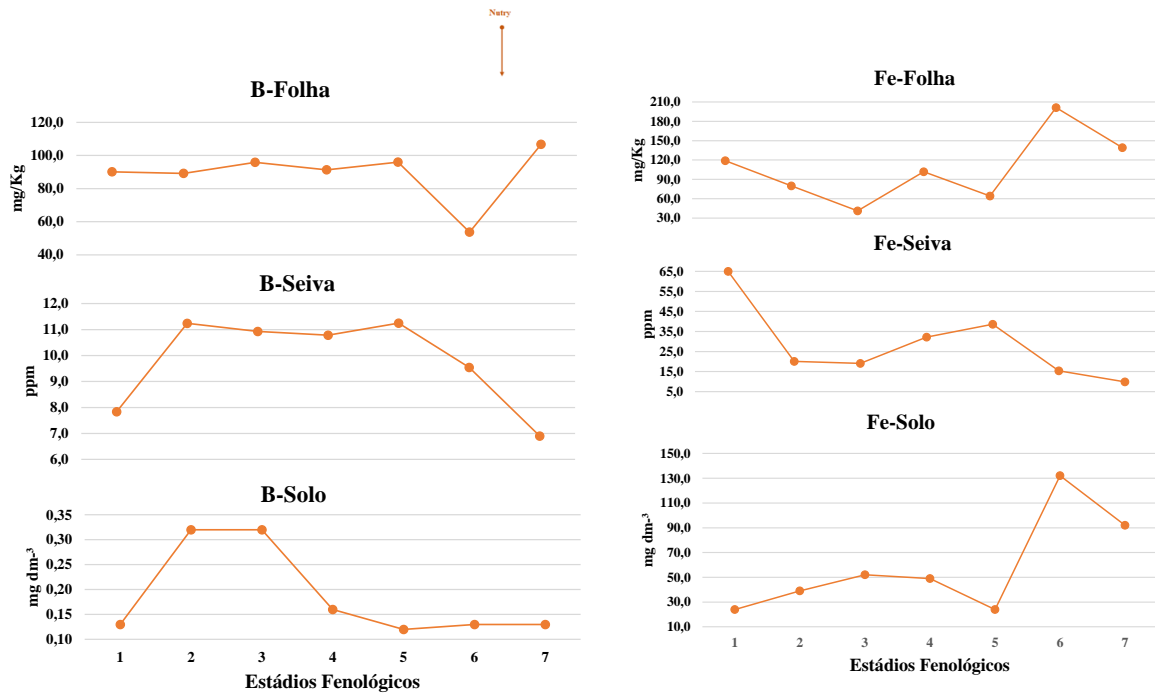


Figura 21. Variação na concentração de B (esq.) e Fe no solo, na seiva e nas folhas de citros, ao longo dos seguintes estádios fenológicos: 1. Expansão celular, 2. Crescimento de frutos, 3. Indução floral/maturação, 4. Diferenciação/Início do florescimento, 5. Fixação de frutos/Divisão celular, 6. Divisão celular/Expansão celular e 7. Expansão celular.

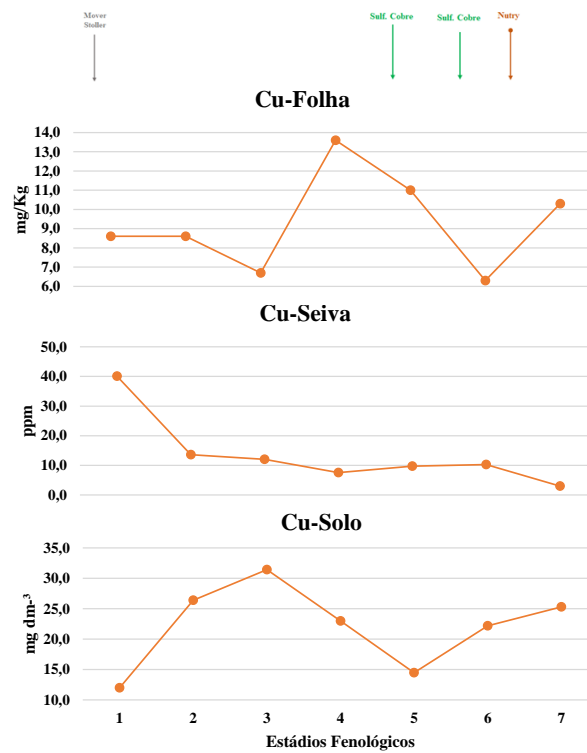


Figura 22. Variação na concentração de Cu no solo, na seiva e nas folhas de citros, ao longo dos seguintes estádios fenológicos: 1. Expansão celular, 2. Crescimento de frutos, 3. Indução floral/maturação, 4. Diferenciação/Início do florescimento, 5. Fixação de frutos/Divisão celular, 6. Divisão celular/Expansão celular e 7. Expansão celular.

5.3. Produtividade do Talhão

Na Tabela 8, estão os dados de produção no talhão onde foi realizado o experimento, fornecidos pelo proprietário da área, para auxiliar na discussão dos resultados encontrados.

Tabela 8. Volumes de Laranja Pera colhidos na área nas diferentes safras, entre 2018 e 2020.

Florada	Set/2018	Jan/2019	Mar/2019	Set/2019	Jan/2020
Colheita	Set-Out/2019	Jan/2020	Mar/2020	Ago/2020	Jan/2021
Volume colhido (kg/ha)	56.480,8	808,3	1.748,3	43.755,0	15.869,2

6. DISCUSSÃO

6.1. Correlações das concentrações de nutrientes na seiva com teores no solo e na folha

A análise de seiva tem sido proposta como alternativa para avaliar o estado nutricional das culturas em substituição a análise de folha. Cadahía e Lucena (2000) reportaram como algumas vantagens da análise da seiva em relação à análise convencional de tecido foliar a variação na concentração de nutrientes absorvidos durante o desenvolvimento da cultura, e a detecção da falta de algum nutriente na planta antes do surgimento de sintomas visuais.

Neste trabalho, com exceção do P, que apresentou alta correlação entre o teor na seiva e o teor de P-resina no solo ($R^2=0,9072$), as concentrações na seiva de todos os outros nutrientes não correlacionaram com os teores de solo analisados. Além disso, os nutrientes K, Mn, Fe e Cu apresentaram correlação negativa.

Ainda, não foi observada qualquer correlação entre a concentração de nutrientes na seiva do xilema e os teores nas folhas. Além disso, N, Cu, Fe e B apresentaram correlação negativa, ou seja, com o aumento do teor foliar observou-se redução na concentração do nutriente na seiva.

As análises de folha refletem o valor total do nutriente no tecido. Nitrogênio, por exemplo, está presente em proteínas, na clorofila, em aminoácidos. O P é componente da molécula de ATP e dos fosfolipídeos. Quando o nutriente é mensurado na folha, significa que os níveis estão adequados para todas as moléculas que o contém, inclusive os íons livres nos vasos do xilema. Por isso o conteúdo livre no xilema não corresponde ao que está livre na folha. Além disso, existem as reservas de ano para outro.

Quanto ao solo, sabe-se que existem as zonas de influência na absorção de nutrientes (TAIZ; ZEIGER, 2010; Figura 23). Quando é feita uma análise de solo, a parte amostrada corresponde ao chamado “bulk soil”, ou seja, o solo fora da rizosfera, local onde as plantas absorvem nutrientes, de fato. Talvez por isso não foram apresentadas mais correlações entre as análises. Na deficiência de fósforo, por exemplo, em trabalho realizado por Netzer *et al.* (2018), foi verificada a redução de fosfolipídeos, os grandes reservatórios de P nas células, mas uma reposição com composto de enxofre (S). Dessa maneira, a planta recicla P para usar em outros processos vitais, como produção de ATP.

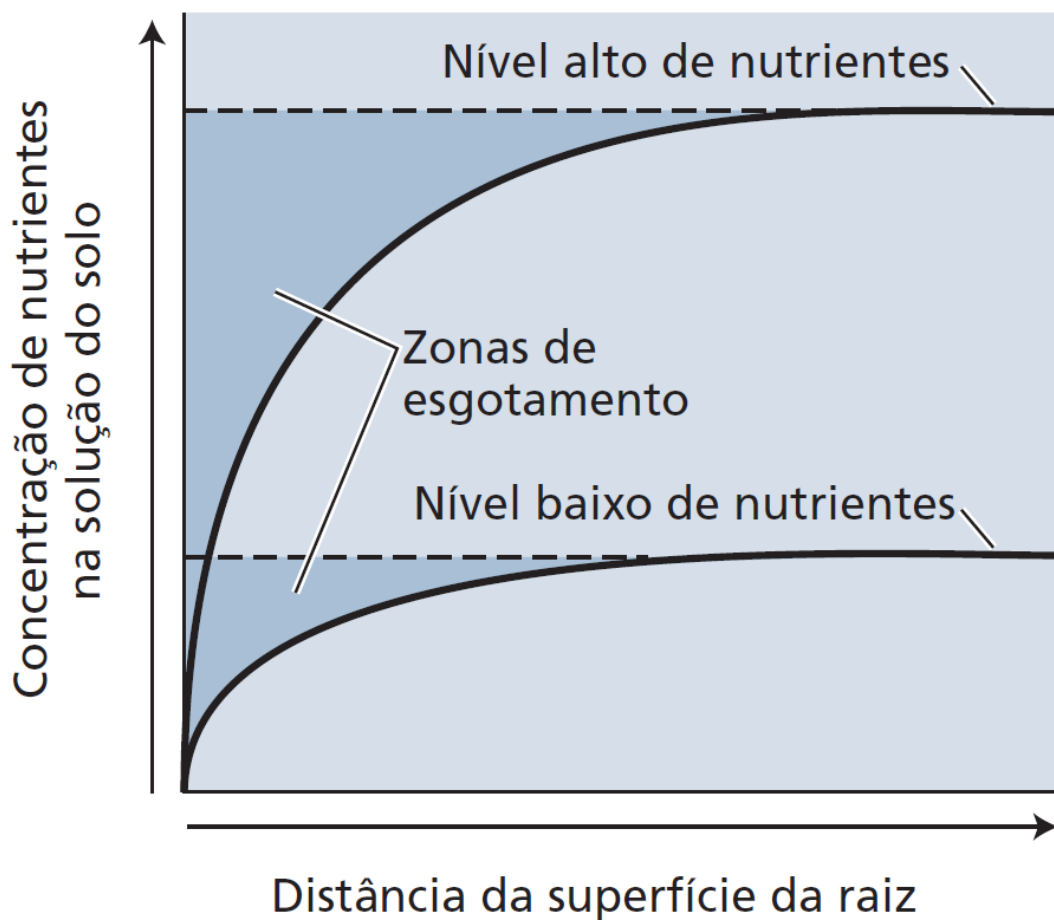


Figura 23. Zona de depleção de nutrientes na região do solo próxima à raiz da planta. (Adaptado de TAIZ; ZEIGER, 2010; baseado em MENGEL; KIRKBY, 2001)

Com base nisso, e considerando que o método de extração utilizado nesse experimento obteve seiva pura, é muito improvável que haja correlação entre os nutrientes na seiva e os nutrientes de uma análise convencional de solo e folha, pois estes representam um todo, ou seja, uma leitura de todas as formas do nutriente na planta, que não condiz com o que está livre na seiva. Uma comparação mais próxima e plausível seria avaliar os teores na seiva do xilema com a concentração de nutrientes na rizosfera.

As variações nas concentrações de seiva do xilema dos principais nutrientes ao longo do ano podem ser atribuídas à mobilização temporal de íons dos tecidos de reserva (FERGUSON; EISEMAN; LEONARD, 1983). Em trabalho realizado com faia europeia, a translocação de alguns nutrientes da casca e do parênquima na primavera para atender às necessidades de crescimento dos brotos é responsável pelo pico de concentração na seiva (GLAVAC; KOENIES; EBBEN, 1990). Em outro trabalho de Silva et al. (1998), com seringueira, a redistribuição de nutrientes observada pode ser dividida em 2 fases: uma

durante a primavera, quando os tecidos de reserva liberam os nutrientes para as brotações e folhas novas; e outra no outono, quando os nutrientes passam das folhas senescentes para as folhas que permanecem na copa e para órgãos de reserva. Durante a senescência, a estrutura das células se desintegra e a maioria dos nutrientes móveis são remobilizados; as macromoléculas se quebram em moléculas mais simples e mais facilmente transportadas. Os principais órgãos que receberam os nutrientes liberados são as folhas, mais do que ramos e raízes. Assim, a quantidade de nutrientes nas folhas no fim do outono representa a quantidade de nutrientes armazenada ao longo do inverno.

As plantas perenes, como o citros, dependem de duas fontes principais de nutrientes: absorção de elementos minerais do solo pelas raízes e remobilização de nutrientes dos tecidos (MARSCHNER, 2012). No entanto, as taxas de fluxo de solutos da seiva do xilema são a soma da absorção líquida do solo mais a recirculação de solutos através da seiva do floema. Kazda e Weilgony (1988) enfatizaram que a composição da seiva do xilema reflete principalmente a translocação de elementos internos ao invés da disponibilidade de nutrientes do solo. De acordo com Legaz *et al.* (1995), mais de 70% do N acumulado nos órgãos novos do citros, desenvolvidos durante a primavera, foram oriundos do N armazenado em órgãos velhos, ou seja, provenientes de remobilização. Os principais órgãos de reserva do nutriente foram as folhas velhas, contribuindo com cerca de 40-50% do total do N remobilizado na planta.

Considerando que os principais fatores que influenciam as concentrações de nutrientes na seiva do xilema são: (i) a disponibilidade de nutrientes, (ii) o estágio fenológico e (iii) o tipo de órgão amostrado (DAMBRINE *et al.*, 1995), as comparações entre os valores de nutrientes encontrados nas análises de solo e folha com as concentrações na seiva do xilema sugerem que o teor de seiva é afetado principalmente pelo estado dos nutrientes na planta, e não pela disponibilidade deles no solo.

6.2. Análise da variação ao longo do ciclo da cultura, em função dos fenômenos ou estádios.

O presente trabalho foi feito durante um ano letivo (janeiro-dezembro 2019), e não compreendeu um ciclo fenológico da cultura de citros, desde o florescimento até a colheita. No início, a planta já estava em um estágio de expansão celular dos frutos, e em agosto/setembro, houve o início de um ciclo novo (florada). As análises foram feitas de forma consistente, em intervalos pré-determinados, e isso fez com que elas coincidissem com

pulverizações foliares recentes, principalmente de micronutrientes, o que pode ter influenciado nos resultados.

As leituras certamente mostram a variação da concentração dos nutrientes nesse período, porém existe forte influência do clima (temperatura e precipitação), já que foi um experimento em condições de campo, não controlado. A condição da planta também interfere bastante, ou seja, o histórico da área e das plantas antes do início do experimento, e eventos passados possivelmente influenciaram nos valores encontrados. Por isso, é importante a contextualização da condição prévia do pomar, bem como destacar eventos fenológicos compreendidos no intervalo do trabalho.

As coletas começaram em janeiro de 2019 e o ano em estudo foi precedido por uma safra de alta produção (florada de 2018). A florada de 2019 foi menor, prejudicada pelas chuvas abaixo da média, o que comprometeu a fixação e desenvolvimento de frutos, considerando a colheita realizada posteriormente, em agosto de 2020.

A seiva do xilema foi extraída de ramos novos e velhos, porém sem frutos. As análises de folha, no entanto, seguiram as recomendações de coleta descrita na metodologia (3^a-4^a folha do ramo com fruto no terço médio) e, por se tratar da variedade Pera, com fluxos de florada distribuídos ao longo do ano (Tabela 8), em todos os momentos havia ramos com fruto. Isso pode ser uma possível causa da falta de correlação de alguns nutrientes, principalmente as análises de seiva e folha. Entretanto, seria impossível extrair a seiva de ramos com frutos, devido às limitações do tamanho da câmara. Caso os frutos fossem removidos, no local de dano poderia ocorrer entrada de gás, prejudicando a coleta da seiva.

A colheita da safra anterior tinha ocorrido entre Setembro e Dezembro de 2018. A seiva estava concentrada na primeira coleta, em Janeiro/19, devido às recentes aplicações de nutrientes (adubação), e pelo volume significativo de chuvas entre Dezembro/2018 e Janeiro/2019 (264 mm). Além disso, nesta época a demanda das plantas por nutrientes e a alocação dos mesmos era baixa, visto que elas não emitiram fluxos reprodutivos (flores), o que pode ser verificado pela colheita em Janeiro/2020. Portanto, nessa época houve predominância de fluxos vegetativos.

As concentrações na seiva reduziram da 1^a para a 2^a coleta, em praticamente todos os nutrientes, pois mesmo sem florada expressiva, como mostra a Tabela 8, a planta deve ter absorvido o que foi fornecido e redistribuído nas vegetações. Foi observado que para a

maioria dos nutrientes houve um aumento na 2ª análise foliar (Abril/2019), possivelmente em reflexo disso.

Malavolta *et al.* (2006) mostraram que, em laranjeira ‘Natal’, os maiores teores de N, P e K no surto primaveril se encontram nas folhas, com aproximadamente 50% do total extraído. Já o Ca e Mg predominam nas flores, com 61% e 51%, respectivamente, do total extraído nesse momento. Os micronutrientes B, Cu, Fe, Mn e Zn variam quanto às porcentagens extraídas.

Diferente do que foi observado na primeira coleta, na 7ª e última coleta (Janeiro/2020), provavelmente a seiva não variou muito, porque já havia translocado nutrientes, principalmente Ca e Mg, para a florada (dreno), que foi relativamente intensa, considerando a boa produção na colheita de Fevereiro/2021 (Tabela 8).

Analisando as concentrações de macronutrientes na seiva, com exceção do P (o qual apresentou correlação da concentração na seiva com o teor no solo), há uma queda inicial, manutenção em valores próximos, leve aumento na 4ª coleta (pré-florada), e depois tendência de aumento na última coleta, mas não nos patamares de Janeiro/2019.

Assim como mostram os resultados de Souza *et al.* (2012), foi encontrado alta concentração de K na seiva, maior que todos os outros nutrientes analisados na forma mineral, diferente das análises foliares que apresentaram teores de Ca e N maiores que o de K.

Com exceção do P e Mn, todos os outros nutrientes apresentaram um aumento nos teores foliares na coleta 4, período em que a planta se preparava para o florescimento (indução e diferenciação). K, Ca, Mg, Fe e Zn apresentaram, também, um aumento na concentração de seiva nessa mesma coleta, acompanhando as folhas. Uma possível explicação para o isso é a aplicação de gesso realizada entre Junho e Julho no pomar. Esta prática, por si só, é uma forma de fornecer Ca para as plantas, estimular o crescimento radicular em profundidade, e indisponibilizar o Alumínio em subsuperfície, permitindo uma maior assimilação dos outros cátions na solução do solo (MALAVOLTA *et al.*, 1994).

6.3. Discussão geral

O solo inicialmente possuía teor muito alto de P (112.3 mg dm^{-3}), o que certamente contribuiu para os valores elevados de P observados na seiva da coleta 1, considerando a correlação positiva encontrada entre ambos os parâmetros. Já os valores de P na seiva não se correlacionaram com os valores de P foliar.

Os teores de Cu no solo se mantiveram em um nível elevado durante todo o experimento, por conta das aplicações de oxiclureto de cobre que são feitas na cultura, para fins de fitossanidade. A absorção do Cu depende do tipo de sal utilizado. O Sulfato é significativamente menos absorvido que o nitrato (FERRANDON; CHAMEL, 1988), porém produtos com ação antifúngica são a base de sais insolúveis, por isso pode ocorrer o acúmulo no solo, quando estes não são absorvidos pelas plantas e são lavados com as chuvas. Desta forma, com exceção da primeira coleta, as concentrações na seiva e os teores foliares deste nutriente pouco variaram no decorrer do ano.

Para o Ca, foi possível observar um incremento na concentração da seiva e das folhas, na coleta após a aplicação de gesso agrícola (CaSO_4), mesmo sem aumento nos teores de solo. A mesma situação foi observada para Mg e Zn, mesmo sem fornecimento direto desses nutrientes. Uma possível explicação é que com a aplicação do gesso, o sistema radicular teve um melhor aproveitamento dos nutrientes ali disponíveis e alcançou uma zona mais profunda. Além disso, com a associação do sulfato ao alumínio, ocorreu a adsorção de outros cátions no solo, aumentando sua disponibilidade para absorção pela planta, como Mg, Zn e o Ca.

O Mg, de forma geral, foi fornecido somente via foliar, mas em teores extremamente baixos, os quais não justificam essas variações nos teores de solo, folha e seiva. Mesmo com certa variação, os teores de Mg no solo mantiveram elevados durante o ano todo. Os picos observados para esse nutriente provavelmente estão relacionados à disponibilidade do mesmo na solução do solo, em função das precipitações e umidade, e da demanda da planta em determinados momentos, como no caso do pré-florescimento e florescimento.

O B na seiva apresentou uma leve variação durante o ano, e na última coleta voltou aos patamares da primeira (7-8 ppm). Quando apresentou queda na folha na penúltima coleta, o fornecimento via pulverização foliar aparentemente elevou o teor novamente.

Os teores de nitrogênio mineral (NH_4^+ e NO_3^-) na seiva são muito menores do que os teores de potássio e de fósforo. Isto porque o nitrogênio, nesta forma, representa menos de 5% do N total contido na seiva da laranjeira, segundo Moreno e García-Martinez (1983). Isso ocorre devido à alta taxa de redução de NO_3^- nas raízes dos cítricos, conforme foi discutido por Bar-Akiva e Sagiv (1967), no qual este ânion é primeiramente reduzido a NH_4^+ , e então é convertido em aminoácidos. Na Figura 17 é possível observar a curva de concentração de aminoácidos, expressa em micromoles de Leucina/mL de seiva.

Embora houve bastante variação nos teores das folhas durante o ano, a concentração na seiva se estabilizou após o pico da primeira leitura, e foi reduzida mais expressivamente na pré-florada, época em que este nutriente é alocado nas novas brotações. Vale ressaltar que a 5ª coleta foi realizada bem próxima à primeira adubação pós-florescimento. A resposta do N fornecido nessa operação não foi detectada nesta coleta, mas nas 2 coletas seguintes, como possível efeito desse incremento, somado às chuvas a partir da segunda quinzena de Outubro.

No estudo publicado por Souza *et al.* (2012), a análise de seiva mostrou-se bastante sensível às doses de nutrientes aplicados, no entanto, o mesmo não foi verificado nesse experimento, visto que as concentrações de nutrientes não aumentaram conforme o fornecimento de nutrientes. Essas diferenças podem ser devido à natureza das amostras de seiva dos estudos; enquanto nesse trabalho a seiva foi extraída diretamente do xilema das plantas, no estudo desses autores o que se chama de seiva é fruto de uma extração utilizando solvente e que extrai o conteúdo do xilema, floema e o próprio conteúdo celular, e por essa razão pode ter sido mais responsivo às adubações. Além disso, todo fornecimento de nutrientes foi feito via fertirrigação, de forma mais precisa e pronta para a absorção das raízes.

Parte da variação obtida para os dados de seiva pode ser atribuída ao regime de chuvas ao longo do experimento. O ano foi de poucas chuvas, como um todo, mas com chuvas concentradas em janeiro, fevereiro e março. Na primeira coleta, a seiva estava bem concentrada. Depois, nos meses mais secos, a concentração caiu para a maioria dos nutrientes. Isso se refletiu no processo de obtenção das amostras: no verão (início das coletas), havia fluxo abundante de seiva e pouca pressão era necessária para extravasá-la; no inverno, era necessário aplicar maior pressão na câmara para obter a seiva, como mostrado na Tabela 6 (Material e Métodos).

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados encontrados, pode-se afirmar que a análise de seiva não substitui ou complementa análise de solo e de folha para citros. Não é muito provável que a variação dos teores de nutrientes encontrados na seiva do xilema seja reflexo do fornecimento de nutrientes realizado na cultura, tanto via solo quanto adubação foliar. Mas poderia expressar, sim, a demanda da planta em seus diferentes estádios fenológicos.

A comparação e correlação entre análise de seiva, análise de folhas e análise de solo não fornecem evidências suficientes para determinar as causas dos desequilíbrios de nutrientes e ajudar a encontrar soluções rapidamente. Esse tipo de análise deve ser empregado com cuidado na avaliação do estado nutricional de plantas cítricas.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise de seiva pode indicar interações que podem estar ocultas na análise da folha. No entanto, pesquisas ainda são necessárias para considerar esse método como uma ferramenta suplementar para manejo em citros, principalmente ao buscar níveis de referência e entender como esses níveis são influenciados por diferentes tipos de solo, clima e manejo.

Essa técnica, portanto, pode ser entendida como uma abordagem complementar para quantificar a ciclagem interna de elementos minerais em árvores adultas e sua variação diante de estresses ambientais.

REFERÊNCIAS

AIT-OUBAHOU, A.; EL-OTMANI, M. Quality Assurance for Export-oriented Citrus and Tomato Fruit in Morocco. *In:* , 2000. **Quality Assurance in Agricultural Produce**. [S. l.: s. n.], 2000.

AKAO, Shoichiro; KUBOTA, Shuji; HAYASHIDA, Michito. Utilization of Reserve Nitrogen, Especially, Autumn Nitrogen, by Satsuma Mandarin Trees during the Development of Spring Shoots. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 31–38, 1978.

ALEXOU, M.; PEUKE, A. D. Methods for Xylem Sap Collection. *In:* PLANT MINERAL NUTRIENTS. [S. l.: s. n.], 2013. v. 953, p. 195–207.

ARNON, Daniel I. EFFECT OF AMMONIUM AND NITRATE NITROGEN ON THE MINERAL COMPOSITION AND SAP CHARACTERISTICS OF BARLEY. **Soil Science**, [s. l.], v. 48, p. 29U_308, 1939.

BAR-AKIVA, A; SAGIV, J. Nitrate Reductase in the Citrus Plant: Properties, Assay Conditions and Distribution within the Plant. **Physiologia Plantarum**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 500–506, 1967. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1967.tb07190.x>.

BASSANEZI, R.B. **Manual de leprose dos Citros**. [S. l.: s. n.], 2019.

BATAGLIA, O C. **Métodos de análise química de plantas**. [S. l.]: Instituto Agrônômico, 1983. (Bol. técn. Inst. Agron). *E-book*. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=DAESHAAACAAJ>.

BELASQUE JR., José *et al.* Controle do Huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 53–64, 2017. Disponível em: <http://citrusrt.ccsm.br/journal/citrusrt/article/doi/10.5935/2236-3122.20100005>. Acesso em: 24 mar. 2022.

BLANCO, Flávio Favaro. Tolerância Do Tomateiro À Salinidade Sob Fertirrigação E Calibração De Medidores De Íons Específicos Para Determinação De Nutrientes Na Solução Do Solo E Na Planta. [s. l.], p. 115, 2004.

BOARETTO, Antonio Eneidi *et al.* O boro é móvel ou imóvel em laranja?. **2004**, [s. l.], p. 1–13,

BOVÉ, J M. I Nvited R Eview Huanglongbing : a Destructive , Newly-Emerging ., **Journal of Plant Pathology**, [s. l.], v. 88, n. 1, p. 7–37, 2006.

BUSTAN, A.; GOLDSCHMIDT, E. E. Estimating the cost of flowering in a grapefruit tree. **Plant, Cell and Environment**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 217–224, 1998.

CADAHÍA, C. **Fertirrigación. Cultivos hortícolas, frutales y ornamentales.: cultivos hortícolas, frutales y ornamentales.** [S. l.]: Ediciones Mundi-Prensa, 2005. *E-book*. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=wRpfAwAAQBAJ>.

CADAHÍA, C. **La savia como índice de fertilización.** [S. l.]: Ediciones Mundi-Prensa, 2008. *E-book*. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=3aESAQAAQBAJ>.

CADAHÍA, C.; LUCENA, J J. Diagnóstico de nutrición y recomendaciones de abonado. In: CADAHÍA, C. (org.). **Fertirrigación: cultivos hortícolas y ornamentales.** 2. ed. Madrid: [s. n.], 2000. p. 173–246.

CALOT, Montalva M. C. **Movilización de las fracciones nitrogenadas orgánicas en los cítricos.** 1996. [s. l.], 1996.

CANTARELLA, Heitor. Nitrogênio. In: NOVAIS, Roberto Ferreira *et al.* (org.). **Fertilidade do solo.** 1. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo Viçosa^ eMG MG, 2007. v. 1, p. 375–470.

CATALDO, D A *et al.* Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in soil science and plant analysis**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 71–80, 1975.

CEBALLOS-LAITA, Laura *et al.* Effects of Fe and Mn deficiencies on the protein profiles of tomato (*Solanum lycopersicum*) xylem sap as revealed by shotgun analyses. **Journal of Proteomics**, [s. l.], v. 170, p. 117–129, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874391917303056>.

CITROS BR, Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos. **Laranja e Suco.** [S. l.], 2020. Disponível em: <https://citrusbr.com/estatisticas/producao-de-suco/>. Acesso em: 24 mar. 2022.

DAMBRINE, Etienne *et al.* Xylem sap composition: A tool for investigating mineral uptake and cycling in adult spruce. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 168/169, p. 233–241, 1995. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/42939862>.

DAVIES, F. S.; ALBRIGO, L. G. **Citrus.** [S. l.]: Wallingford: CAB International, 1994.

DE MATTOS JÚNIOR, Dirceu; BATTAGLIA, O. C.; QUAGGIO, José Antônio. Nutrição dos citros. In: CITROS. [S. l.]: IAC/Fundag, 2005. p. 197–219.

DECHEN, Antonio Roque *et al.* Pragas e doenças em citros : fisiologia e nutrição mineral. [s. l.], p. 100–107, 2004.

DIERBERG, Forest E; STRAUB, Peter A; HENDRY, Charles D. Leaf-to-Twig Transfer Conserves Nitrogen and Phosphorus in Nutrient Poor and Enriched Cypress Swamps. **Forest Science**, [s. l.], v. 32, n. 4, p. 900–913, 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/forestscience/32.4.900>.

EMBLETON, Tom W. Leaf analysis as a diagnostic tool and guide to fertilization. **The Citrus industry**, [s. l.], v. 3, n. 6, p. 183–210, 1973.

ESTEVEZ, Eduardo *et al.* Nitrogen, Calcium, and Magnesium Inconsistently Affect Tree Growth, Fruit Yield, and Juice Quality of Huanglongbing-affected Orange Trees. **HortScience horts**, Washington, DC, v. 56, n. 10, p. 1269–1277, 2021. Disponível em: <https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/56/10/article-p1269.xml>.

ESTEVEZ, Eduardo *et al.* **Sap Analysis: A Powerful Tool for Monitoring Plant Nutrition**. [S. l.: s. n.], 2021.

FARNESELLI, Michela; TEI, Francesco; SIMONNE, Eric. Reliability of petiole sap test for n nutritional status assessing in processing tomato. **Journal of Plant Nutrition**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 270–278, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2013.859696>.

FERGUSON, A R; EISEMAN, J A; LEONARD, J A. Xylem Sap from *Actinidia chinensis*: seasonal Changes in Composition. **Annals of Botany**, [s. l.], v. 51, n. 6, p. 823–833, 1983. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/42757373>.

FERRANDON, Mireille; CHAMEL, André R. Cuticular retention, foliar absorption and translocation of Fe, Mn and Zn supplied in organic and inorganic form. **Journal of Plant Nutrition**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 247–263, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904168809363800>.

FIFE, D N; NAMBIAR, E K S. Movement of Nutrients in Radiata Pine Needles in Relation to the Growth of Shoots. **Annals of Botany**, [s. l.], v. 54, n. 3, p. 303–314, 1984. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086801>.

FLAJŠMAN, Marko *et al.* Xylem Sap Extraction Method from Hop Plants. **Bio-protocol**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. e2172–e2172, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34458483>.

FLOERL, Saskia *et al.* Defence reactions in the apoplastic proteome of oilseed rape (*Brassica napus* var. *napus*) attenuate *Verticillium longisporum* growth but not disease symptoms. **BMC Plant Biology**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 129, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-129>.

FONTES, Paulo Cezar Rezende; RONCHI, Cláudio Pagotto. Critical values of nitrogen indices in tomato plants grown in soil and nutrient solution determined by different statistical procedures. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s. l.], v. 37, n. 10, p. 1421–1429, 2002. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2002001000010&lng=en&tlng=en. Acesso em: 27 mar. 2022.

GARCÍA-MARTÍN, Juan Francisco; OLMO, Manuel; GARCÍA, José María. Effect of ozone treatment on postharvest disease and quality of different citrus varieties at laboratory and at industrial facility. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 137, p. 77–85, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521417306968>.

GLAVAC, V; KOENIES, H; EBBEN, U. Seasonal variations in mineral concentrations in the trunk xylem sap of beech (*Fagus sylvatica* L.) in a 42-year-old beech forest stand. **New Phytologist**, [s. l.], v. 116, n. 1, p. 47–54, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00509.x>.

GOFFART, J P; OLIVIER, M; FRANKINET, M. Potato Crop Nitrogen Status Assessment to Improve N Fertilization Management and Efficiency: Past–Present–Future. **Potato Research**, [s. l.], v. 51, n. 3, p. 355–383, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11540-008-9118-x>.

GOTTWALD, Tim R; GRAÇA, John V da; BASSANEZI, Renato B. Citrus Huanglongbing: The Pathogen and Its Impact. **Plant Health Progress**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 31, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PHP-2007-0906-01-RV>.

GOULD, Ann B. **Rootstock Influence on Occurrence of Homalodisca coagulata, Peach Xylem Fluid Amino Acids, and Concentrations of Xylella fastidiosa**. [S. l.: s. n.], 1991.

HARTZ, T. K. The assessment of soil and crop nutrient status in the development of efficient fertilizer recommendations. **Acta Horticulturae**, [s. l.], v. 627, p. 231–240, 2003.

HAVLIN, J L; TISDALE, S L; NELSON, W L. **Soil Fertility and Fertilizers**. 8. ed. London: [s. n.], 2013.

HOCHMUTH, George. Plant Petiole Sap-Testing For Vegetable Crops 1 Sap-Testing. [s. l.], v. 3, n. May, p. 1–5, 2012.

INCROCCI, Luca; MASSA, Daniele; PARDOSI, Alberto. **New Trends in the Fertigation Management of Irrigated Vegetable Crops**. [S. l.: s. n.], 2017.

JORIS, Helio A. W. *et al.* Evaluating Nitrogen Behavior in Sugarcane after Fertilization Using Leaf and Sap Extract Analyzes. **American Journal of Plant Sciences**, [s. l.], v. 05, n. 18, p. 2655–2664, 2014.

KADYAMPAKENI, Davie Mayeso; MORGAN, Kelly T. Nutrition of Florida Citrus Trees, Third Edition. **Edis**, [s. l.], v. 2020, n. 2, 2020.

KATO, Tadashi. Nitrogen assimilation by a citrus tree. 2. Assimilation of labelled ammonium and nitrate by detached leaves in light and dark. **Physiologia Plantarum**, [s. l.], v. 50, p. 304–308, 1980.

KATO, Tadashi; YAMAGATA, Makoto; TSUKAHARA, Sadao. Upward translocation of ¹⁴C-amino compounds in xylem and phloem of citrus trees (*Citrus unshiu* Marc.). **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, [s. l.], v. 54, n. 2, p. 163–170, 1985.

KAZDA, M; WEILGONY, P. Seasonal dynamics of major cations in xylem sap and needles of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.) in stands with different soil solution chemistry. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 110, n. 1, p. 91–100, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02143544>.

KERBAUY, Gilberto Barbante. **Fisiologia Vegetal**. [S. l.: s. n.], 2013.

KOO, Robert C J *et al.* Effects of nitrogen, potassium, and irrigation on yield and quality of lemon. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [s. l.], 1974.

KÖPPEN, Graz W; GEIGER, R. München. Das geographische System der Klimate. **Verlag von Gebrüder Bornl'aeger**, [s. l.], v. 35, n. 17, 1936.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. [S. l.: s. n.], 2000.

LAVON, Ruth *et al.* Effect of Potassium, Magnesium, and Calcium Deficiencies on Carbohydrate Pools and Metabolism in Citrus Leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Science** *jashs*, Washington, DC, v. 120, n. 1, p. 54–58, 1995. Disponível em: <https://journals.ashs.org/jashs/view/journals/jashs/120/1/article-p54.xml>.

LEGAZ, F; SERNA, M D; PRIMO-MILLO, E. Mobilization of the reserve N in citrus. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 173, n. 2, p. 205–210, 1995. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/42947524>.

LLANDERAL, Alfonso *et al.* Nutritional changes in petiole sap over space and time in a tomato crop greenhouse. **Journal of Plant Nutrition**, [s. l.], v. 42, n. 10, p. 1205–1217, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1609504>.

MALAVOLTA, Eurípedes. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. [S. l.: s. n.], 1980.

MALAVOLTA, Eurípedes. O futuro da nutrição de plantas tendo em vista aspectos agronômicos, econômicos e ambientais. **Infomações Agronômicas**, [s. l.], v. 121, n. 19, p. 1–10, 2008.

MALAVOLTA, Eurípedes *et al.* Repartição de nutrientes nas flores, folhas e ramos da laranja cultivar Natal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 506–511, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452006000300036&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 29 mar. 2022.

MALAVOLTA, Eurípedes *et al.* Seja o doutor dos seus citros. **Potafos**, [s. l.], v. 4, n. 19, p. 1–9, 1994.

MALAVOLTA, Eurípedes; VIOLANTE-NETTO, A. Nutrição mineral, calagem, gessagem e adubação dos citros. In: ..RECOMENDAÇÕES DE ADUBAÇÃO E CALAGEM PARA O ESTADO DE SÃO PAULO - BOLETIM 100. [S. l.: s. n.], 1989. p. 107.

MALAVOLTA, Eurípedes; VITTI, Godofredo Cesar; OLIVEIRA, Sebastião Alberto de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba - SP: Potafos, 1997.

MARSCHNER, Petra. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition)**. Third Edited. San Diego: Academic Press, 2012. *E-book*. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849052000297>.

MEDINA, Camilo Lázaro *et al.* Fisiologia dos citros. *In*: CITROS. [S. l.]: IAC/Fundag, 2005. p. 149–184.

MEDINA, C L. **Fotossíntese, relações hídricas e alterações bioquímicas em laranja “pera” com CVC e submetida a deficiência hídrica**. 2002. [s. l.], 2002.

MENDEL, K. The influence of temperature and light on the vegetative development of citrus trees. [s. l.], 1969.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of Plant Nutrition**. 5. ed. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001.

MOREIRA, Catarina. Xilema. **Revista de Ciência Elementar**, [s. l.], v. 3, n. 3, 2015.

MOREIRA, S.; RODRIGUES FILHO, A. **Cultura dos citros**. [S. l.: s. n.], 1965.

MORENO, JOAQUIN; GARCÍA-MARTINEZ, JOSÉ L. Extraction of tracheal sap from Citrus and analysis of its nitrogenous compounds. **Physiologia Plantarum**, [s. l.], v. 50, n. 3, p. 298–303, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1980.tb04466.x>.

MORENO, Joaquín; GARCÍA-MARTINEZ, José L. Seasonal variation of nitrogenous compounds in the xylem sap of Citrus. **Physiologia Plantarum**, [s. l.], v. 59, n. 4, p. 669–675, 1983.

NAGARAJAH, Sellappah. A petiole sap test for nitrate and potassium in Sultana grapevines. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, [s. l.], v. 5, p. 56–60, 1999.

NETZER, Florian *et al.* **Seasonal Alterations in Organic Phosphorus Metabolism Drive the Phosphorus Economy of Annual Growth in *F. sylvatica* Trees on P-Impoverished Soil**. [S. l.: s. n.], 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2018.00723>.

OLIVEIRA, Maria Neudes S. *et al.* Variação diurna e sazonal do pH e composição mineral da seiva do xilema em tomateiro. **Horticultura Brasileira**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 10–14, 2003.

OLSEN, J K; LYONS, D J. Petiole sap nitrate is better than total nitrogen in dried leaf for indicating nitrogen status and yield responsiveness of Capsicum in subtropical Australia. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, COLLINGWOOD, p. 835–843, 1994.

PADILLA, Francisco M *et al.* Monitoring nitrogen status of vegetable crops and soils for optimal nitrogen management. **Agricultural Water Management**, [s. l.], v. 241, p. 106356, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378377420302225>.

PARKS, Sophie E; IRVING, Donald E; MILHAM, Paul J. A critical evaluation of on-farm rapid tests for measuring nitrate in leafy vegetables. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 134, p. 1–6, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423811005413>.

PASSIOURA, J B. The Transport of Water from Soil to Shoot in Wheat Seedlings. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 333–345, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/31.1.333>.

PAYE, Henrique De Sá *et al.* Novas tecnologias para avaliação da fertilidade do solo e do estado nutricional das plantas. [s. l.], n. December, p. 42–50, 2018.

PEÑA-FLEITAS, M T *et al.* Assessing crop N status of fertigated vegetable crops using plant and soil monitoring techniques. **Annals of Applied Biology**, [s. l.], v. 167, n. 3, p. 387–405, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/aab.12235>.

PIO, Rafael *et al.* Características Físico-Químicas De Frutos De Pitangueira Em Função Da Altura De Inserção Na Planta. **Revista brasileira agrociência**, [s. l.], n. 11, p. 105–107, 2005.

POMPEU JUNIOR, J. Rootstocks and scions in the citriculture of The São Paulo State. *In:* , 2001. **INTERNATIONAL CONGRESS OF CITRUS NURSEYMEN**. [S. l.: s. n.], 2001. p. 75–82.

PRIMO-MILLO, E. **Fundamentos fisiológicos de la citricultura**. [S. l.]: Tecnidex Fruit Protection, 2017. *E-book*. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=gigxwAEACAAJ>.

PURCINO, Rúbia P. *et al.* Xylella fastidiosa disturbs nitrogen metabolism and causes a stress response in sweet orange *Citrus sinensis* cv. Pêra. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 58, n. 11, p. 2733–2744, 2007.

PURQUERIO, Luis Felipe Villani. Crescimento, produção e qualidade de rúcula (*Eruca sativa* Miller) em função do nitrogênio e da densidade de plantio. [s. l.], p. 119, 2005.

QUAGGIO, José Antônio *et al.* Recomendações para calagem e adubação do citros. *In:* NOVO BOLETIM 100 - IAC - I SIMPÓSIO SOBRE OS AVANÇOS NA NUTRIÇÃO DE CITROS E CAFÉ - BOLETIM 100. [S. l.: s. n.], 2018.

QUAGGIO, José Antônio; DE MATTOS JÚNIOR, Dirceu; CANTARELLA, Heitor. Porta-enxertos. *In:* DE MATTOS JÚNIOR, Dirceu *et al.* (org.). **Citros**. [S. l.]: IAC/Fundag, 2005.

QUAGGIO, José Antonio; MATTOS JR., Dirceu; BOARETTO, Rodrigo Marcelli. Recomendações para Calagem e Adubação de citros. *In:* , 2018. **I Simpósio sobre os Avanços na nutrição de citros e café - Boletim 100**. [S. l.: s. n.], 2018. p. 7.

REP, Martijn *et al.* Mass Spectrometric Identification of Isoforms of PR Proteins in Xylem Sap of Fungus-Infected Tomato. **Plant Physiology**, [s. l.], v. 130, n. 2, p. 904–917, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.007427>.

REUTHER, W; RIOS-CASTANO, D. Comparison of the growth of citrus, of the ripening and composition of the fruit in subtropical California and tropical Colombia. **Fruits**, [s. l.], 1970.

REUTHER, Walter P; SMITH, P F. A preliminary report on the relation of nitrogen, potassium, and magnesium fertilization to yield, leaf composition and the incidence of zinc deficiency in oranges. *In:* , 1950. **Anais [...]**. [S. l.: s. n.], 1950.

RODRIGUEZ, O. Ecosfisiologia dos citros. *In:* CASTRO, P C R; FERREIRA, S. O.; YAMADA, Tsuioshi (org.). **Ecofisiologia da produção agrícola**. [S. l.]: Potafos, 1987. p. 140–162.

RODRÍGUEZ, Alejandra *et al.* Petiole sap nitrate concentration to assess crop nitrogen status of greenhouse sweet pepper. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 285, p. 110157, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423821002648>.

ROSEN, Carl J; ELIASON, Roger. Nutrient Management for Commercial Fruit & Vegetable Crops in Minnesota. **RMA, Agricultural, Food and Environmental Sciences, University of Minnisota**, [s. l.], p. 1–40, 2005.

ROSSETTI, Victoria; NEGRI, José Dagoberto De. Clorose Variegada dos Citros - Revisão. **Citrus Research & Technology**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 61–66, 2011.

SATOH, Shinobu *et al.* Proteins and Carbohydrates in Xylem Sap from Squash Root. **Plant and Cell Physiology**, [s. l.], v. 33, n. 7, p. 841–847, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078332>.

SCHOLANDER, P F *et al.* Sap Pressure in Vascular Plants. **Science**, [s. l.], v. 148, n. 3668, p. 339–346, 1965. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.148.3668.339>.

SENTELHAS, Paulo Cesar. Agrometeorologia dos citros. *In:* CITROS. [S. l.]: IAC/Fundag, 2005. p. 319–344.

SHARMA, Kavita *et al.* Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmently friendly approaches. **Nutrition**, [s. l.], v. 34, p. 29–46, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900716302131>.

SILVA, Alexandre C; SANTOS, Anacleto Ranulfo dos; PAIVA, Ary Vieira de. Translocação de nutrientes em folhas de Hevea brasiliensis (clone) e em acículas de Pinus oocarpa. **Revista Universidade de Alfenas**, [s. l.], v. 4, p. 11–18, 1998.

SOUZA, Thais Regina de *et al.* Nutrientes na seiva de plantas cítricas fertirrigadas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 482–492, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452012000200022&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 23 mar. 2022.

SOUZA, A.; TAKITA, M. A.; COLETTA-FILHO, H. D. **Genômica funcional de bactérias fitopatogênicas**. [S. l.: s. n.], 2006.

SPIEGEL-ROY, P; GOLDSCHIMIDT, E. E. **Biology of citrus**. [S. l.]: Cambridge University Press, 1996.

STARK, N; ESSIG, D; BAKER, S. Nutrient concentrations in Pinus ponderosa and Pseudotsuga menziesii xylem sap from acid and alkaline soils. **Soil Science**, [s. l.], v. 148, n. 2, 1989. Disponível em: https://journals.lww.com/soilsci/Fulltext/1989/08000/NUTRIENT_CONCENTRATIONS_IN_Pinus_ponderosa_AND.6.aspx.

TAIZ, Liconln; ZEIGER, Eduardo. Plant Physiology, Fifth Edition. **Cell**, [s. l.], v. 1, p. 782, 2010. Disponível em: <http://www.amazon.com/dp/0878938567>.

TEZOTTO, Tiago *et al.* Simple procedure for nutrient analysis of coffee plant with energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry (EDXRF). **Scientia Agricola**, [s. l.], v. 70, n. 4, p. 263–267, 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162013000400007&lng=en&tlng=en.

THOMPSON, Rodney B *et al.* Tools and Strategies for Sustainable Nitrogen Fertilisation of Vegetable Crops BT - Advances in Research on Fertilization Management of Vegetable Crops. In: TEI, Francesco; NICOLA, Silvana; BENINCASA, Paolo (org.). Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 11–63. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-53626-2_2.

TORRES, R. M. Adubação de citros no México. In: , 1996. **Seminário internacional de citros**. [S. l.: s. n.], 1996. p. 15–26.

TRANI, Paulo Espíndola; HIROCE, R; BATAGLIA, O C. **Análise Foliar: Amostragem e Interpretação**. Campinas: [s. n.], 1983.

USDA. Citrus : World Markets and Trade Brazil's Orange Production. **Foreign Agricultural Service**, [s. l.], n. January, p. 1–13, 2021. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf%3E>.

UTHMAN, Qudus O *et al.* **Comparative Response of Huanglongbing-Affected Sweet Orange Trees to Nitrogen and Zinc Fertilization under Microsprinkler Irrigation.** [S. l.: s. n.], 2020.

VAN DER PLOEG, R R; BÖHM, W; KIRKHAM, M B. On the Origin of the Theory of Mineral Nutrition of Plants and the Law of the Minimum. **Soil Science Society of America Journal**, [s. l.], v. 63, n. 5, p. 1055–1062, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.2136/sssaj1999.6351055x>.

VAN RAIJ, Bernardo. **Avaliação da fertilidade do solo.** Piracicaba - SP: Instituto da Potassa e Fosfato, 1981.

VAN RAIJ, Bernardo *et al.* **Recomendação de adubação e calagem para o estado de São Paulo.** 2. ed. Campinas: Campinas, IAC. 285p.(IAC, Boletim técnico, 100), 1997.

VITOSH, Maurice L; SILVA, George H. Factors affecting potato petiole sap nitrate tests. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [s. l.], v. 27, n. 5–8, p. 1137–1152, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00103629609369622>.

VITTI, Godofredo Cesar; OTTO, Rafael; SAVIETO, Julia. Maejo do enxofre na agricultura. **Infomações Agrônômicas**, Piracicaba - SP, v. 152, p. 1–14, 2015.

WU, Jindong *et al.* Comparison of petiole nitrate concentrations, SPAD chlorophyll readings, and QuickBird satellite imagery in detecting nitrogen status of potato canopies. **Field Crops Research**, [s. l.], v. 101, n. 1, p. 96–103, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378429006001961>.

YEMM, E W; COCKING, E C; RICKETTS, R E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, [s. l.], v. 80, n. 948, p. 209–214, 1955.

ZAMBON, Flavia T; KADYAMPAKENI, Davie M; GROSSER, Jude W. Ground Application of Overdoses of Manganese Have a Therapeutic Effect on Sweet Orange Trees Infected with Candidatus Liberibacter asiaticus. **HortScience horts**, Washington, DC, v. 54, n. 6, p. 1077–1086, 2019. Disponível em: <https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/54/6/article-p1077.xml>.