

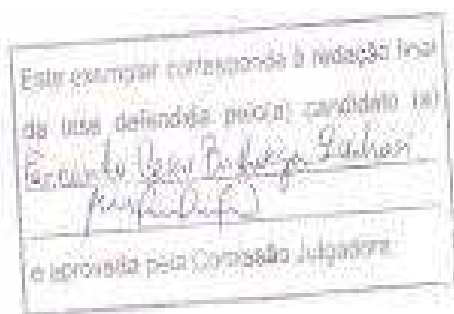
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA



FERNANDO CÉSAR BACHIEGA ZAMBROSI

**ABSORÇÃO, EFICIÊNCIA DE USO E PARTIÇÃO DO FÓSFORO
EM PLANTAS CÍTRICAS**



Tese apresentada ao Instituto de Biologia para
obtenção do Título de Doutor em Biologia
Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Roberto Furlani

Campinas, 2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

Z14a

Zambrosi, Fernando César Bachiega

Absorção, eficiência de uso e partição do fósforo em plantas cítricas / Fernando César Bachiega Zambrosi. – Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientador: Pedro Roberto Furlani.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Fósforo. 2. Citros. 3. Porta-enxertos. 4. Nutrição mineral. 5. Fosfitos. I. Furlani, Pedro Roberto. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

(rcdt/ib)

Título em inglês: Uptake, use efficiency and partitioning of phosphorus in citrus plants.

Palavras-chave em inglês: Phosphorus; Citrus; Rootstock; Mineral nutrition; Phosphites.

Área de concentração: Biologia Vegetal.

Titulação: Doutor em Biologia Vegetal.

Banca examinadora: Pedro Roberto Furlani, Antônio Enedi Boaretto, Cláudia Regina Baptista Haddad, Dirceu de Mattos Júnior, Willian Natale.

Data da defesa: 22/06/2010.

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal.

Campinas, 22 de junho de 2010.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro Roberto Furlani (Orientador)


Assinatura

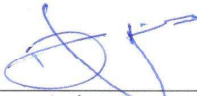
Prof. Dr. Antonio Enedi Boaretto


Assinatura

Profa.Dra. Cláudia Regina Baptista Haddad


Assinatura

Dr. Dirceu de Mattos Júnior


Assinatura

Prof. Dr. William Natale


Assinatura

Prof. Dr. José Lavres Junior

Assinatura

Profa. Dra. Marlene Aparecida Schiavinato

Assinatura

Profa. Dra. Lilian Beatriz Penteado Zaidan

Assinatura

Aos meus amados pais Raimundo e Vera,

Por tudo o que significam para mim,

Pelo carinho e incentivo incondicional,

Pelo seu exemplo de esforço e trabalho árduo e por me ensinarem com suas atitudes,

Pelo apoio para que eu pudesse cumprir mais esta etapa,

Aos meus queridos irmãos Flávio e Fabricio,

Por serem grandes e verdadeiros amigos, meus companheiros

Por nosso aprendizado e luta ao longo da caminhada,

Pelo apoio e presença fraterna de vocês,

E a toda a minha família, que levo em meu coração

DEDICO e OFEREÇO

À Geisa, meu amor e companheira,

Com sua presença especial tudo transformou,

Por estar ao meu lado e lutar comigo com carinho e dedicação,

Obrigado, pois você foi fundamental para que tudo pudesse acontecer,

HOMENAGEIO

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Pedro Roberto Furlani pelos ensinamentos, amizade e orientação na realização deste trabalho.

Ao Dr. Dirceu de Mattos Júnior pelo incentivo, apoio essencial e contribuição em várias etapas.

Aos pesquisadores Heitor Cantarella, José Antônio Quaggio e Rodrigo Boaretto por sugestões e valiosas contribuições, e a Cristiano Alberto de Andrade e Mônica Ferreira de Abreu pelo incentivo.

Ao Prof. Dr. Takashi Muraoka pelo apoio para a realização do trabalho com ³²P.

Aos pesquisadores Bernanrdo van Raij, Ondino Cleante Bataglia e Otávio Antônio de Camargo pela experiência e ensinamentos transmitidos.

Aos pesquisadores do Centro de Solos do IAC pela amizade, incentivo e grandes ensinamentos.

Aos funcionários do Centro de Solos do IAC pela amigável convivência e auxílio nas análises laboratoriais.

À secretária da PG do Instituto de Biologia, Maria Roseli, pela atenção e valiosa ajuda.

Ao programa de pós-graduação em Biologia Vegetal e à Unicamp pela oportunidade concedida.

Aos professores da Unicamp pelos ensinamentos transmitidos, em especial ao Instituto de Biologia Vegetal.

Ao CNPq pela bolsa concedida para a realização do Doutorado Sanduíche.

Ao Dr. James P. Syvertsen pelo acolhimento e oportunidade concedida para a realização do Doutorado Sanduíche na Universidade da Flórida-EUA.

Aos amigos da Universidade da Flórida (Lake Alfred, Florida – EUA), pela amizade, recepção e aprendizado.

A Fapesp pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

Enfim, a todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização de mais esta etapa. *MEU MUITO OBRIGADO....!!*

À DEUS E PELA BENÇÃO, GRAÇA CONCEDIDA, E LUZ EM TODOS OS MOMENTOS, E

PERMITIR TUDO ACONTECER... MUITO OBRIGADO...

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	7
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. Aquisição de fósforo do solo pelas plantas	11
2.2. Regulação da absorção de fósforo	12
2.3. Porta-enxerto e a nutrição mineral da parte aérea	14
2.4. Fertilização fosfatada em plantas cítricas	16
2.5. O fósforo na forma reduzida: fosfito	17
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
4. CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO FOSFATADA DE PORTA-ENXERTO CÍTRICOS CULTIVADOS EM SOLUÇÃO NUTRITIVA.....	23
Resumo	23
Abstract	24
4.1. Introdução	25
4.2. Material e Métodos	26
4.2.1. Condições de crescimento	26
4.2.2. Avaliações do crescimento	27
4.2.3. Eficiência nutricional	28
4.2.4. Fracionamento de fósforo no tecido vegetal	28
4.2.5. Quantificação da atividade da fosfatase ácida (AFA) nas folhas e nas raízes	29
4.2.6. Análise dos dados	30
4.3. Resultados	30
4.3.1. Crescimento dos porta-enxertos cítricos	30
4.3.2. Estado nutricional por fósforo dos porta-enxertos cítricos	34
4.3.3. Eficiência de absorção e utilização de fósforo	39
4.3.4. Atividade da fosfatase ácida	41
4.4. Discussão dos Resultados	42
4.4.1. Suprimento de fósforo e crescimento dos porta-enxertos cítricos	42
4.4.2. Estado nutricional por fósforo dos porta-enxertos cítricos	44

4.4.3. Eficiência nutricional de fósforo em porta-enxertos cítricos	45
4.4.4. Atividade da fosfatase ácida	47
4.5. Conclusões	49
4.6. Referências Bibliográficas	49
5. CRESCIMENTO INICIAL E NUTRIÇÃO DE PLANTAS JOVENS DE LARANJEIRA EM FUNÇÃO DO PORTA-ENXERTO E DA LOCALIZAÇÃO DA ADUBAÇÃO COM FÓSFORO	57
Resumo	57
Abstract	58
5.1. Introdução	59
5.2. Material e Métodos	61
5.2.1. Coleta, correção da acidez do solo e definição das doses de fósforo aplicadas ao solo	61
5.2.2. Instalação e condução do Experimento	63
5.2.3. Análises no tecido vegetal	64
5.2.3.1. Coleta das folhas	64
5.2.3.2. Atividade da fosfatase ácida nas folhas	65
5.2.4. Coleta do experimento	65
5.2.5. Estimativa da absorção de P pelas plantas	66
5.2.6. Análise dos resultados	66
5.3. Resultados	66
5.3.1. Crescimento de plantas jovens de laranjeira	66
5.3.2. Estado nutricional e absorção de fósforo por plantas jovens de laranjeira	68
5.3.3. Atividade da fosfatase ácida nas folhas de laranjeira	70
5.4. Discussão dos Resultados	71
5.4.1. Crescimento das plantas, estado nutricional e acúmulo de fósforo	71
5.4.2. Atividade da fosfatase ácida nas folhas (AFAF)	76
5.5. Conclusões	78
5.6. Referências Bibliográficas	78
6. ABSORÇÃO, REMOBILIZAÇÃO E PARTIÇÃO DO FÓSFORO (³² P) EM PLANTAS JOVENS DE LARANJEIRA DIFERENTES QUANTO AO ESTADO NUTRICIONAL POR FÓSFORO E PORTA-ENXERTO	84

Resumo	84
Abstract	85
6.1. Introdução	86
6.2. Material e Métodos	87
6.2.1. Primeira etapa: Instalação e condução do experimento – obtenção de estado nutricional distinto por fósforo nas laranjeiras	87
6.2.2 Segunda etapa: partição e remobilização de ^{32}P em função do estado nutricional em fósforo da planta	89
6.2.3. Análises dos Resultados	91
6.3. Resultados	91
6.3.1. Acúmulo de massa seca em plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ cultivadas em solução nutritiva	92
6.3.2. Estado nutricional por fósforo, absorção e destino do nutriente em plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’	93
6.3.3. Acúmulo total e relativo de fósforo (^{32}P) em plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ em função do porta-enxerto e do estado nutricional	96
6.3.4. Remobilização de fósforo em plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ com diferente estado nutricional	100
6.4. Discussão dos Resultados	105
6.4.1. Disponibilidade de fósforo e porta-enxertos: efeitos na absorção de ^{32}P	105
6.4.2. Destino do ^{32}P absorvido da solução nutritiva e remobilização interna de fósforo	107
6.5. Conclusões	110
6.6. Referências Bibliográficas	111
7. IS PHOSPHITE A SOURCE OF PHOSPHORUS FOR CITRUS ROOTSTOCK?	116
Abstract	116
Resumo	117
7.1. Introduction	118
7.2. Material and Methods	118
7.2.1. Plant material and growth conditions	119
7.2.2. Leaf Gas exchange, chlorophyll fluorescence and SPAD readings	119

7.2.3. Growth parameters	121
7.2.4. Phosphate and phosphite extraction and quantification by capillary electrophoresis (CE) ...	121
7.2.5. Phosphorus and nitrogen total concentration	121
7.2.6. Statistical analysis	122
7.3. Results	122
7.3.1. Plant growth	122
7.3.2. Phosphorus nutrition	122
7.3.3. Net gas exchanges, photosynthetic water use efficiency, chlorophyll fluorescence and SPAD readings	123
7.3.4. Phosphorus use efficiency	124
7.4. Discussion	130
7.4.1. Growth and nutrition of citrus rootstocks under sources and rates of P	130
7.4.2. Photosynthetic apparatus	130
7.5. Conclusions	132
7.6. Literature Cited	134
CONSIDERAÇÕES FINAIS	134
CONCLUSÕES FINAIS	134

ABSORÇÃO, EFICIÊNCIA DE USO E PARTIÇÃO DO FÓSFORO EM PLANTAS CÍTRICAS

RESUMO

A restrição ao desenvolvimento das mais variadas culturas agrícolas, devido à deficiência por fósforo (P), é uma condição comum na agricultura brasileira, incluindo a atividade citrícola. Estudos detalhados da nutrição fosfatada podem contribuir para auxiliar no manejo destas plantas em solos com baixa disponibilidade do nutriente. Desta maneira, foram desenvolvidos quatro experimentos em condições de casa-de-vegetação, utilizando-se como ferramentas: a avaliação da atividade da fosfatase ácida, o fracionamento de P nas folhas, o emprego de radioisótopo ^{32}P para estimativas de absorção e remobilização, medidas de crescimento e eficiência de uso de P, além da avaliação da forma reduzida de P (fosfíto, Phi) como fonte do nutriente. Para estes estudos, porta-enxertos cítricos (PE) (limão ‘Cravo’, citrumelo ‘Swingle’, tangerinas ‘Cleópatra’ e ‘Sunki’, citrange ‘Carrizo’ e ‘Smooth Flat Seville’) e combinações copa/porta-enxerto (laranja ‘Pêra’ sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’) foram combinados com variado suprimento e/ou fonte de P. Houve diferenças de crescimento e estado nutricional por P entre os PE, mas todos eles responderam positivamente ao suprimento do nutriente. O limão ‘Cravo’ foi o PE mais eficiente para absorção e utilização de P. A atividade da fosfatase ácida nas folhas (AFAF) e nas raízes (AFAR) dos PE foi negativamente correlacionada com os teores de P nesses órgãos. AFAF confirmou a deficiência por P nestas plantas, enquanto que a AFAR contribui provavelmente para diferenças na eficiência de absorção de P. As faixas de teores máximos das frações de P nas folhas corresponderam à: 1,25-1,32; 0,29-0,50; 0,68-0,83 e 2,5-3,2 g kg⁻¹, para Pi, P-éster, P-ácido nucléico e P-total, respectivamente. A distribuição mais homogênea do fertilizante fosfatado no solo deficiente apresentou potencial para maximizar a absorção do nutriente e respostas de crescimento da laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’. A planta de ‘Pêra’/‘Cravo’ apresentou maior crescimento vegetativo, incluindo o sistema radicular, além de ter sido mais eficiente para absorção e acúmulo de P do que a combinação ‘Pêra’/‘Cleópatra’. Por outro lado, esta última combinação apresentou maiores taxas de remobilização do nutriente, sendo mais dependente das reservas internas de P para atender a demanda dos novos fluxos de crescimento. Esta constatação esteve de acordo com a maior AFAF das plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’. As plantas deficientes por P apresentaram maiores taxas e eficiência de absorção do nutriente após o ressuprimento. Houve alta participação do P remobilizado (média de 92%) nos novos fluxos de crescimento, mesmo com o suprimento adequado do nutriente na solução nutritiva. Embora os teores

foliares de P-total dos PE citrange ‘Carrizo’ e ‘Smooth Flat Seville’ tenham sido incrementados com o uso de fosfito, isto não resultou em ganhos de biomassa vegetal. Desta maneira, o Phi demonstrou não ser uma fonte de P para plantas cítricas, comprometendo o crescimento, nutrição, eficiência de utilização de nutrientes e a assimilação de CO₂.

Palavras-chave: citros; porta-enxerto; nutrição mineral; fosfito; ³²fósforo.

UPTAKE, USE EFFICIENCY AND PARTITIONING OF PHOSPHORUS IN CITRUS PLANTS

ABSTRACT

The low phosphorus (P) availability is often a growth-limiting to a number of crops growing in Brazil, including citrus plants. Therefore, we expected that studies about P citrus nutrition could be useful to improve the management of these plants at low-P soils. Therefore, four experiments were carried out under greenhouse conditions. As strategy, acid phosphatase activity, P fractions in the leaves, the rate of P uptake and remobilization using ^{32}P isotopic technique, growth parameters and P use efficiency as well as phosphite (a reduced form of P, Phi) as source of P were evaluated. For these studies, citrus rootstocks varieties (CRV, 'Cleopatra' mandarin, 'Rangpur' lime, 'Sunki' mandarin, 'Swingle' citrumelo, 'Carrizo' citrange and 'Smooth Flat Seville') and scion/rootstocks combinations ('Pêra' sweet orange on 'Cleopatra' mandarin or 'Rangpur' lime) were selected and combined with P supply and/or source. There were differences on plant growth and P nutrition of citrus rootstocks, but all of them responded positively to phosphorus supply. The 'Rangpur' lime rootstock showed the highest phosphorus uptake and utilization efficiency. Acid phosphate activity in the leaves was negatively related with P concentration and it improved severe P deficiency of CRV. Differences in APA in the roots might contribute to variation on phosphorus uptake efficiency among CRV. The maximum values of P fractions in the leaves of CRV corresponded to: 1.25-1.32; 0.29-0.50; 0.68-0.83 e 2.5-3.2 g kg⁻¹, for Pi, P-ester, P-acid nucleic and P-total, respectively. More homogenous P fertilizer placement in the soil favored nutrient uptake and growth responses of 'Pêra' on 'Cleopatra' and 'Rangpur'. 'Pêra'/'Rangpur' plants growth more (including root system) and were more efficient in P uptake and meeting P requirements than 'Pêra'/'Cleopatra'. This latter scion/rootstock combination showed higher P remobilization and dependence of stored P pools to meet plant's demand. This result is in agreement with the higher APA in the mature leaves of 'Pêra'/'Cleopatra' than in 'Pêra'/'Rangpur'. The rate and phosphorus uptake efficiency were stimulated by P deficiency, while relative remobilization was reduced after P resupply. Regardless of P availability in the nutrient solution, there was elevated contribution of remobilized P (average of 92%) in the new shoot growth. Although the total P foliar concentration of 'Carrizo' citrange and 'Smooth Flat Seville' was increased by phosphite, this did not translate into plant growth. Phosphite use was harmful to plant growth,

nutrient utilization efficiency and net gas exchange. So, the use of phosphite did not meet the P requirements by citrus.

Key words: citrus; rootstock; mineral nutrition; phosphite; ³²phosphorus.

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A citricultura é uma atividade de reconhecida importância para a agricultura e a economia paulista. Entretanto, o setor tem enfrentado desafios tanto no quesito econômico, devido à contínua necessidade de redução dos custos de produção, como no aspecto fitossanitário, no qual os danos à produtividade de frutos têm se acentuado pela ação de várias pragas e doenças. Desta maneira, tem-se procurado maximizar a eficiência do sistema de produção, mediante a obtenção de plantas mais vigorosas e com maior potencial produtivo. Neste contexto, o manejo nutricional dos pomares cítricos é importante, devido ao efeito direto dos nutrientes sobre o crescimento, a produtividade e a qualidade do produto.

Os solos brasileiros, de forma predominante, apresentam baixos teores disponíveis de fósforo (P). Esta condição é limitante ao alcance de produtividades satisfatórias, sendo imprescindível a aplicação de doses adequadas de fertilizante fosfatado, sobretudo na instalação dos pomares de laranja, quando as plantas apresentam maior demanda pelo nutriente, alta taxa de crescimento e sistema radicular ocupando pequeno volume de solo. Deste modo, devido às funções desempenhadas pelo P no metabolismo vegetal, práticas de manejo deveriam ser adotadas, de modo que maximizassem a disponibilidade no solo e o aproveitamento do nutriente pelas plantas cítricas. Para tal, alguns aspectos do manejo da fertilização e/ou nutrição fosfatada nestas plantas necessitariam de conhecimentos mais amplos, tais como: i) formas mais eficiente de distribuição do fertilizante fosfatado no sulco de plantio; ii) capacidade dos porta-enxertos na absorção de P e suprimento da demanda da parte aérea; iii) a dinâmica do P no interior da planta (remobilização, partição) em função do porta-enxerto e do estado nutricional; iv) a eficiência da forma reduzida (fosfito, PO_3) em substituir o fosfato (forma oxidada, PO_4) como fonte de P.

Considerando que elucidar os questionamentos e/ou dúvidas acima referidos seriam importantes para avanços no manejo da nutrição fosfatada dos citros, quatro estudos independentes foram programados, de modo que tais temas fossem abordados. Numa primeira etapa, sendo considerado como um experimento básico, o seguinte trabalho foi realizado: *Crescimento e nutrição fosfatada de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva*. Devido ao efeito da interação copa x porta-enxerto sobre as respostas das plantas à disponibilidade de nutrientes e a necessidade de abordagem de aspectos adicionais da nutrição fosfatada nas laranjeiras, outros dois experimentos foram conduzidos: i) *Crescimento inicial e nutrição de plantas jovens de laranjeira em função do porta-enxerto e da localização da adubação com fósforo*; ii) *Absorção, remobilização e partição de fósforo (^{32}P) em*

plantas jovens de laranjeira diferentes quanto ao estado nutricional por fósforo e porta-enxerto. Como pesquisa complementar, em função do crescente estímulo ao uso de fosfito no manejo da nutrição mineral de várias culturas de interesse econômico, incluindo o citros, foi desenvolvido na Universidade da Flórida (Flórida – EUA), o seguinte estudo: is phosphite a source of phosphorus for citrus rootstocks?

Em suma, cada estudo teve o objetivo de investigar determinado aspecto da nutrição fosfatada dos citros, de maneira que os experimentos fossem complementares. É esperado que os resultados possam contribuir para a geração e a ampliação de conhecimentos da relação entre o nutriente fósforo e a planta de citros, tendo como consequência, um sistema de produção mais eficiente.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aquisição de fósforo do solo pelas plantas

O fósforo (P) é um nutriente imóvel e distribuído de forma heterogênea no solo, sendo frequentemente fator limitante ao crescimento dos vegetais (Gilroy & Jones, 2001; Doerner, 2008). A principal forma que o íon fosfato atinge a região da rizosfera é por meio do processo de difusão, o qual é caracterizado por apresentar valores muito baixos (10^{-12} - 10^{-15} m² s⁻¹). Desta forma, é criada uma zona desprovida de P na região próxima às raízes, dificultando a absorção do nutriente (Schachtman et al., 1998; Panigraphy et al., 2009). Apesar de ser uma etapa limitante ao processo de absorção, a difusão de P em direção às raízes poderia ser incrementada pelo aumento da umidade do solo, ou pela concentração de P inorgânico (Pi) na fase solúvel por meio do deslocamento do nutriente complexado, adsorvido à superfície dos minerais ou presente na forma orgânica (Lambers et al., 2006).

Na solução do solo, o P é encontrado em baixa concentração (1-10 µmol L⁻¹) (Raghothama, 2000), sendo a especiação iônica dependente do pH. Os pKs para a dissociação do H₃PO₄ em H₂PO₄⁻ e este em HPO₄⁻² são 2,1 e 7,2, respectivamente (Schachtman et al., 1998). Desta maneira, em solos ácidos, a forma H₂PO₄⁻ é aquela predominantemente absorvida pelas raízes. Durante a absorção do nutriente, há requerimento por um transporte energizado do P proveniente da solução do solo através da membrana plasmática, devido ao potencial negativo da membrana e às concentrações relativamente elevadas do elemento no citoplasma em relação ao meio externo (Mimura, 2001).

O P é absorvido pelas raízes num processo associado ao movimento de íons positivamente carregados (H⁺) através da membrana plasmática, o que é guiado por um gradiente de prótons produzidos pela ação da H⁺-ATPase (Ullrich-Eberius et al., 1981). Esse processo envolve ainda, a participação de proteínas específicas, denominadas transportadores de fosfato, as quais estão embebidas na membrana plasmática e intermedeiam a passagem do íon (Smith et al., 2000). Estudos de cinética de absorção de P têm indicado que os transportadores de alta afinidade operam em baixa concentração do nutriente na solução do solo, e são induzidos pela condição de estresse nutricional, desempenhando a função de aquisição do nutriente. Enquanto isso, aqueles de baixa afinidade são responsáveis pela absorção em concentração elevada e atuam no carregamento e descarregamento do sistema vascular e na remobilização interna de P (Muchhal & Raghothama, 1999; Mimura, 2001; Karthikeyan et al., 2002; Panigraphy et al., 2009). Em função da limitação ao desenvolvimento das plantas pela baixa disponibilidade de P, além da precisa regulação dos transportadores nas membranas das células das raízes, os vegetais desenvolveram outras estratégias ao nível de sistema radicular, com o

objetivo de aumentar a capacidade de aquisição de P. Deste modo, a expressão de transportadores de alta afinidade teriam a sua contribuição maximizada, desde que as raízes fossem providas com íon fosfato em taxas satisfatórias. Portanto, é necessário que as plantas ampliem o volume de solo explorado e promovam a transferência de P para a fase solúvel.

Uma das típicas respostas das plantas à deficiência por P é o incremento da relação raiz:parte aérea (Hermans et al., 2006), que possibilita maior exploração de volume de solo para cada unidade de biomassa vegetal da parte aérea (PA). A exploração mais eficiente do solo, também é adquirida mediante alteração da arquitetura do sistema radicular, aumentando o crescimento das raízes laterais, o comprimento e o número de pêlos radiculares (Bates & Lynch, 2000; Chevalier et al., 2003). Alterações na região da rizosfera também são importantes, como a exudação de ácidos orgânicos (Neuman & Römheld, 1999). A liberação destes ácidos promove a complexação de metais e subsequente liberação do Pi precipitado para a fase líquida do solo (Vance et al., 2003). Existem ainda, as enzimas que atuam na hidrólise do P orgânico (Bosse & Kock, 1998), permitindo que o nutriente se torne disponível para o processo de absorção. É importante ressaltar que as plantas também estabelecem associação simbiótica com micorrizas. A colonização por estes indivíduos contribui para elevar a capacidade de absorção de P, sendo mais intensa em hospedeiros deficientes e crescendo em solos com baixo teor disponível do nutriente (Graham & Eissenstat, 1994).

2.2. Regulação da absorção de fósforo

No interior da planta, o P atua como elemento estrutural, participando da constituição de ácidos nucléicos e fosfolípidos (formação das biomembranas), além de ser indispensável para o metabolismo energético, quando os ésteres de fosfato participam ativamente das reações de transferência de energia. O Pi, através dos processos de fosforilação e desfosforilação de proteínas é componente chave das rotas de transdução de sinal (Rausch & Bucher, 2002; Yang & Finnegan, 2010). A distribuição de P na planta é heterogênea e segue o padrão de demanda celular, o que requer um extensivo e sofisticado mecanismo regulatório, a fim de que a planta mantenha a homeostase de P e a eficiência metabólica (Dorner, 2008). Em plantas bem nutridas, o nutriente é acumulado na PA durante o crescimento vegetativo, enquanto mudanças na distribuição de P devem ocorrer à favor do sistema radicular quando a disponibilidade é restringida (Peuke, 2010). Isto porque, o estado nutricional do sistema radicular detém importante controle sobre o padrão de distribuição do nutriente (Cogliatti & Clarkson, 1983). Para otimizar o uso interno de P, as plantas intensificam a reciclagem do elemento de tecidos velhos

para os mais novos, havendo participação de fosfatases e nucleases, as quais promovem a disponibilização de P dos compostos orgânicos celulares (Hammond et al., 2004).

A demanda da PA é considerada o principal fator regulatório do processo de absorção de nutrientes (Marschner, 1995). Entretanto, de modo que esta absorção seja eficiente em atender as necessidades da planta, com a manutenção da homeostase por P, a sinalização entre PA e raízes é uma etapa essencial, sendo requeridos sinais à longa distância para informar o estado nutricional destas partes (Lin et al., 2008). Recentemente, sobretudo com o cultivo em condições de deficiência por P, avanços foram estabelecidos sobre os componentes desta comunicação. As plantas possuem ao menos dois mecanismos diferentes de sinalização para a manutenção da homeostase, sendo um operado ao nível celular, enquanto o outro envolve a planta inteira (múltiplos órgãos), o qual é provavelmente proveniente da PA (Raghothama, 1999). A alocação, o transporte de Pi à longa distância e a sua reciclagem no interior da planta são processos cuidadosamente coordenados e altamente dependentes do estado nutricional do vegetal (Morcuende et al., 2007). As primeiras evidências de alteração da disponibilidade de P percebida pela PA, ocorrem por meio dos sinais provenientes do sistema radicular, como a redução no transporte de Pi através do xilema. Ao mesmo tempo, uma sinalização coordenada pela primeira é necessária para garantir a integração das alterações na fisiologia e no desenvolvimento radicular, as quais devem estar em acordo com a demanda atual da planta (Doener, 2008; Lin et al., 2008).

A reciclagem ou alocação de Pi na PA e entre esta e as raízes foi proposta como sinal indicador do estado nutricional da PA ao sistema radicular. O transporte de Pi originado de tecido velho para os mais novos, das raízes para a PA e de volta às raízes (para sustentar a atividade meristemática radicular por maior tempo possível) afeta as rotas de sinalização do estresse por P (Forde, 2000; Raghothama, 2000; Doerner, 2008). Mais recentemente, o microRNA399 foi proposto como sinal à longa distância, o qual, quando a PA se torna deficiente, tem a sua síntese aumentada, sendo movido da PA através do floema em direção às raízes. O microRNA399 é percebido no sistema radicular pela proteína alvo PHO2, que é responsável pelo controle da absorção e transporte de Pi. A interação entre microRNA399 e o PHO2 foi considerada como etapa crucial para a manutenção da homeostase de P (Bari et al., 2006; Doerner, 2008; Lin et al., 2008; Panygrahy, 2009).

A distribuição de carboidratos nas plantas também tem sido considerada como importante componente das rotas de sinalização do estado nutricional por P e para a coordenação e/ou ativação das respostas no sistema radicular. Em plantas deficientes, as mudanças na concentração de P celular são

acompanhadas pelo transporte de consideráveis quantidades de carboidratos para as raízes, sendo possível que informações sobre o estado nutricional da PA sejam transmitidas por esses compostos (Raghothama, 2000). Recentemente, Hammond & White (2008) reafirmaram o importante papel regulatório das repostas ao nível radicular exercido pelos carboidratos em plantas deficientes, como por exemplo, a participação da sacarose translocada da PA para ativação de transportadores de P de alta afinidade nas raízes.

Em plantas de citros, os mecanismos de sinalização do estado nutricional por P entre PA e raiz não são ainda especificamente conhecidos. Entretanto, de forma conjunta, os mecanismos acima abordados, devem contribuir em maior ou menor magnitude para a comunicação entre estas partes das plantas. Os processos atuam para manter a P homeostase na PA, de modo que os drenos (folhas, ramos ou frutos) sejam atendidos com sua demanda específica, e que ao mesmo tempo, as folhas maduras não tenham seus processos metabólicos comprometidos, como por exemplo, a fotossíntese. Desta maneira, os processos de remobilização, absorção e uso do nutriente devem estar em adequada sintonia com a taxa de crescimento da planta (acúmulo de massa seca), de modo que em suprimento insuficiente de P pelo sistema radicular, a planta ative seus mecanismos de tolerância ao estresse nutricional, como a ação de enzimas para a quebra de P orgânico. Ou ainda, em casos severos de deficiência, possa optar pela restrição ao crescimento, diminuindo a demanda absoluta do nutriente pelo vegetal.

2.3. Porta-enxerto e a nutrição mineral da parte aérea

O porta-enxerto (PE) afeta várias características da variedade copa, dentre elas o estado nutricional. O conhecimento da interação entre estas duas partes sobre os aspectos nutricionais da planta é importante para escolha dos PE mais recomendados para solos que estão deficientes, ou possuem níveis tóxicos de um ou mais elementos (Rivero et al., 2003). Estes autores acrescentaram ainda, que o uso de PE mais adequados, que contribuam para nutrição mais equilibrada, acarretaria como consequência básica, o desenvolvimento mais vigoroso da planta e a redução proporcional da susceptibilidade aos estresses ambientais. O efeito do PE no processo de adaptação à condições adversas foi documentado, por exemplo, para solos salinos (Bañuls & Primo-Milo, 1995). Os autores constataram que o PE controlou efetivamente o acúmulo de Cl em folhas de plantas jovens de citros fertirrigadas com NaCl, o que foi atribuído à habilidade de cada material genético em excluir o Cl das raízes.

Num trabalho amplo, no qual foi investigado o efeito de onze PE sobre o teor foliar de nutrientes de tangerina ‘Nova’ [*Citrus reticulata* Blanco x (*C. paradisi* Macf. x *C. reticulata*)],

exclusivamente para Fe, não foi observada influência significativa dos PE. Em relação ao P, os teores variaram de 1,0 g kg⁻¹ a 1,4 g kg⁻¹ (Georgiou, 2000). Além do efeito do PE, a interação com variedade copa tem se mostrado importante em determinar o teor foliar de nutrientes. Por exemplo, em plantas enxertadas de *Pinus caribae*, tanto a copa, quanto os PE, foram determinantes do teor foliar de P. Entretanto, as diferenças nos teores foliares da PA refletiram mais a sua demanda, do que a capacidade das raízes em absorver o nutriente (Haines & Simpson, 1994), minimizando deste modo a influência do PE. Entretanto, num experimento em que foi avaliada a composição mineral de duas copas de laranja ‘Valência’ (‘Valencia Late’ e ‘Rhode Red Valencia’) enxertadas sobre três porta-enxertos, observou-se efeito exclusivo dos PE sobre os teores foliares de P das plantas, o que foi atribuído à capacidade diferencial de absorção dos nutrientes por estes materiais genéticos (Toplu et al., 2008).

O vigor da combinação copa/porta-enxerto, o qual é regulado principalmente pelo PE (Jensen et al., 2003), definirá a taxa de absorção de nutriente pelas raízes, desde que plantas mais vigorosas e produtivas, apresentarão maior demanda, fazendo com que o total absorvido seja mais elevado do que combinações menos vigorosas. Contudo, devido ao maior crescimento, é possível que menores teores foliares do nutriente sejam determinados, uma vez que o fator diluição atua em maior intensidade. Por exemplo, a variação dos teores foliares de K em maçã Fuji, cultivar BC-2, enxertadas sobre vários PE, foi relacionado ao nível de produção das árvores, sendo que àquelas com menor quantidade de frutos e conseqüentemente menor demanda, detiveram os maiores teores foliares do nutriente (Fallarhi et al., 2001).

A PA influenciará a funcionalidade do sistema radicular quando por exemplo, torna-se incapaz de suprir as raízes com carboidratos em quantidade suficiente, tanto para a manutenção quanto para o crescimento, comprometendo entre outros fatores a aquisição de nutrientes (Johnson, 1990). O PE, em função das características do seu sistema radicular, tais como, densidade de raízes, arquitetura, pêlos radiculares, capacidade de associação com micorrizas, potencial para solubilização de P (Pi precipitado ou P orgânico) e taxa de absorção do nutriente, afetará significativamente a capacidade de atender a demanda do nutriente pela PA. Embora a habilidade de aquisição de P pelo sistema radicular contribua para o vigor final da árvore, sobretudo em solos com baixa disponibilidade do nutriente, outros fatores apresentarão o seu efeito, como a absorção de demais nutrientes e a condutividade hidráulica do sistema radicular (Gonçalves et al., 2005), além da tolerância aos demais estresses bióticos e abióticos.

2.4. Fertilização fosfatada em plantas cítricas

Embora a quantidade total de P possa ser alta em alguns tipos de solos, o nutriente se encontra frequentemente em baixo teor disponível, devido à elevada adsorção e precipitação, não sendo suficiente para suportar satisfatórias taxas de crescimento das plantas (Schachtman et al., 1998). Desta maneira, apesar da eficiência de aproveitamento do fertilizante no solo ser baixa, altas dosagens de fertilizantes são normalmente requeridas para incrementar a disponibilidade do nutriente na solução do solo e a obtenção de produtividades adequadas (Du et al., 2009).

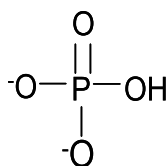
No caso específico dos citros, o manejo detalhado da adubação fosfatada foi apresentado por Quaggio et al. (2005), dividindo-se o programa de adubação em três fases: plantio, formação da planta e produção. Por ocasião da instalação do pomar, as doses são baseadas no resultado da análise de solo (P-resina), com doses variando de 20 à 80 g m⁻¹ de P₂O₅ linear de sulco. Ajustes também foram sugeridos em função do PE utilizado. Por exemplo, foi recomendado que as plantas enxertadas sobre tangerina ‘Cleópatra’ recebessem doses de P₂O₅ 20% superior do que aquelas sobre os demais PE. Na fase de formação, além do teor do nutriente no solo, a idade da planta é considerada na definição da dose, enquanto que, quando na fase produtiva, a expectativa de produtividade e o destino da produção (laranja para a indústria ou *in natura*) também influenciam a quantidade de fertilizante recomendada.

A resposta dos citros à fertilização com P tem sido estudada em plantas nos mais variados estágios de desenvolvimento e condições de cultivo. Num estudo com PE, houve limitação ao ganho inicial de massa seca por plantas de tangerina ‘Cleópatra’, que foram cultivadas sem a adição de fertilizante em solo deficiente em P (Sena et al., 2004). Em plantas jovens de citros cultivadas em vasos, o efeito positivo do fornecimento de P tem sido confirmado. Por exemplo, num trabalho desenvolvido por Prado et al. (2008), ao avaliar a aplicação combinada de N, P e K em mudas de laranjeira ‘Valência’ enxertada sobre citrumelo ‘Swingle’, os autores verificaram incrementos significativos sobre o crescimento e o acúmulo dos nutrientes em relação à testemunha sem adubação. Em condições de campo, as respostas à adubação têm sido registradas para a produção de frutos em pomares instalados em solos com baixo teor disponível do nutriente (Quaggio et al., 1998; Sobral et al., 2000). Estes trabalhos confirmam que os ganhos de massa seca e produtividade de plantas cítricas, em seus vários estágios de desenvolvimento, são limitados pela baixa disponibilidade de P no solo. Entretanto, além das avaliações exclusivas de crescimento ou de produtividade de frutos, investigações detalhadas sobre nutrição fosfatada poderiam ser incluídas, uma vez que contribuiriam para ampliar os conhecimentos das respostas destas plantas à variação da disponibilidade do nutriente no solo.

2.5. O fósforo na forma reduzida: fosfito

A forma reduzida de fosfato (HPO_4^{-2} ; Pi), conhecida como fosfito (HPO_3^{-2} ; Phi), tem sido amplamente pesquisada para ser utilizada em sistemas de produção de várias culturas, tanto com a função de fungicida, como fonte de fósforo (Carswell et al. 1997). Nesta forma reduzida, um hidrogênio substitui um dos oxigênios ligados ao átomo de P (Figura 1), alterando a conformação da molécula (Carswell et al. 1996; Singh et al. 2003).

Fosfato (valência +5)



Fosfito (valência +3)

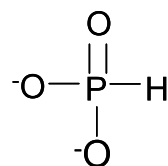


Figura 1. Estruturas químicas das formas de fósforo (White & Metcalf, 2007).

As investigações sobre a viabilidade do fosfito para suprir P aos vegetais não são recentes (MacIntire et al., 1950), porém, a sua adoção tem levantado consideráveis controvérsias no mundo científico (MacDonald et al. 2001). O Phi foi tradicionalmente considerado inerte em relação ao metabolismo dos seres vivos, até a descoberta de que as aplicações foliares ou a sua injeção ao tronco das plantas na forma de Fosetil-Al efetivamente suprimiram a ocorrência de doenças causadas por fungos, como a *Phytophthora*. É aceito que o nível de Phi empregado no controle de fitopatógenos não tem efeito prejudicial ao desenvolvimento ou metabolismo das plantas (Carswell et al., 1997).

O emprego do Phi, principalmente quando considerado como ‘fonte superior de P’ para as plantas, tem gerado consideráveis controvérsias (Singh et al. 2003). Nos últimos anos, um renovado interesse pelas propriedades nutricionais do Phi tem estimulado a sua comercialização como fertilizante. Isto está ocorrendo em função da constatação de alguns benefícios atribuídos à esta molécula, como o incremento do florescimento e frutificação em plantas cítricas (Richard, 2000). Este autor mencionou as seguintes explicações para a ação positiva dos adubos contendo Phi: i) fornece uma forma prontamente disponível para absorção pelas raízes, devido à sua menor fixação no solo; ii) maior eficiência para adubação foliar, dada à sua mais pronta absorção quando comparado ao Pi.

Por outro lado, outros trabalhos demonstraram efeito adverso do Pi sobre o desenvolvimento e crescimento das plantas. A aplicação de Phi na forma de fosetil-Al reduziu o crescimento de plântulas

de cebola (*Allium cepa*), independentemente da disponibilidade de P no meio de crescimento (Surkano et al., 1998). Förster et al. (1998) notaram que o uso de Phi restringiu o crescimento e provocou o surgimento de deficiência por P em plantas de tomate e pimentão cultivadas em hidroponia. Os autores concluíram que estudos adicionais seriam necessários para avaliar a interação entre Phi e os fertilizantes fosfatados.

Considerando o estímulo e a disseminação do uso de produtos à base Phi como fonte de P e/ou complemento dos programas de fertilização, seria importante a ampliação dos conhecimentos dos efeitos desta molécula sobre o crescimento, a nutrição e o metabolismo dos vegetais. Isso se torna mais importante, quando se considera a carência generalizada de P nos solos brasileiros, o que deve tornar mais acentuado os efeitos da aplicação de Phi. Deste modo, estudos que promovam maior detalhamento das interações entre as plantas e o Phi, contribuiriam para direcionar ao uso mais racional no ambiente.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAÑULS, J.; PRIMO-MILLO, E. Effects of salinity on some citrus scion-rootstock combinations. **Annals of Botany**, v. 76, p. 97-201, 1995.
- BARI, R.; PANT, B.D.; STITT, M.; SCHEIBLE, W. PHO2, MicroRNA399, and PHR1 define a phosphate-signaling pathway in plants. **Plant Physiology**, v. 141, p. 988-999, 2006.
- BATES, T.R.; LYNCH, J.P. The efficiency of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) root hairs in phosphorus acquisition. **American Journal of Botany**, v. 87, p. 964-970, 2000.
- BOSSE, D.; KOCK, M. Influence of phosphate starvation on phosphohydrolases during development of tomato seedlings. **Plant, Cell and Environment**, v. 21, p. 325-332, 1998.
- CARSWELL, M.C.; GRANT, B.R.; PLAXTON, W.C. Disruption of the phosphate-starvation response of oilseed rape suspension cells by the fungicide phosphonate. **Planta**, v. 203, p. 67-74, 1997.
- CARSWELL, M.C.; GRANT, B.R.; THEODOROU, M.E. PLAXTON, W.C. The fungicide phosphonate disrupts the phosphate-starvation response in *Brassica nigra* seedlings. **Plant Physiology**, v. 110, p. 105-110, 1996.
- CHEVALIER, F.; PATA, M.; NACRY, P.; DOUMAS, P.; ROSSIGNOL, M. Effects of phosphate availability on the root system architecture: large-scale analysis of the natural variation. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 1839-1850, 2003.

- COGLIATTI, D.H.; CLARKSON, D.T. Physiological changes in phosphate uptake by potato plants during development of, and recovery from phosphate deficiency. **Physiologia Plantarum**, v. 58, p. 287-294, 1983.
- DOERNER, P. Phosphate starvation signaling: a threesome controls systemic Pi homeostasis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, p. 536-540, 2008.
- DU, Y; TIAN, J.; LIAO, H.; BAI, C.; YAN, X.; LIU, G. Aluminium tolerance and high phosphorus efficiency helps *Stylosanthes* better adapt to low-P acid soil. **Annals of Botany**, v. 103, p. 1239-1247, 2009.
- FALLAHI, E.; CHUN, I.; NEILSEN, G.H. Effects of three rootstocks on photosynthesis, leaf mineral nutrition, and vegetative growth of 'BC-2 Fuji' apple trees. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, p. 827-834, 2001.
- FORDE, B.G. The role of long-distance signaling in plant response to nitrate and other nutrients. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 39-43, 2002.
- FORSTER, H.; ADASKAVEG, J.E.; KIM, D.H.; STANGHELLINI, M.E. Effect of Phosphite on Tomato and Pepper Plants and on Susceptibility of Pepper to *Phytophthora* Root and Crown Rot in Hydroponic Culture. **Plant Disease**, v. 82, p. 1165-1170, 1998.
- GEORGIOU, A. Performance of 'Nova' mandarin on eleven rootstocks in Cyprus. **Scientia Horticulturae**, v. 84, p. 115-126, 2000.
- GILROY, S.; JONES, D.L. Through form to function: root hair development and nutrient uptake. **Trends in Plant Science**, v. 5, p. 1360-1385, 2000.
- GONÇALVES, B.; MOUTINHO-PEREIRA, J.; SANTOS, A.; SILVA, A.P.; BACELAR, E.; CORREIA, C.; ROSA, E. Scion-rootstock interaction affects the physiology and fruit quality of sweet cherry. **Tree Physiology**, v. 26, p. 93-104, 2005.
- GRAHAM, J.H.; EISSENSTAT, D.M. Host genotype and formation and function of VA mycorrhizae. **Plant and Soil**, v. 159, p. 179-185, 1994.
- HAINES, R.J.; SIMPSON, J.A. Scion-rootstock relationships with respect to height growth and foliar concentrations of nitrogen and phosphorus in reciprocal grafts of *Pinus caribea* var. *hondurensis*. **New Forests**, v. 8, p. 71-79, 1994.
- HAMMOND, J.P.; BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J. Genetic responses to phosphorus deficiency. **Annals of Botany**, v. 94, p. 323-332, 2004.

- HAMMOND, J.P.; WHITE, P.J. Sucrose transport in the phloem: integrating root responses to phosphorus starvation. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, p. 93-109, 2008.
- HERMANS, C.; HAMMOND, J.P.; WHITE, P.J.; VERBRUGGEN, N. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 610-616, 2006.
- JENSEN, P.J.; RYTTER, J.; DETWILER, E.A.; TRAVIS, J.W.; McNELLIS, T.W. Rootstock effects on gene expression patterns in apple tree scions. **Plant Molecular Biology**, v. 493, p. 493-511, 2003.
- JOHNSON, L.R. Plant respiration in relation to growth, maintenance, ion uptake and nitrogen assimilation. **Plant, Cell and Environment**, v. 13, p. 319-328, 1990.
- KARTHIKEYAN, A.S.; VARADARAJAN, D.K.; MUKATIRA, U.T.; D'URZO, M.P.; DAMSZ, B.; RAGHOTHAMA, K.G. Regulated expression of *Arabidopsis* phosphate transporters. **Plant Physiology**, v. 130, p. 221-233, 2002.
- LAMBERS, H.; SHANE, M.W.; CRAMER, M.D.; PEARSE, S.J.; VENEKLAAS, E.J. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. **Annals of Botany**, v. 98, p. 693-713, 2006.
- LIN, S.L.; CHIANG, S.; LIN, W.; CHEN, J.W.; TSENG, C. Regulatory network of microRNA399 and PHO2 by systemic signaling. **Plant Physiology**, v. 147, p. 732-746, 2008.
- MacDONALD, A.E.; GRANT, B.R.; PLAXTON, W.C. Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, p. 1505-1519, 2001.
- MacINTIRE, W.H.; WINTERBERG, S.H.; HARDIN, L.J.; STERGES, A.J.; CLEMENTS, L.B. Fertilizer evaluation of certain phosphorus, phosphorous and phosphoric materials by means of pot cultures. **Agronomy Journal**, v. 42, p. 543-549, 1950.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.
- MIMURA, T. Physiological control of phosphate uptake and phosphate homeostasis in plant cells. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 28, p. 653-658, 2001.
- MORCUENDE, R.; BARI, R.; GIBON, Y.; ZHENG, W.; PANT, B.D.; BLASING, O.; USADEL, B.; CZECHOWSKI, T.; UDVARDI, M.K.; STITT, M.; SCHEIBLE, W. Genome-wide reprogramming of metabolism and regulatory networks of *Arabidopsis* in response to phosphorus. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 85-112, 2007.

- MUCHHAL, U.S.; RAGHOTHAMA, K.G. Transcriptional regulation of plant phosphate transporters. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, p. 5868-5872, 1999.
- NEUMANN, G.; RÖMHELD, V. Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. **Plant and Soil**, v. 211, p. 121-130, 1999.
- PANIGRAHY, M.; RAO, D.N.; SARLA, N. Molecular mechanisms in response to phosphate starvation in rice. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 389-397, 2009.
- PEUKE, A.A. Correlation in concentration, xylem and phloem flows, and partitioning of elements and ions in intact plants. A summary and statistical re-evaluation of modeling experiments in *Ricinus communis*. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, p. 635-655, 2010.
- PRADO, R.M.; ROZANE, D.E.; CAMAROTTI, G.S.; CORREIA, M.A.R.; NATALE, W.; BARBOSA, J.C.; BEUTLER, A.N. Nitrogênio, fósforo e potássio na nutrição e na produção de mudas de laranja 'Valência', enxertada sobre citrumelo 'Swingle'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 812-817, 2008.
- QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van. Phosphorus and potassium soil test and nitrogen leaf analysis as a base for citrus fertilization. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 52, p. 67-74, 1998.
- QUAGGIO, J.A.; MATTOS Jr., D.; CATARELLA, H. Manejo da fertilidade do solo na citricultura. In: MATTOS Jr., D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU Jr., J. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag, 2005. cap. 17, p. 485-504.
- RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate acquisition. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 50, p. 665-693, 1999.
- RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate transport and signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 3, p. 182-187, 2000.
- RAUSCH, C.; BUCHER, M. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. **Planta**, v. 216, p. 23-37, 2002.
- RICHARD, D.A. Review of phosphorus acid and its salts as fertilizer material. **Journal of Plant Nutrition**, v. 23, p. 161-180, 2000.
- RIVERO, R.M.; RUIZ, J.M.; ROMERO, L. Role of grafting in horticultural plants under stress conditions. **Food, Agriculture & Environment**, v. 1, p. 70-74, 2003.
- SCHACHTMAN, D.P.; REID, R.L.; AYLING, S.M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant Physiology**, v. 119, p. 447-453, 1998.

- SENA, J.O.A.; LABATE, C.A.; CARDOSO, E.J.B.N. Caracterização fisiológica da redução de crescimento de mudas de citros micorrizadas em altas doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 827-832, 2004.
- SINGH, V.K.; WOOD, M.W.; KNOWLES, V.L.; PLAXTON, W.C. Phosphite accelerates programmed cell death in phosphate-starved Oilseed rape (*Brassica napus*) suspension cell cultures. **Planta**, v. 218, p. 233–239, 2003.
- SMITH, F.W.; RAE, A.L.; HAWKESFORD, M.J. Molecular mechanisms of phosphate and sulphate transport in plants. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1465, p. 236-245, 2000.
- SOBRAL, L.F.; SOUZA, L.F.S.; MAGALHÃES, A.F.J.; SILVA, J.U.B.; LEAL, M.L.S. Respostas da laranjeira-pêra à adubação com nitrogênio, fósforo e potássio em um latossolo amarelo dos tabuleiros costeiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 307-312, 2000.
- SURKARNO, N.; SMITH, F.A.; SCOTT, E.S.; JONES, G.P.; SMITH, S.E. The effect of fungicides on vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis III. The influence of VA mycorrhiza on phytotoxic effects following application of fosetyl-Al and phosphonate. **New Phytologist**, v. 139, p. 321-330, 1998.
- TOPLU, C.; KAPLANKIRAN, M.; DEMIRKESER, T.H.; YILDIZ, E. The effects of citrus rootstocks on Valencia Late and Rhode Red Valencia oranges for some plant nutrient elements. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 444-4445, 2008.
- ULLRICH-EBERIUS, C.I.; NOVACKY, A.; FISCHER, E.; LUTTGE, U. Relationship between energy-depend phosphate uptake and electrical membrane potential in *Lemna gibba* G1. **Plant Physiology**, v. 67, p. 797-801, 1981.
- VANCE, C.P.; UHDE-STONE, C.; ALLAN, D.L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing and nonrenewable resource. **New Phytologist**, v. 157, p. 423-447, 2003.
- VARADARAJAN, D.K.; KARTHIKEYAN, A.S.; MATILDA, P.D.; RAGHOTAMA, K.G. Phosphite, an analog of phosphate, suppresses the coordinated expression of genes under phosphate starvation. **Plant Physiology**, v. 129, p. 1232-1240, 2002.
- WHITE, A.K.; METCALF, W.W. Microbial metabolism of reduced phosphorus compounds. **Annual Reviews of Microbiology**, v. 67, p. 379-400, 2007.
- YANG, X.J.; FINNEGAN, P.M. Regulation of phosphate starvation responses in higher plants. **Annals of Botany**, v. 105, p. 1-14, 2010.

4. CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO FOSFATADA DE PORTA-ENXERTOS CÍTRICOS CULTIVADOS EM SOLUÇÃO NUTRITIVA

Resumo

Foi realizado em condições de casa-de-vegetação um experimento para avaliar o efeito de concentrações de fósforo (0,0125; 0,05; 0,2 e 0,8 mmol L⁻¹) na solução nutritiva sobre o crescimento e a nutrição de porta-enxertos (PE) (limão ‘Cravo’, citrumelo ‘Swingle’ e tangerinas ‘Cleópatra’ e ‘Sunki’). Após 100 dias de cultivo, os PE foram coletados, e separados em folhas, ramos e sistema radicular. Antes do término do experimento, amostras de folhas e raízes foram retiradas para quantificação da atividade da fosfatase ácida. Nas folhas, além do teor total (Pt), a separação de P em suas diferentes frações (P inorgânico, P-éster, P-ácido nucléico) foi realizada. O suprimento de P à solução nutritiva incrementou o número de folhas, área foliar e o acúmulo de MS do sistema radicular e total das plantas. O teor de Pt e de suas respectivas frações nas folhas tiveram os teores elevados mediante aplicação do nutriente, com os teores máximos correspondentes à: 1,25-1,32; 0,29-0,50; 0,68-0,83 e 2,5-3,2 g kg⁻¹, para Pi, P-éster, P-ácido nucléico e Pt, respectivamente. Diferenças para a eficiência de absorção e de utilização de P foram observadas, sendo o limão ‘Cravo’, o material mais eficiente. A atividade da fosfatase ácida nas folhas e na raiz apresentou correlação negativa com os respectivos teores de P e confirmou a deficiência pelo nutriente. O Pt nas folhas associado ao máximo crescimento dos PE, correspondeu à: 2,0; 2,4; 3,5 e 2,3 g kg⁻¹, para tangerina ‘Cleópatra’, limão ‘Cravo’, tangerina ‘Sunki’ e citrumelo ‘Swingle’, respectivamente.

Palavras-chave: frações de P; eficiência de utilização; eficiência absorção; fosfatase ácida.

GROWTH AND PHOSPHORUS NUTRITION OF CITRUS ROOTSTOCKS GROWN IN NUTRIENT SOLUTION

Abstract

An experiment was set up under greenhouse conditions to study the effects of phosphorus (P) supply in the nutrient solution (0.0125; 0.05; 0.2 e 0.8 mmol L⁻¹) on growth and P nutrition of citrus rootstocks varieties (CRV, 'Cleopatra' mandarin, 'Rangpur' lime, 'Sunki' mandarin and 'Swingle' citrumelo). After 100 days of P treatments, the plants were harvested and further separated into leaves, stem and root system. Before harvesting the experiment, samples of leaves and roots were collected to determine acid phosphatase activity. P fractioning was performed in the leaves (inorganic, ester, acid nucleic and total P). The phosphorus supply in the nutrient solution improved leaf number, leaf area, total plant and root dry weight of the CRV, as well as concentration of total P and its fractions in the leaves. The range of P fractions concentrations obtained for CRV corresponded to: 1.25-1.32; 0.29-0.50; 0.68-0.83 e 2.5-3.2 g kg⁻¹, for Pi, P-ester, P-acid nucleic and P-total, respectively. 'Rangpur' lime was the most efficient rootstock for phosphorus uptake and utilization. The acid phosphatase activity was negatively correlated with P concentration in the leaves and root and confirmed P-deficient CRV. P-total related to maximum CRV growth was 2.0; 2.4; 3.5 and 2.3 g kg⁻¹ for 'Cleopatra' mandarin, 'Rangpur' lime, 'Sunki' mandarin and 'Swingle' citrumelo, respectively.

Key-words: P-fractions; utilization efficiency; uptake efficiency; acid phosphatase.

4.1. Introdução

As pesquisas envolvendo aspectos da nutrição mineral de porta-enxertos (PE) cítricos se expandiram e contribuíram para avanços nas recomendações de manejo. Como alguns exemplos, podem ser mencionados as investigações de tolerância dos PE à salinidade (Ruiz et al., 1999), à deficiência por ferro (Pestana et al., 2005), e à toxicidade por alumínio (Pereira et al., 2003), ou ainda, avaliações de respostas ao suprimento de cobre na solução nutritiva (Alva & Chen, 1995), boro (Mattos Jr. et al., 2008) e nitrogênio no substrato (Esposti & Siqueira, 2004; Scivittaro et al., 2004; Sorgona et al., 2006). Por outro lado, trabalhos envolvendo a relação entre disponibilidade de P no meio de crescimento com aspectos da nutrição e do metabolismo do nutriente são praticamente inexistentes. Desta maneira, não é possível até o momento, proceder a classificação de tolerância ao estresse por P na região da rizosfera entre os PE empregados na citricultura.

Avanços no entendimento da nutrição fosfatada de várias espécies de plantas foram alcançados por meio da identificação e quantificação das frações que o P é encontrado no tecido vegetal (Hogue et al., 1970; Chapin et al., 1982; Hart & Jessop, 1983; López-Cantarero et al., 1998; Close & Beadle, 2004; Santos et al., 2008). A caracterização destas frações permitiu melhor conhecimento da dinâmica de P, como por exemplo, a proporção ocupada pelo nutriente em formas orgânicas, que está relacionada à uma função estrutural (P-ácido nucléico; fosfolipídeo), ou mais diretamente ao metabolismo energético (P-éster) (Bielecki, 1973). Além disso, foi possível identificar separadamente a porção do P total representada pelo P inorgânico (Pi). O nutriente na forma inorgânica desempenha a função de regulador do metabolismo no citoplasma e de reserva no vacúolo, onde é armazenado quando o requerimento para o crescimento é satisfeito, tendo a função de manter a concentração constante no citoplasma (homeostase) (Panigrahy & Sarla, 2009).

Apesar dos distintos papéis desempenhados por cada fração de P, até o momento não é conhecido para os PE cítricos, a variação dos teores das mesmas em função da disponibilidade do nutriente, bem como possíveis diferenças entre os materiais genéticos. Além do fracionamento de P, a determinação da atividade da fosfatase ácida nas folhas e/ou raízes, por terem sua atividade aumentada em condições de deficiência (Lim et al., 2003), tem sido uma ferramenta interessante para estudos das respostas dos vegetais à disponibilidade de P. Contudo, ainda não foi determinada a relação entre a atividade da enzima com o estado nutricional e a eficiência de uso de P pelos PE.

A eficiência de uso de nutrientes tem sido amplamente empregada para avaliar a capacidade das plantas em adquirir e utilizar nutrientes para produção de biomassa (Gourley et al., 1993), além da

habilidade em tolerar o estresse nutricional (Baligar et al., 2001). Esses autores complementaram que incremento na eficiência de uso poderia reduzir os custos com fertilizantes, as perdas de nutrientes e elevar a produtividade. Deste modo, seria importante para a cultura dos citros, em que vários materiais genéticos são utilizados como PE, e portanto, os responsáveis pela absorção e transferência de nutrientes para a PA, que fossem identificados aqueles com maior e menor potencial para tolerar estresses nutricionais na região da rizosfera. Neste contexto, o estudo da eficiência de absorção de P do sistema radicular (EAP, unidade de P absorvido por unidade de MS de raiz) forneceria indicativos da capacidade de suprimento de P às plantas. Respostas diferenciais de árvores enxertadas sobre distintos PE à fertilização com P foram constatadas em condições de campo (Mattos Jr. et al., 2006). Tais diferenças, ao menos em parte, devem estar relacionadas à variações na EAP.

O desenvolvimento desta pesquisa foi baseado na hipótese que os PE comumente empregados na citricultura respondem diferentemente à variação da disponibilidade de P. Desta maneira, o trabalho foi conduzido com o objetivo de quantificar as respostas de crescimento e da nutrição por P de PE submetidos a concentrações do nutriente na solução nutritiva.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Condições de crescimento

O experimento foi realizado em condições de casa-de-vegetação, no período de setembro à dezembro de 2008. O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso, num esquema de parcela subdividida. As parcelas principais foram constituídas por concentrações de P na solução nutritiva (0,0125; 0,05; 0,2 e 0,8 mmol L⁻¹), enquanto as subparcelas foram formadas pelos PE cítricos: tangerina ‘Cleópatra’ (*Citrus reshni* hort. ex Tanaka), limão ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osbeck), tangerina ‘Sunki’ [*Citrus sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka] e citrumelo ‘Swingle’ [*Citrus paradisi* Macfad. cv. Duncan x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]. Foram utilizadas quatro repetições, totalizando 16 unidades experimentais. A escolha dos PE foi baseada na importância e representatividade para a citricultura paulista. Segundo Pompeu Jr. (2005), estes PE respondem por 98% das mudas cítricas produzidas no Estado de São Paulo, com destaque para o limão ‘Cravo’ e a tangerina ‘Cleópatra’, que juntos representam 72%. Além disso, resultados prévios da influência de cada material genético sobre a nutrição mineral da PA e respostas à fertilização com P, foram preponderantes para a seleção.

Os PE foram adquiridos em viveiro comercial. Foram selecionadas plântulas com idade semelhante de semeadura e estágio de desenvolvimento (2-3 pares de folhas). Elas foram acomodadas no

interior de casa-de-vegetação, onde durante 10 dias, receberam irrigações em dias alternados com solução proposta por Sarruge (1975) e Furlani et al. (1999), diluída à $\frac{1}{4}$ da força iônica e desprovida de P.

O transplântio dos PE para a solução nutritiva ocorreu no dia 1 de setembro de 2008, colocando-se 10 plântulas de cada material genético, os quais foram acomodados com auxílio de espumas em orifícios feitos em placas de acrílico colocadas sobre recipientes plásticos (caixas plásticas de coloração escura), os quais continham 13,5 L de solução nutritiva. Para melhor aclimação das plantas ao novo ambiente de crescimento, os primeiros cinco dias de cultivo foram realizados em solução diluída a $\frac{1}{4}$ modificada daquela proposta por Sarruge (1975) e Furlani et al. (1999). Após este período, a solução nutritiva foi renovada por outra com concentração duas vezes maior, seguindo o cultivo por mais cinco dias. No dia 10 de setembro, foram iniciados os tratamentos com as doses de P. As plantas foram mantidas em solução nutritiva básica, com os nutrientes presentes nas seguintes concentrações: 9,6 N (11% como NH_4^+), 3,6 K, 4,0 Ca, 1,2 Mg e $1,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de S; 28 B, 54,0 Fe, 5,5 Mn, 2,1 Zn, 1,1 Cu e $0,01 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de Mo, tendo sido utilizadas como fontes: nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), nitrato de amônio (NH_4NO_3), nitrato de potássio (KNO_3), cloreto de potássio (KCl), sulfato de potássio (K_2SO_4), fosfato de potássio (KH_2PO_4), sulfato de magnésio (MgSO_4), ácido bórico (H_3BO_3), sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), ferro-EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8\text{FeNa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), sulfato de manganês ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), molibdato de sódio ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sulfato de zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). A solução nutritiva foi renovada em intervalos de cinco a sete dias, mantendo-se os volumes dos recipientes constantes com adições diárias de água deionizada. Aos 45 dias do transplântio para os recipientes, objetivando maior espaçamento entre as plantas, além de melhor uniformidade, realizou-se a remoção de quatro plantas de cada PE por caixa, cultivando-se seis plantas até o final do experimento. O fornecimento contínuo de oxigênio às soluções foi feito por meio de compressor de ar.

4.2.2. Avaliações do crescimento

Após o período de 100 dias de cultivo em solução nutritiva com níveis variados de P, as plantas foram coletadas e separadas em sistema radicular, ramos e folhas. Estas partes foram lavadas em água corrente e deionizada, e colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 h. No momento da coleta, procedeu-se a contagem do número de folhas (NF, folhas planta⁻¹) e a retirada de discos foliares (16-20 discos por seis plantas), com o auxílio de furadores de rolhas, para estimativa da área foliar (AF, cm^2 planta⁻¹). Após os discos terem sido removidos, foram colocados para secar

juntamente com todo o material vegetal coletado. Os discos foram pesados e procedeu-se a estimativa da área foliar por meio de relação direta com a massa seca (MS) total de folhas.

Após secagem, as diferentes partes foram pesadas em balança analítica para a determinação da produção da MS total (MST, g planta⁻¹) e do sistema radicular (MSR, g planta⁻¹) de cada PE. Em seguida, as amostras foram moídas e acondicionadas em vidros hermeticamente fechados até a realização das análises.

4.2.3. Eficiência nutricional

A partir dos valores de MST e do conteúdo total de P nas plantas (mg planta⁻¹), foram calculados os seguintes índices: (a) eficiência de utilização de fósforo (EUP, g² mg) = (MST, g)²/(conteúdo total do nutriente na planta, mg) (Siddiqi & Glass, 1981); (b) eficiência de absorção de fósforo (EAP, mg g⁻¹) = (conteúdo total do nutriente na planta, mg)/(MS do sistema radicular, g) (Swiader et al., 1994).

4.2.4. Fracionamento de fósforo no tecido vegetal

A determinação dos teores P total (Pt) nas folhas, ramos e sistema radicular foi realizada segundo os métodos descritos por Bataglia et al. (1983). Uma quantidade de 0,500 g de tecido vegetal moído foi pesada em tubos de digestão, seguindo-se a adição de ácidos concentrados: 2 ml de ácido nítrico + 2 ml de ácido perclórico. Os tubos foram acomodados em blocos digestores, os quais tiveram a temperatura gradualmente elevada até 200 °C, permitindo que os ácidos evaporassem e a digestão do material vegetal fosse completada. Os tubos tiveram o volume completado para 50 mL utilizando água ultra pura, e o conteúdo transferido para frascos de vidro. A quantificação da concentração de P no extrato foi baseada na formação do complexo fósforo-molibdato, utilizando-se o ácido ascórbico como agente redutor na reação (Malavolta et al., 1997). A intensidade de cor formada foi determinada a um comprimento de onda de 660 nm com auxílio de um Spectrofotômetro Hitachi U-2000. A concentração de Pt no tecido vegetal foi calculada com auxílio de uma curva padrão previamente estabelecida, e expressa em g kg⁻¹.

O método de fracionamento de P nas folhas dos PE cítricos foi aquele proposto por Close & Beadle (2004), com base nas modificações realizadas por Polglase et al. (1992). O equivalente a 0,160 g de amostras de tecido foliar seco foi pesado e colocado em tubos plásticos de centrífugas de 50 mL, onde foram adicionados 20 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,3 mol L⁻¹ a 4 °C. Os tubos foram acomodados em suportes e colocados no interior de uma câmara incubadora (do tipo *BOD*) com a temperatura ajustada a 4 °C, onde permaneceram durante 1 h, com agitação manual a cada 10 min.

Após este período, foi feita a centrifugação das amostras por 15 min a 6000 rpm, em temperatura ambiente. O sobrenadante foi removido por sucção, colocados em frascos plásticos e armazenados à 4 °C, obtendo-se o primeiro extrato (Extrato A). O precipitado foi suspenso novamente em TCA 0,3 mol L⁻¹ a 90 °C, e deixado em banho termostático durante 1 h a 90 °C, com agitações manuais a cada 10 min. Na sequência, foi realizada a centrifugação (15 min a 6000 rpm), obtendo-se o segundo extrato (Extrato B). Uma sub-amostra (10-12 mL) de cada sobrenadante das extrações a frio e a quente com TCA (Extratos A e B) foi evaporada por secagem a 100 °C, seguindo-se a digestão total com mistura de ácido nítrico e ácido perclórico concentrados. Os extratos obtidos foram diluídos com água deionizada para volume final de 25 ou 50 mL, transferidos para frascos plásticos e armazenados em geladeira até a determinação da concentração de P.

Por este método de fracionamento, foram obtidas as seguintes frações de P: inorgânico, ésteres de fosfato e ácido nucléico. O P inorgânico (Pi) foi obtido à partir da leitura direta do Extrato A. A partir dos valores de P da digestão total deste mesmo extrato, foi subtraído os valores de Pi, obtendo-se o P-éster. O P-ácido nucléico foi determinado após a digestão total do Extrato B. A concentração de P em cada uma das frações foi determinada pelo método colorimétrico do molibdato (Malavolta et al., 1997).

4.2.5. Quantificação da atividade da fosfatase ácida (AFA) nas folhas e nas raízes

A determinação da atividade da fosfatase ácida *in vivo* foi realizada segundo os procedimentos descritos por Besford (1980) e Elliott & Lauchli (1986). Em amostras frescas do limbo foliar, evitando-se a nervura central, foram retirados seis discos foliares de aproximadamente 5 mm de diâmetro, os quais foram colocados para incubar em tubos de ensaio contendo 1 mL de acetato de sódio 50 mmol L⁻¹ a pH 5,0 e 1 mL de 11,0 mmol L⁻¹ de paranitrofenilfosfato. Em seguida, os tubos permaneceram durante 15 min em banho termostático a 30 °C. Após este período, alíquotas de 1 mL foram coletadas e transferidas para tubos de ensaio já contendo 2 mL de NaOH a 1 mol L⁻¹, de modo que a reação fosse paralisada. Antes da leitura em espectrofotômetro, foram adicionados 3,5 mL de água deionizada em cada tubo. As leituras foram imediatamente realizadas em espectrofotômetro a 410 nm, confrontando-se com uma curva padrão de paranitrofenol. Os resultados foram expressos em µmol de paranitrofenol por g de material vegetal fresco por min, correspondendo à atividade extracelular da enzima (Fernandez & Ascencio, 1994).

Para análise da atividade extracelular da enzima nas raízes, fragmentos retirados a partir da região apical das raízes secundárias (Speir & Cowling, 1991; Fernandez & Ascencio, 1994), dos PE

crescidos em 0,0125 e 0,8 mmol L⁻¹ de P foram incubados em tubos de ensaio contendo 1 mL de acetato de sódio 50 mmol L⁻¹ a pH 5,0 e 1 mL de 11,0 mmol L⁻¹ de paranitrofenilfosfato. Seguiu-se o mesmo procedimento adotado para quantificação da atividade da enzima nas folhas, bem como a expressão dos resultados.

4.2.6. Análise dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância, considerando-se o esquema de parcelas subdivididas. No caso de interação significativa entre as doses de P na solução nutritiva e os PE, os efeitos das doses foram avaliados para cada PE por meio da análise de regressão (ajuste linear ou quadrático), e os PE, por sua vez, foram comparados entre si dentro de cada dose de P pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. A partir dos ajustes do modelo quadrático, igualando-se a primeira derivada à zero, foi determinado o valor da variável quantitativa (x, concentração de P na solução nutritiva) que corresponderia ao máximo valor da variável resposta (y). Análises de correlações simples foram realizadas para variáveis previamente selecionadas.

4.3. Resultados

4.3.1. Crescimento dos porta-enxertos cítricos

Em todas as variáveis de crescimento foi observada interação entre PE e concentração de P na solução nutritiva (Figuras 1 a 4 e Tabela 1). A magnitude dos incrementos e os ajustes das respostas variaram entre os materiais estudados, refletindo resposta diferenciada dos PE em relação à disponibilidade do nutriente.

O NF e a AF foram responsivos ao suprimento de P na solução nutritiva (Figuras 1 e 2). Por exemplo, o NF do limão ‘Cravo’ e do citrumelo ‘Swingle’, a AF da tangerina ‘Cleópatra’ e do limão ‘Cravo’ apresentaram máximo crescimento com as concentrações de P correspondentes à 0,52-0,54 mmol L⁻¹.

A MST dos PE mostrou efeito positivo ao fornecimento de P (Figura 3). A concentração mais adequada do nutriente na solução nutritiva para o máximo acúmulo de MS pelas plantas correspondeu à: 0,52-0,58 mmol L⁻¹ de P. Os resultados indicaram requerimento semelhante entre os PE, embora a tangerina ‘Sunki’ tenha sido mais exigente do que os demais. Conforme observado para MST, a MSR foi incrementada com a adição de P na solução nutritiva (Figura 4).

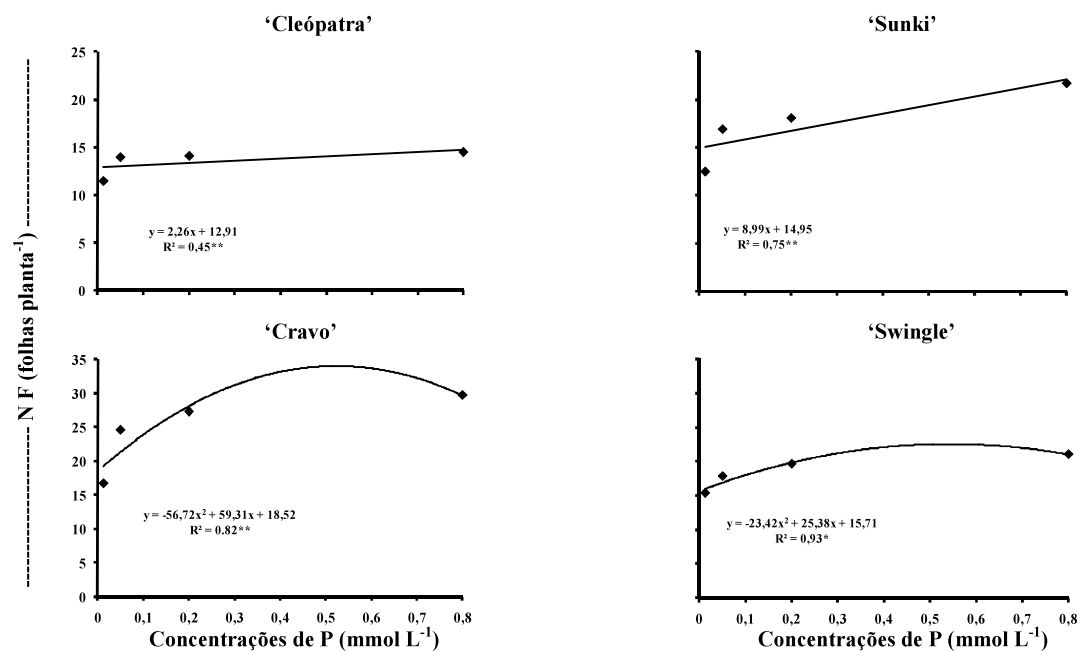


Figura 1. Efeito da concentração de fósforo sobre o número de folhas (NF) de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

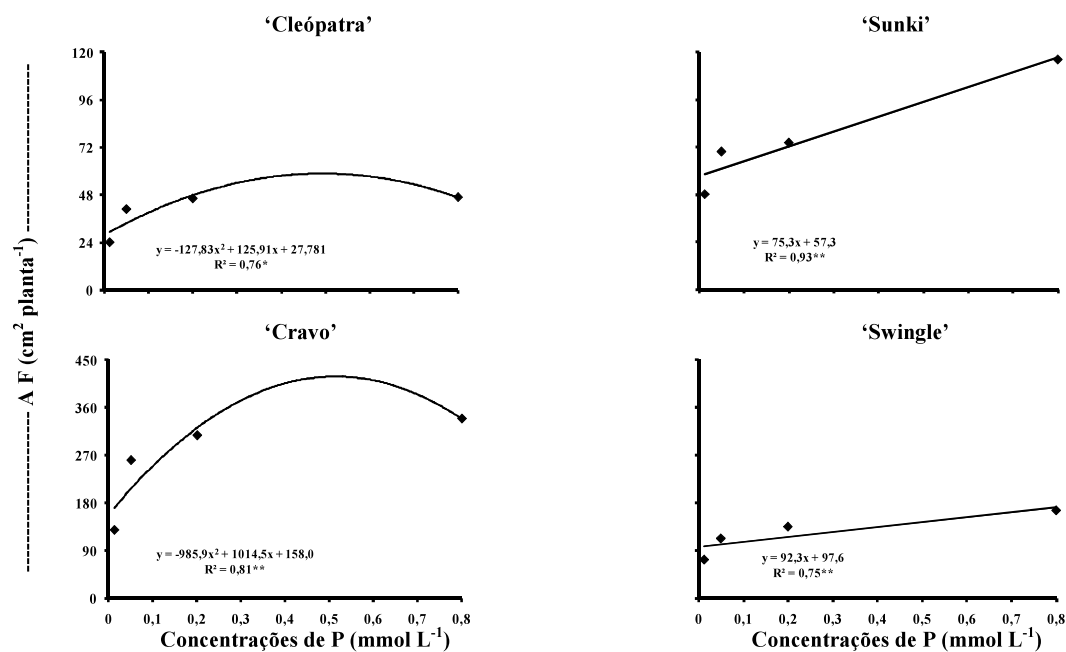


Figura 2. Efeito da concentração de fósforo sobre a área foliar (AF) de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Confirmando a variação de vigor entre os materiais genéticos, diferenças no NF, AF, MST e MSR foram observadas em todas as doses de P (Tabela 1). O limão ‘Cravo’ apresentou o maior crescimento durante o período experimental, seguido pelo citrumelo ‘Swingle’, e por fim as tangerinas, com menores valores determinados para a ‘Cleópatra’.

A relação raiz/parte aérea não foi afetada pelos PE, indicando controle semelhante sobre a partição interna de carbono nas plantas. Por outro lado, o aumento da concentração de P na solução nutritiva reduziu no acúmulo relativo de biomassa nas raízes em relação à PA, principalmente entre a primeira e as demais doses (Figura 5).

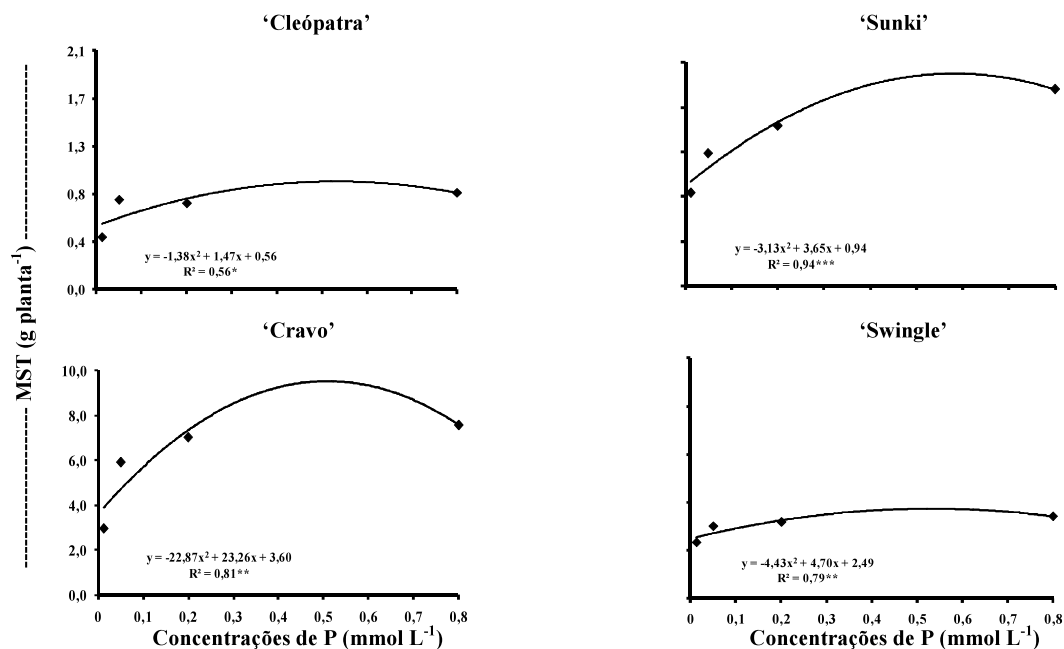


Figura 3. Efeito da concentração de fósforo sobre a massa seca total (MST) de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

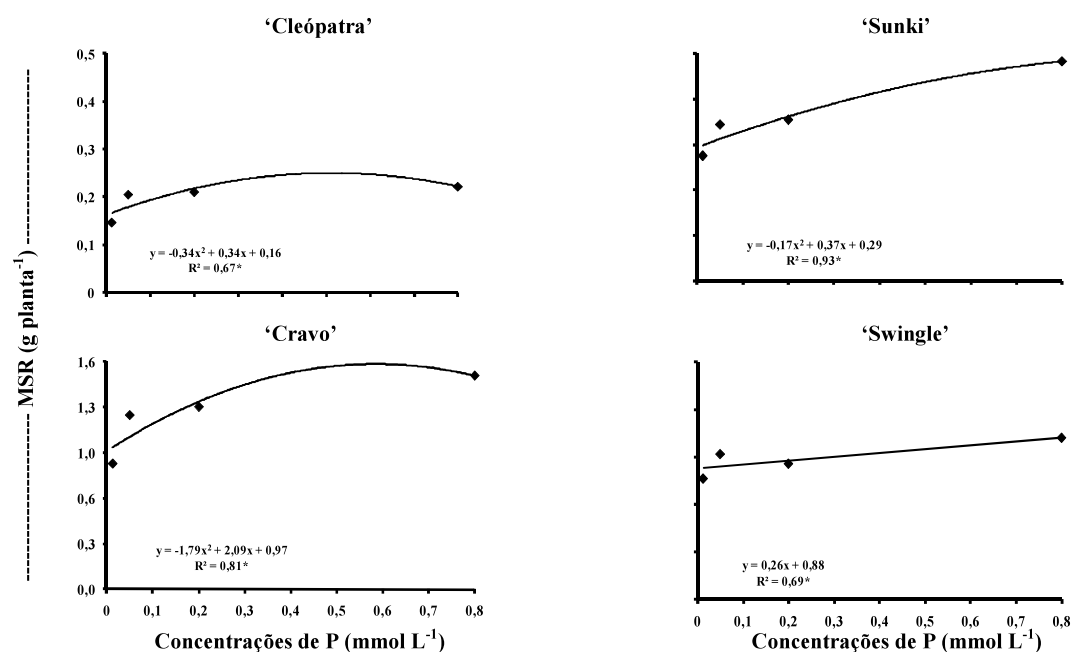


Figura 4. Efeito da concentração de fósforo sobre a massa seca do sistema radicular (MSR) de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. * $P < 0,05$.

Tabela 1. Variação no número de folhas (NF), área foliar (AF), massa seca total (MST) e do sistema radicular (MSR) entre porta-enxertos cítricos, quando submetidos à variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva.

Porta-enxerto	Concentrações de P (mmol L ⁻¹)			
	0,0125	0,05	0,2	0,8
NF (folhas planta⁻¹)				
'Cleópatra'	11,5 b	14,0 c	13,2 c	14,5 c
'Cravo'	16,8 a	24,6 a	27,3 a	29,7 a
'Sunki'	12,5 b	17,0 b	18,1 b	21,8 b
'Swingle'	15,3 a	17,8 b	19,6 b	21,1 b
AF (cm² planta⁻¹)				
'Cleópatra'	26,5 d	46,5 d	37,5 c	47,0 c
'Cravo'	128,9 a	261,1 a	307,8 a	339,3 a
'Sunki'	48,3 c	77,8 c	74,4 c	116,7 c
'Swingle'	73,6 c	113,3 b	135,4 b	153,5 b
MST (g planta⁻¹)				
'Cleópatra'	0,46 d	0,79 c	0,76 d	0,85 c
'Cravo'	2,96 a	5,93 a	7,03 a	7,59 a
'Sunki'	0,88 c	1,25 c	1,51 c	1,85 c
'Swingle'	2,33 b	3,00 b	3,18 b	3,42 b
MSR (g planta⁻¹)				
'Cleópatra'	0,15 b	0,21 b	0,21 d	0,22 d
'Cravo'	0,88 a	1,22 a	1,28 a	1,50 a
'Sunki'	0,28 b	0,34 b	0,35 c	0,48 c
'Swingle'	0,82 a	0,98 a	0,92 b	1,09 b

As médias acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem pelo teste de Duncan a 5%.

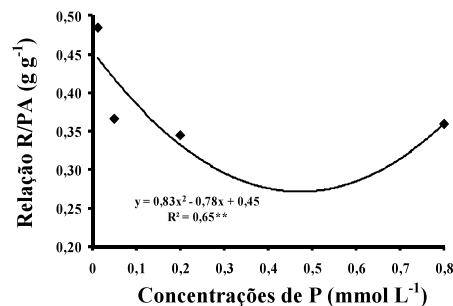


Figura 5. Efeito da concentração de fósforo sobre a relação raiz/parte aérea (R/PA) de quatro porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva $**P < 0,01$.

4.3.2. Estado nutricional por fósforo dos porta-enxertos cítricos

Foi observada interação entre PE e concentração de P na solução nutritiva para o teor de Pt e de suas respectivas frações (Pi, P-éster e P-ácido nucléico), indicando resposta variável à disponibilidade do nutriente (Figuras 6 a 9).

Ocorreu pouca variação entre os PE quanto à concentração de P requerida para obtenção do máximo teor foliar de Pt (valores entre 0,53-0,59 mmol L⁻¹ de P), com maior demanda para o citrumelo ‘Swingle’. As referidas concentrações geraram teores de Pt, que variaram entre 2,5 e 3,2 g kg⁻¹, com teor mais elevado para a tangerina ‘Sunki’. A diferença entre o Pt nas folhas das plantas crescidas na menor concentração de P com aquele estimado pelo modelo quadrático (Figura 6), correspondeu a 150% para o citrumelo ‘Swingle’ a 284% para a tangerina ‘Sunki’.

As concentrações de P necessárias para a obtenção dos teores máximos das demais frações do nutriente nas folhas dos PE estiveram entre 0,50-0,60 mmol L⁻¹. A partir destes valores, as seguintes faixas de concentração foram estabelecidas: 1,25-1,32; 0,29-0,50 e 0,68-0,83 g kg⁻¹, para Pi, P-éster e P-ácido nucléico, respectivamente. A diferença entre o menor teor e o máximo estimada para cada fração foi variável entre os PE. No caso do P-éster, os valores variaram de 262,5% para limão ‘Cravo’ a 733,3% para tangerina ‘Sunki’. Já para o P-ácido nucléico, a diferença mais expressiva foi observada para a tangerina ‘Cleópatra’, que foi equivalente a 300%. O Pi apresentou incrementos de 198% para o limão ‘Cravo’ e de 333% para a tangerina ‘Sunki’.

Na menor concentração de P (0,0125 mmol L⁻¹) não foi detectada diferença entre os PE para Pi e P-éster, obtendo-se teores médios de 0,42 e 0,07 g kg⁻¹, respectivamente (Tabela 2). Enquanto que o citrumelo ‘Swingle’ apresentou maior concentração de Pt e P-ácido nucléico. Considerando que o teor de Pi do ‘Swingle’ foi semelhante aos demais PE, a diferença encontrada para o Pt foi resultante da maior incorporação de P na forma orgânica. Na concentração de P equivalente à 0,8 mmol L⁻¹, a

tangerina ‘Sunki’ teve maiores teores de Pt, Pi e P-éster, sem contudo, ocorrer o mesmo para o P-ácido nucléico. Este PE apresentou menor incorporação do P contido nas folhas, mantendo maiores teores de Pi, sobretudo nas concentrações de 0,2 e 0,8 mmol L⁻¹ de P.

O Pi representou a maior proporção do Pt foliar, com valores variando de 42% a 60%, enquanto que o P-ácido nucléico ocupou 20% a 35%. O citrumelo ‘Swingle’ mostrou menor proporção de Pi e maior de P-ácido nucléico. A porcentagem de P-éster entre os PE foi homogênea, com maiores valores percentuais na concentração mais alta de P na solução nutritiva, mostrando média de 15% , contra 8% na menor concentração.

O Pt foi positivamente relacionado com o crescimento dos PE, sendo possível estimar o teor de Pt associado ao maior acúmulo de MS (Figura 10). Estes teores corresponderam a 2,0; 2,4; 3,5 e 2,3 g kg⁻¹, para tangerina ‘Cleópatra’, limão ‘Cravo’, tangerina ‘Sunki’ e citrumelo ‘Swingle’, respectivamente, indicando variação na exigência pelo nutriente. Correlações positivas também foram estabelecidas entre a MST dos PE e os teores foliares das demais frações de P: MST x Pi (‘Cleópatra’ r = 0,50; P = 0,04; n = 16; ‘Cravo’ r = 0,78; P = 0,0004; n = 16; ‘Sunki’ r = 0,76; P = 0,0007; n = 16; Swingle’ r = 0,63; P = 0,008; n = 16), MST x P-éster (‘Cleópatra’ r = 0,59; P = 0,01; n = 16; ‘Cravo’ r = 0,66; P = 0,01; n = 16; ‘Sunki’ r = 0,73; P = 0,0014; n = 16; ‘Swingle’ r = 0,70; P = 0,003; n = 16) e MST x P-ácido nucléico (‘Cleópatra’ r = 0,63; P = 0,01; n = 16; ‘Cravo’ r = 0,85; P < 0,0001; n = 16; ‘Sunki’ r = 0,72; P = 0,0016; n = 16; ‘Swingle’ r = 0,76; P = 0,001; n = 16).

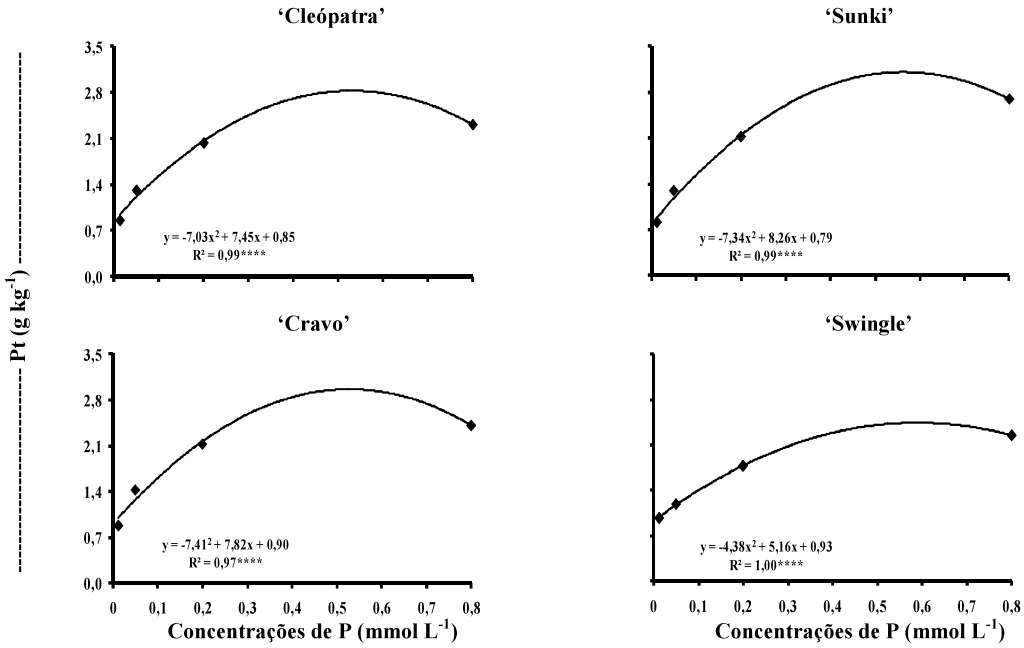


Figura 6. Efeito da concentração de fósforo sobre o teor de P total (Pt) nas folhas de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. $***P < 0,0001$.

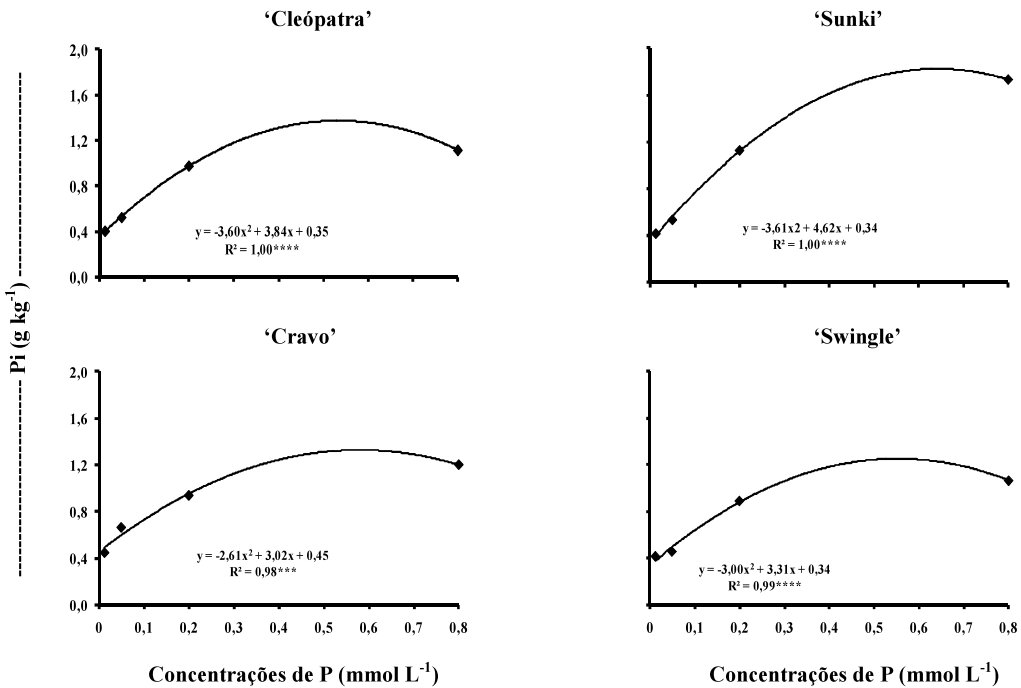


Figura 7. Efeito da concentração de fósforo sobre o teor de P inorgânico (Pi) nas folhas de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. $*** P < 0,001$; $****P < 0,0001$.

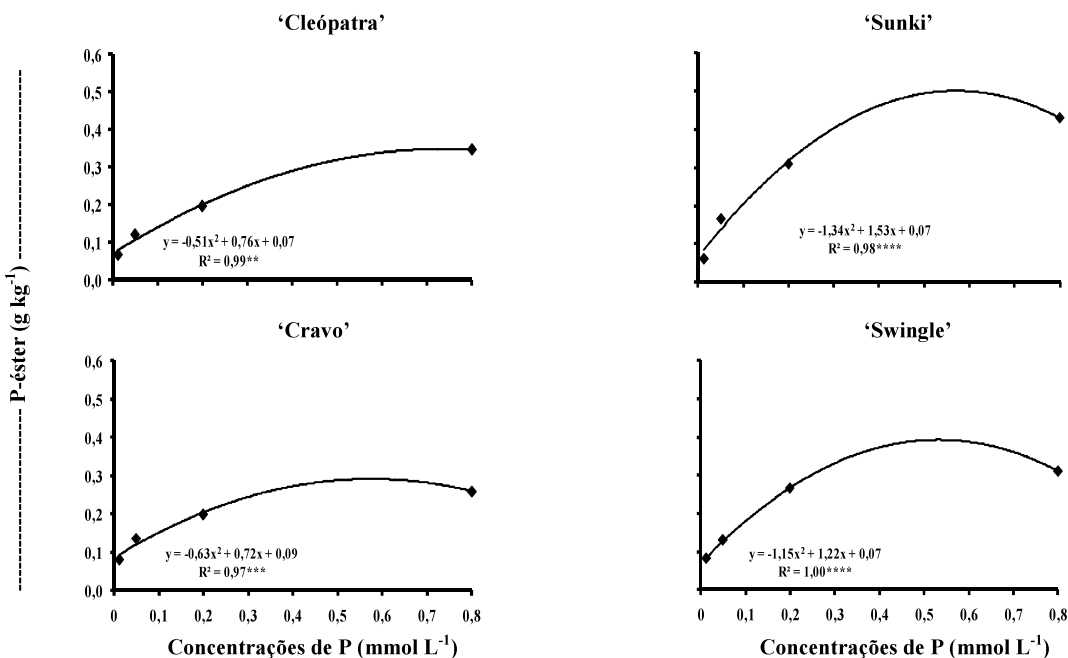


Figura 8. Efeito da concentração de fósforo sobre o teor de P-éster nas folhas de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. $**P < 0,01$; $***P < 0,001$; $****P < 0,0001$.

Em condição de menor disponibilidade de P na solução nutritiva ($0,0125 \text{ mmol L}^{-1}$ de P), foram detectadas correlações significativas e positivas entre o acúmulo total de MS dos PE com os teores de P-éster ($r = 0,59$; $P = 0,02$; $n = 16$), apesar da pouca variação dos teores médios desta fração entre os PE, e com P-ácido nucléico ($r = 0,60$; $P = 0,01$; $n = 16$). Entretanto, não foi detectada correlação significativa com o Pt ($r = 0,39$; $P = 0,13$; $n = 16$) ou Pi ($r = 0,20$; $P = 0,46$; $n = 16$). Esses resultados forneceram indicativos de que em condições de estresse mais acentuado por P, os PE detentores de maior acúmulo de MST apresentaram maiores teores de P-éster e/ou P-ácido nucléico.

O incremento do teor de Pt em função do aumento da disponibilidade do nutriente na solução nutritiva, contribuiu para acréscimos nos teores foliares de outros nutrientes, conforme demonstrado pelas correlações significativas com potássio ($r = 0,30$; $P = 0,01$; $n = 64$), cálcio ($r = 0,50$; $P < 0,0001$; $n = 64$), enxofre ($r = 0,45$; $P = 0,0002$; $n = 64$), manganês ($r = 0,26$; $P = 0,04$; $n = 64$) e zinco ($r = 0,28$; $P = 0,02$; $n = 64$), indicando efeito positivo sobre a absorção e translocação destes nutrientes para a parte aérea. Por outro lado, apresentou correlação negativa com o teor de ferro ($r = -0,32$; $P = 0,01$; $n = 64$).

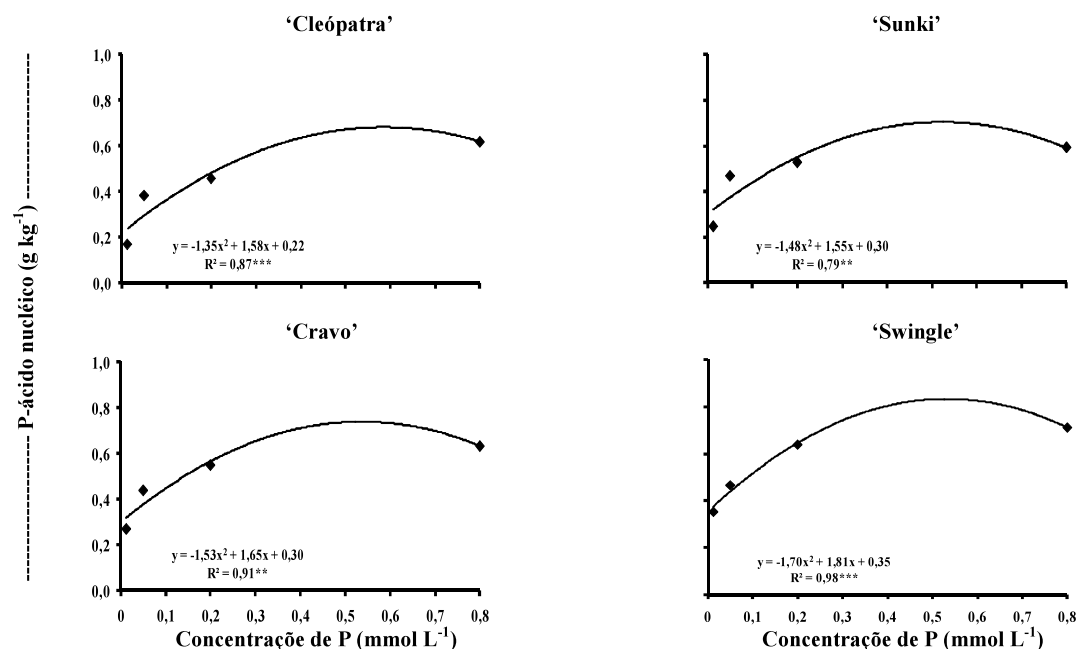


Figura 9. Efeito da concentração de fósforo sobre o teor de P-ácido nucléico nas folhas de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Tabela 2. Teores das frações de fósforo nas folhas de porta-enxertos cítricos cultivados em variada disponibilidade do nutriente na solução nutritiva.

Porta-enxerto	Concentrações de P (mmol L ⁻¹)			
	0,0125	0,05	0,2	0,8
Pt (g kg⁻¹)				
'Cleópatra'	0,86 b	1,32 ab	2,04 a	2,31 b
'Cravo'	0,88 b	1,43 a	2,03 a	2,42 b
'Sunki'	0,81 b	1,29 bc	2,12 a	2,70 a
'Swingle'	0,98 a	1,19 c	1,78 b	2,25 b
Pi (g kg⁻¹)				
'Cleópatra'	0,41 a	0,53 b	0,98 ab	1,12 b
'Cravo'	0,44 a	0,66 a	0,94 ab	1,20 b
'Sunki'	0,42 a	0,54 b	1,13 a	1,73 a
'Swingle'	0,41 a	0,45 c	0,89 b	1,07 b
P-éster (g kg⁻¹)				
'Cleópatra'	0,07 a	0,12 a	0,20 bc	0,35 b
'Cravo'	0,08 a	0,13 a	0,15 c	0,32 b
'Sunki'	0,06 a	0,16 a	0,31 a	0,43 a
'Swingle'	0,08 a	0,13 a	0,27 ab	0,31 b
P-ácido nucléico (g kg⁻¹)				
'Cleópatra'	0,17 c	0,39 b	0,46 c	0,62 b
'Cravo'	0,27 b	0,44 ab	0,55 b	0,63 b
'Sunki'	0,25 b	0,47 a	0,53 bc	0,59 b
'Swingle'	0,36 a	0,47 a	0,64 a	0,71 a

As médias acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem pelo teste de Duncan a 5%.

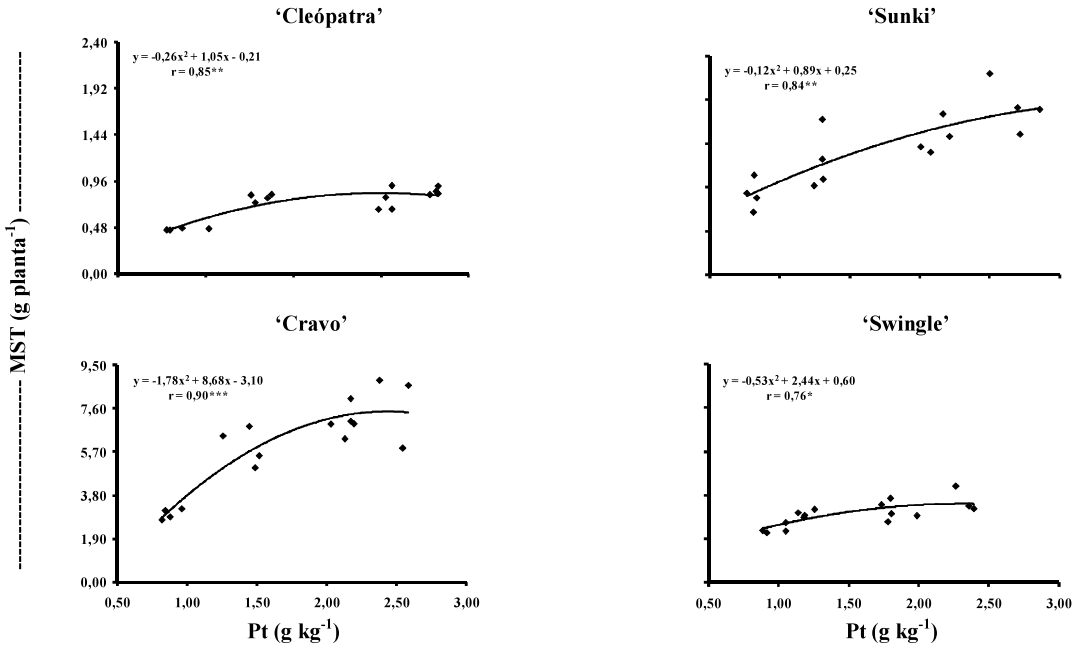


Figura 10. Correlação entre o teor de Pt nas folhas com a massa seca total (MST) de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. * $P < 0,01$; ** $P < 0,001$; *** $P < 0,0001$ (n=16).

4.3.3. Eficiência de absorção e utilização de fósforo

A eficiência de absorção de P (EAP) variou com o PE (Tabela 3) e com a concentração do nutriente na solução nutritiva, sem contudo, ocorrer interação. O aumento da disponibilidade de P no meio de crescimento reduziu a EAP, obtendo-se o modelo: $\hat{y}$ (EAP, mg g MS de raiz⁻¹ de P) = $-0,19x$ (concentração de P na solução nutritiva, mmol L⁻¹) + 3,9; $R^2 = 0,55$; $P < 0,05$. O limão 'Cravo' foi o PE mais eficiente na absorção de P, apresentando EAP 62,2-85,7% mais elevada do que os demais (Tabela 3).

Em relação à eficiência de utilização de P (EUP), foi observada interação entre PE e concentração de P (Figura 11 e Tabela 3), com o aumento da disponibilidade do nutriente resultando em redução da EUP. Entretanto, tal decréscimo foi variável, sendo o limão 'Cravo' o menos sensível. Os incrementos nos teores foliares de P se traduziram em utilização menos eficiente do nutriente para a produção de biomassa vegetal, como demonstrado pelas correlações negativas entre EUP com Pi ($r = -0,34$; $P = 0,01$; $n = 64$), P-éster ($r = 0,36$; $P = 0,003$; $n = 64$) e Pt ($r = 0,30$; $P = 0,02$; $n = 64$). Entretanto, o referido padrão não foi verificado com P-ácido nucléico ($r = -0,09$; $P = 0,46$; $n = 64$), o que foi dado possivelmente, pela função estrutural desta forma do elemento nas plantas.

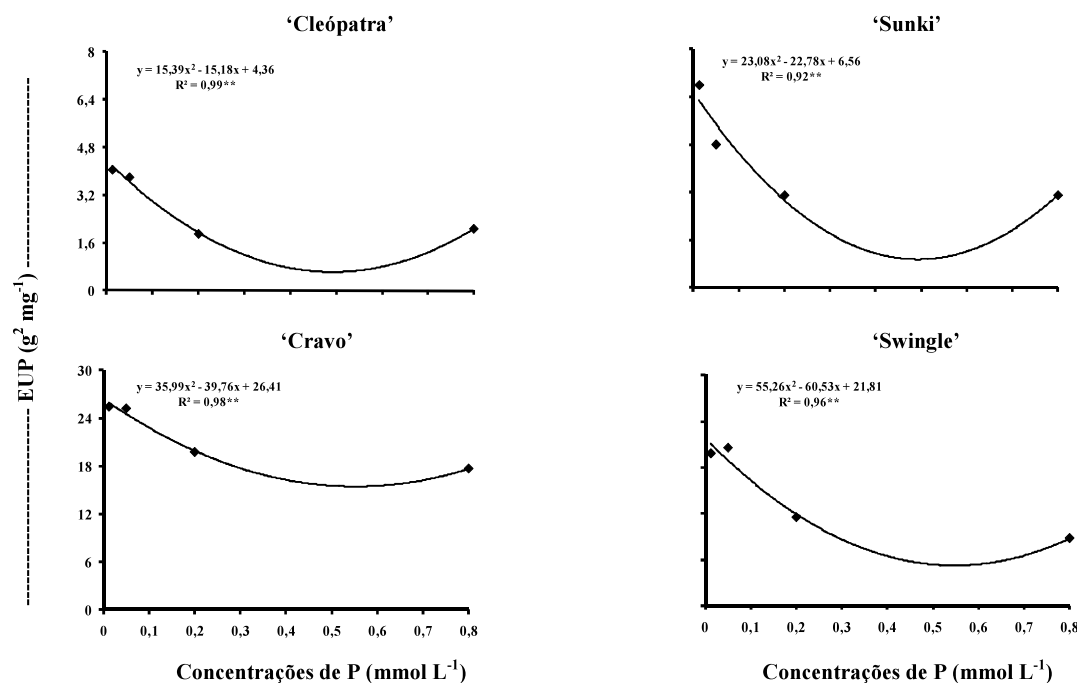


Figura 11. Variação da eficiência de utilização de fósforo para a produção de biomassa (EUP) de porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. $**P < 0,01$.

O citrumelo 'Swingle' e o limão 'Cravo' foram mais eficientes na utilização de P, com destaque para este último (Tabela 3). Apesar da redução da EUP dos PE em concentrações mais altas do nutriente na solução nutritiva, a diferença deste parâmetro entre o limão 'Cravo' e o 'Swingle' foi incrementada, passando de 28,0% na concentração de P equivalente 0,0125 mmol L⁻¹, para 100,1% naquela mais elevada. Esta variação demonstrou o potencial do limão 'Cravo' em utilizar o P absorvido para ganho de biomassa, permitindo melhor aproveitamento do nutriente disponível no ambiente. Quando a comparação foi realizada com as tangerinas 'Cleópatra' e 'Sunki', aumentos na EUP estiveram entre 526,7-933% e 273,8-752,7%, respectivamente. Os resultados refletiram a variação entre os PE em relação à produção de MS por unidade de nutriente absorvido.

Objetivando identificar possível relação entre as frações de P nas folhas com a EUP, correlações simples foram estabelecidas. Para tal, foram escolhidos os dados dos PE na menor dose de P, condição na qual a EUP se torna um parâmetro mais importante para melhor adaptação dos vegetais. Correlações positivas foram obtidas entre EUP com os teores de P-éster ($r = 0,61$; $P = 0,01$; $n = 16$) e P-ácido nucléico ($r = 0,59$; $P = 0,01$; $n = 16$), indicando que em condições de disponibilidade restrita, a incorporação de P na forma de ésteres de fosfato ou ácido nucléico, foi favorável ao uso mais eficiente

do nutriente. Os PE traduziram a maior eficiência na utilização de P em mais elevados ganhos de biomassa, conforme refletido pela correlação entre EUP e MST ($r = 0,72$; $P < 0,0001$; $n = 64$).

Os índices EAP e EUP foram positivamente correlacionados ($r = 0,64$; $P < 0,0001$; $n = 64$), demonstrando que os PE ao mesmo tempo em que apresentaram a capacidade de incrementar a taxa de absorção por unidade de MS de raiz, também foram mais eficientes na conversão do nutriente adquirido em biomassa. Além disso, a EAP foi positivamente correlacionada com a MSR ($r = 0,50$; $P = 0,0001$; $n = 64$).

Tabela 3. Eficiência de absorção (EAP) e de utilização (EUP) de fósforo por quatro porta-enxertos cítricos cultivados em variada disponibilidade do nutriente na solução nutritiva.

Porta-enxerto	EAP (mg g ⁻¹) ⁽¹⁾	Concentrações de P (mmol L ⁻¹)			
		0,0125	0,05	0,2	0,8
		EUP (g ² mg ⁻¹)			
‘Cleópatra’	3,11 b	4,05 d	4,34 c	1,91 c	3,11 c
‘Cravo’	5,20 a	25,38 a	29,88 a	19,73 a	17,65 a
‘Sunki’	2,80 b	6,79 c	5,51 c	3,05 c	2,07 c
‘Swingle’	2,83 b	19,83 b	20,56 b	11,51 b	8,79 b

⁽¹⁾ EAP média das quatro concentrações de P na solução nutritiva. As médias acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem pelo teste de Duncan a 5%.

4.3.4. Atividade da fosfatase ácida

A atividade da fosfatase ácida nas folhas (AFAF) foi influenciada pelos PE e concentração de P, sem ocorrer interação. AFAF reduziu com o suprimento de P, indicando relação negativa entre a disponibilidade do nutriente no meio de crescimento e a atividade extracelular da enzima no tecido foliar (Figura 12). Nos valores médios das concentrações de P na solução nutritiva, menor AFAF foi determinada para citrumelo ‘Swingle’, sem diferença entre os demais (Tabela 4). Além disso, foi verificado que a AFAF foi negativamente correlacionada com o teor foliar de Pi ($r = -0,42$; $P = 0,001$; $n = 64$), P-éster ($r = -0,47$; $P < 0,0001$; $n = 64$), P-ácido nucléico ($r = -0,68$; $P < 0,0001$; $n = 64$) e Pt ($r = -0,47$; $P < 0,0001$; $n = 64$). Por outro lado, a AFAF não se correlacionou com a MST ($r = -0,15$; $P = 0,21$; $n = 64$) e MSR ($r = -0,16$; $P = 0,20$; $n = 64$).

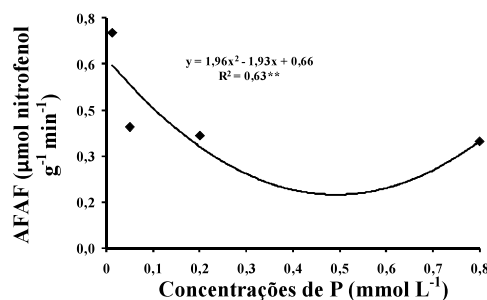


Figura 12. Valores médios da atividade da fosfatase ácida nas folhas (AFAF) dos porta-enxertos cítricos cultivados em solução nutritiva. ** $P < 0,01$.

Diferentemente do observado para AFAF, na atividade da enzima nas raízes (AFAR) ocorreu interação entre PE e concentração de P (Tabela 4). AFAR das plantas cultivadas na menor concentração de P ($0,0125 \text{ mmol L}^{-1}$) foi maior do que aquelas provenientes do tratamento com $0,8 \text{ mmol L}^{-1}$ do nutriente, exceto para o citrumelo ‘Swingle’. Os acréscimos na AFAR corresponderam a 89,5%; 120,3% e 156,7% na ‘Cleópatra’, ‘Cravo’ e ‘Sunki’, respectivamente. Na maior concentração não foi constatado diferença entre os PE. Entretanto, para a concentração de $0,0125 \text{ mmol L}^{-1}$ de P, o limão ‘Cravo’ apresentou maior AFAR, sem diferir da tangerina ‘Sunki’. Valor intermediário foi verificado para ‘Cleópatra’, enquanto o citrumelo ‘Swingle’ demonstrou menor AFAR.

Tabela 4. Atividade da fosfatase ácida nas folhas (AFAF) e nas raízes (AFAR) de porta-enxertos cítricos cultivados em variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva.

Porta-enxerto	AFAF ⁽¹⁾	AFAR	
		$0,0125 \text{ mmol L}^{-1}$ de P	$0,8 \text{ mmol L}^{-1}$ de P
		$\mu\text{mol nitrofenol g}^{-1} \text{ min}^{-1}$	
‘Cleópatra’	0,53 a	0,35 bA	0,19 aB
‘Cravo’	0,52 a	0,54 aA	0,24 aB
‘Sunki’	0,47 ab	0,43 abA	0,17 aB
‘Swingle’	0,40 b	0,21 cA	0,24 aA

⁽¹⁾Os valores para cada porta-enxerto representam a média das concentrações de P. As médias acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna e por letras maiúsculas na mesma linha não diferem pelo teste de Duncan e teste F a 5%, respectivamente.

4.4. Discussão dos Resultados

4.4.1. Suprimento de fósforo e crescimento dos porta-enxertos cítricos

O decréscimo da AF devido à deficiência por P foi refletido em menores ganhos de biomassa, como demonstrado pela relação positiva estabelecida entre AF e MST ($r = 0,98$; $P < 0,0001$; $n = 64$) e MSR ($r = 0,74$; $P < 0,0001$; $n = 64$). A área foliar foi o parâmetro mais afetado em plantas de soja cultivadas em condições de deficiência por P (Fredden et al., 1989). A redução da área foliar do

feijoeiro em condições de estresse pelo nutriente foi associada primeiramente com a redução no aparecimento de folhas, mais do que prejuízos na elongação de folhas individuais e o tamanho final (Lynch et al., 1991). Entretanto, segundo estes autores, é possível que os efeitos iniciais da deficiência de P sobre a expansão foliar reduza a disponibilidade de carbono, comprometendo desta maneira todo o desenvolvimento da planta. A redução na expansão foliar também pode ocorrer devido a interações entre P e transporte de água, o qual é reduzido na condição de deficiência pelo nutriente (Radin & Eidenbock, 1984). Segundo Fredden et al. (1989), a diminuição na expansão foliar é devida à insuficiência de fosfato para expansão de células da epiderme. Além disso, o suprimento sub-ótimo de P limita a divisão celular no meristema apical da PA (Chiera et al., 2002). Foi preconizado que o ganho de biomassa por unidade de área foliar é menor em plantas com estresse por falta de P. Isto ocorre devido a maior demanda respiratória de tecidos heterotróficos, com perdas mais elevadas do carbono fixado em plantas deficientes (Lynch et al., 1991).

A restrição ao crescimento das plantas cultivadas em condições de menor disponibilidade de P é resultado das funções desempenhadas por este elemento como componente estrutural, participante da transferência de energia e regulação do metabolismo vegetal, além das interações com demais nutrientes, afetando os processos de absorção, translocação e assimilação (Duff et al., 1994; Marschner, 1995). Em relação aos PE, houve estímulo à absorção e transporte de nutrientes para a PA, como demonstrado pelas correlações positivas entre teores foliares de P com vários nutrientes. A restrição ao crescimento dos PE devido ao comprometimento das funções do P como participante do metabolismo energético e formação das estruturas, foi relacionada aos teores mais baixos de P-éster e P-ácido nucléico, respectivamente, pois os ganhos de MS das plantas foram acompanhados de incrementos destas frações de P nas folhas. A mesma inferência pode ser aplicada ao P_i , que estaria atuando como regulador do metabolismo vegetal, como no processo fotossintético. Embora não tenha sido contemplado no presente estudo, é estabelecido o efeito negativo da deficiência por P sobre a fotossíntese, e consequentemente sobre o crescimento (Rao & Terry, 1995).

A deficiência por P altera a partição de biomassa para órgãos não fotossintéticos, por limitar o crescimento da parte aérea mais do que das raízes (Lynch et al., 1991). Isto está de acordo com os resultados encontrados neste trabalho para a relação raiz/parte aérea (R/PA). Houve maior acúmulo relativo de biomassa no sistema radicular dos PE em disponibilidade restrita do nutriente, devido à distribuição preferencial de fotoassimilados para as raízes (Fredden et al., 1989). O acúmulo relativo de

MS nas raízes foi dependente do estado nutricional da PA, uma vez que, correlação negativa foi estabelecida entre o Pt nas folhas e R/PA ($r = -0,30$; $P = 0,01$; $n = 64$).

Apesar da R/PA ter sido aumentada, o crescimento absoluto das raízes foi reduzido quando as plantas foram cultivadas em baixa concentração de P. Resposta positiva para o acúmulo de MS no sistema radicular foi obtida quando houve o suprimento do nutriente para plantas cultivadas em condições de deficiência (Urich et al., 2003; Wissuwa et al., 2005; Faye et al., 2006). Portanto, o adequado suprimento de P se torna mais importante ao se considerar que o menor crescimento das raízes poderá restringir o volume de solo explorado, comprometendo o aproveitamento de água e demais nutrientes.

4.4.2. Estado nutricional por fósforo dos porta-enxertos cítricos

A faixa de concentração de P na solução nutritiva utilizada neste estudo foi adequada para a obtenção de plantas com diferente estado nutricional. Foi possível determinar as concentrações máximas do nutriente na solução nutritiva e avaliar as respostas diferenciais dos PE quanto a disponibilidade do nutriente. Entretanto, a resposta distinta dos PE ao suprimento de P não foi constatada por Fonseca et al. (1994), pois não encontraram interação significativa entre doses de P e PE (limão ‘Cravo’ e tangerina ‘Cleópatra’) em relação ao teor do nutriente na PA, o que foi relacionado aos teores já elevados de P no substrato orgânico por ocasião da adubação.

Nos procedimentos de análise foliar, o teor total de P é normalmente determinado. Contudo, o nutriente ocorre em diferentes formas no tecido vegetal, as quais se diferenciam por suas funções no metabolismo. Desta maneira, o conhecimento destas frações poderia contribuir para melhor compreensão das respostas das plantas cítricas à disponibilidade do nutriente. No presente estudo tal suposição foi confirmada, pois na menor dose de P, os teores de P-éster e de P-ácido nucléico foram positivamente correlacionados com a MST e EUPT dos PE, enquanto que o mesmo não ocorreu com Pt. Isto significou que em condições de estresse, os materiais genéticos que apresentaram teores mais elevados destas frações tiveram maiores ganhos de MS.

Além do teor total, todas as frações de P nas folhas aumentaram com a adição de P na solução nutritiva. Estes resultados concordam com aqueles encontrados para várias espécies de plantas e condições de cultivo (Bielieski, 1968; Hogue et al., 1970; Chapin et al., 1982; Chapin & Kedrowski, 1983; Hart & Jessop, 1983; Furtini Neto et al., 1998). O aumento porcentual do teor de Pi entre o obtido na concentração mínima e na máxima de P na solução nutritiva esteve entre 198-333%, confirmando ser uma fração responsiva ao elemento, o que justificaria o seu uso na avaliação do estado

nutricional (Skinner et al., 1987). A concentração de todas as frações de P em folhas de capim-estilosantes aumentou com a aplicação do elemento em solo deficiente, sendo os maiores incrementos observados para o Pi (Hart & Jessop, 1982). Quando o requerimento para o crescimento é atendido, aumento da concentração de P no tecido é devido principalmente ao Pi, que se acumula nos vacúolos (Bielecki, 1973).

Considerando a constante variação no suprimento de P do solo para as plantas, o armazenamento de Pi seria uma estratégia importante. Isto porque, quanto mais elevados os seus teores foliares, maior a probabilidade da planta suportar a interrupção no fornecimento do P, pois ocorreria a mobilização do Pi vacuolar para o citoplasma (Fernandes et al., 2000). Neste contexto, quando o suprimento de P no meio de crescimento foi abundante, a tangerina ‘Sunki’ foi o PE com maior potencial para armazenamento de Pi nas folhas. Por outro lado, as reservas de Pi seriam de menor importância para o citrumelo ‘Swingle’, uma vez que apresentou os menores teores desta forma de P.

Apesar de terem sido encontradas variações dos teores absolutos das frações de P entre os PE, e principalmente entre as doses de P na solução nutritiva, as frações de P ocuparam proporções semelhantes no tecido foliar. Tal constatação indicou que mesmo havendo diferença na quantidade total de P nas folhas, a planta cítrica apresentou tendência em manter uma proporção constante entre as frações. Maiores diferenças foram encontradas ao serem avaliadas folhas provenientes de diferentes espécies (Close & Beadle, 2004). Estes autores constataram que a proporção de P insolúvel foi maior, e o P inorgânico menor em folhas de *Eucalyptus globus* quando comparado ao *Eucalyptus nitens*.

4.4.3. Eficiência nutricional de fósforo em porta-enxertos cítricos

Os resultados obtidos confirmaram a variação entre os PE cítricos quanto à eficiência de uso de P (EAP e EUP). As diferenças ocorreram porque os componentes genéticos e fisiológicos das plantas apresentam acentuado efeito na habilidade das mesmas de absorver e utilizar os nutrientes nas mais variadas condições ambientais (Baligar et al., 2001). Como o limão ‘Cravo’ foi o material com maior EAP, espera-se que para cada unidade de MS do sistema radicular, essa planta (incluindo a variedade copa) tenha maior capacidade para adquirir o nutriente do solo. Vários mecanismos são relacionados com a maior ou menor eficiência do sistema radicular de uma determinada espécie ou variedade para absorção de P, como: i) o crescimento diferencial do sistema radicular (alocação de biomassa); ii) mudança da arquitetura das raízes, com incremento do número e comprimento dos pêlos radiculares; iii) associações com micorrizas; iv) alterações da rizosfera, mediante a exudação de ácidos orgânicos, alteração do pH e liberação de fosfatases, que atuam no sentido de incrementar a disponibilidade do

nutriente, deixando-o disponível para o processo de absorção; v) aumento da taxa de absorção das raízes mediante alteração na expressão de transportadores de fosfato de alta afinidade (Drew, 1975; Liu, 1998; Marschner, 1998; Syvertsen & Graham, 1999; Bates & Lynch, 2000; Hammond et al., 2004; Hernans et al., 2006).

A eficiência de uso de P torna-se mais importante em condições de baixa disponibilidade do nutriente, por permitir melhor adaptação ao estresse nutricional. Isto foi mostrado para todos os PE, pois a EUP foi negativamente correlacionada com o teor de Pt e de suas frações. A redução de parâmetros de eficiência nutricional com aumento da disponibilidade do nutriente no meio de crescimento é conhecida para outras espécies de plantas, como pinus (Elliot & White, 1994) e feijão-caupi (Sanginga & Singh, 2000). É bem estabelecido que os incrementos na absorção e acúmulo de nutrientes, não são acompanhados na mesma proporção dos ganhos de MS pelas plantas (Marschner, 1995).

Vários eventos devem explicar as reduções na EUP em doses mais elevadas do nutriente, pois certamente, nesta condição outros fatores foram mais importantes do que a própria disponibilidade do elemento, como a interação com outros nutrientes, os ganhos de carbono por meio da atividade fotossintética, ou mesmo o potencial genético para o crescimento. Em elevada disponibilidade, os vegetais armazenam o P no vacúolo na forma inorgânica, o qual contribui para elevar o teor do nutriente nas folhas, porém sem participar diretamente de reações metabólicas ou formação de estruturas como ácido nucléico e membranas (fosfolipídeos). Por outro lado, as plantas em situações de deficiência do elemento, atuam para maximizar o seu uso, com o P vacuolar contribuindo em menor proporção para o Pt. A variação na EUP encontrada entre os PE foi acentuada, confirmando a variabilidade existente entre os materiais estudados para o metabolismo de P. A capacidade dos PE em direcionar a alocação do P foliar para as frações P-éster e P-ácido nucléico foi relacionada com o uso mais eficiente do elemento, sobretudo em disponibilidade restrita. Entretanto, nesta condição de estresse nutricional, outros fatores devem ter sido preponderantes em determinar a EUP destas plantas, apesar dos conhecimentos ainda limitados das bases que governam as diferenças. Algumas explicações têm sido relacionadas com variações na ação de enzimas na rota da glicólise, as quais operam através de rotas alternativas do catabolismo de carboidratos durante estresse por P, o que contribui para uso mais eficiente do nutriente por meio de sua reciclagem, redução de consumo e a utilização de frações alternativas, como o pirofosfato (Theodoru & Plaxton, 1993; Shenoy & Kalagudi, 2005).

4.4.4. Atividade da fosfatase ácida

A determinação da atividade da fosfatase ácida nas folhas (AFAF) e/ou nas raízes (AFAR), tem sido uma característica comum em estudos que avaliam as respostas dos vegetais ao estresse por P. Entretanto, o caráter diagnóstico do estado nutricional por P seria mais facilmente estabelecido para quantificação da atividade nas folhas, sobretudo, pela facilidade de amostragem e definição de padrões quando comparado às raízes (Ascencio, 1994). A proposição do emprego da AFAF para avaliação do estado nutricional, foi baseada em sua relação negativa com o teor foliar de P encontrado para várias culturas (Besford, 1979; O'Connell & Grove, 1985; Elliott & Läuchli, 1986; Silva & Basso, 1993; Yan et al., 2001; Raposo et al., 2004). Além disso, devido à baixa especificidade por substratos, é presumido que as fosfatases estejam envolvidas na hidrólise não específica de P orgânico, contribuindo para a elevação da quantidade disponível de Pi (Duff et al., 1994).

No presente estudo foi marcante o efeito do aumento da disponibilidade de P na solução nutritiva sobre a redução da AFAF, principalmente entre a primeira dose e as demais (Figura 12). A AFAF é induzida por condições de deficiência do nutriente (Fernandez & Ascencio, 1994), e a sua atividade é elevada devido a um aumento na síntese da enzima (Reid & Bieleski, 1970; Besford, 1979). Além disso, foi verificado para os PE que a AFAF foi negativamente correlacionada com o teor foliar das várias frações de P, incluindo do Pt. Efeitos semelhantes também foram obtidos para plantas de berinjela ($r = -0,92$) e de feijão ($r = -0,78$) submetidas a doses crescentes de P (López-Cantero et al., 1998; Chávez et al., 2009), o que segundo os autores, confirmaria o valor diagnóstico da enzima. Entretanto, apesar das correlações significativas obtidas para os PE, as maiores diferenças foram estabelecidas com os teores foliares de Pt obtidos na menor concentração de P na solução nutritiva em relação às demais. Ou seja, apesar dos incrementos do Pt entre a segunda e última dose do nutriente, não houve queda da atividade da AFAF na mesma proporção, sendo a AFA mais sensível em detectar variação no estado nutricional do PE quando a deficiência foi severa. Isto já foi apontado por Elliot & Läuchli (1986) para atividade da enzima quantificada em discos foliares de plantas de milho. Segundo os autores, a AFAF não foi hábil para refletir variação no estado nutricional por P em condições incipientes ou moderadas de deficiência, sendo eficiente somente para plantas severamente deficientes. A aplicabilidade da AFAF como diagnose se tornou mais restrita, ao ser considerado que a atividade da enzima não se relacionou com a MST das plantas ao final do experimento, mesmo com os acréscimos concomitantes de crescimento e dos teores de Pt nas folhas. Desta maneira, seria importante para

plantas cítricas, que o uso da AFAF fosse complementado com a determinação dos teores foliares de P para a identificação de deficiências mais brandas.

Independente da disponibilidade de P, o efeito do material genético também foi constatado sobre a AFAF, sendo o citrumelo ‘Swingle’ o PE com o valor mais baixo. A variação na AFAF entre plantas de *Phaseolus vulgaris* e *Vigna unguiculata* ou entre genótipos de arroz foi atribuída a diferenças nos teores da proteína e/ou atividade específica de diferentes isoenzimas (Fernandez & Ascencio, 1994; Lim et al., 2003).

Os resultados do trabalho demonstraram claramente o efeito da disponibilidade de P na solução nutritiva e do PE sobre a atividade da fosfatase ácida secretada pelas raízes. Na condição de maior disponibilidade de P ($0,8 \text{ mmol L}^{-1}$) não houve diferença entre os PE para AFAR, indicando que em condições de suficiência do nutriente, nenhum dos materiais alterou o nível de secreção da enzima na região da rizosfera. Exceto para o citrumelo ‘Swingle’, a AFAR foi mais elevada no tratamento com $0,0125 \text{ mmol L}^{-1}$ de P. Além disso, essa concentração permitiu a separação na capacidade dos PE quanto à secreção da enzima na região da rizosfera em condições de estresse pelo nutriente. Em plantas de mostarda cultivadas em hidroponia, o nível de fosfatase ácida secretada nas raízes foi mais alto para a concentração de $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ de P do que em 1 mmol L^{-1} de P (Haran et al., 2000). O aumento da atividade da AFAR com a redução da disponibilidade de P na zona radicular tem sido documentado em outras pesquisas (Yun & Kaepler, 2001; Nanamori et al., 2004; Tomscha et al., 2004), sendo considerado uma das mais marcantes respostas das plantas à deficiência por P.

A indução da atividade desta enzima em raízes de brássicas (*B. nigra*) foi considerada como uma consequência direta de incrementos na síntese da proteína (Duff et al., 1991) ou a ativação de enzima pré-existente em plantas de *Arabidopsis* (Coelho, 2002). A alteração da AFAR tem sido relacionada ao estado nutricional da PA, sendo incrementada quando a concentração interna de P atinge níveis de estresse pelo nutriente (Furlani et al., 1984) ou quando há decréscimos no próprio teor absoluto de P nas raízes (Speir & Cowling, 1991). Para os PE cítricos, resultados semelhantes foram encontrados, sendo a AFAR negativamente correlacionada com o teor de P nas folhas ($r = -0,66$; $P < 0,0001$; $n = 32$) e na própria raiz ($r = -0,63$; $P = 0,0001$; $n = 32$). Em plantas de tomate, a expressão de genes relacionados à atividade da enzima foi regulada pela concentração interna de P, sendo maior em plantas desprovidas do elemento na solução nutritiva (Baldwin et al., 2010).

Considerando que a fosfatase ácida nas raízes promove a quebra de vários ésteres de fosfato e libera P_i na solução do solo, disponibilizando-o para absorção pelo sistema radicular (Quisel et al.,

1996; Tomscha et al., 2004), os resultados com os PE indicaram que em condições de estresse por P, existem diferenças potenciais entre os materiais genéticos para o aproveitamento do P orgânico presente no solo. Considerando que a fração orgânica pode representar uma importante porção (30-80%) da quantidade total do P em áreas cultivadas (Bielecki, 1973), a maior AFAR contribuiria para a aquisição do nutriente, levando à maior EAP e consequentemente a minimização do estresse nutricional. A variação da AFAR entre genótipos, quando as plantas foram crescidas em baixa disponibilidade de P na solução nutritiva, também foi detectada para outras culturas, como o sorgo (Furlani et al., 1984), feijão (Helal, 1990), arroz (Lim et al., 2003) e milho (Machado & Furlani, 2004).

4.5. Conclusões

Os porta-enxertos cítricos, quando submetidos ao suprimento de P na solução nutritiva, mostraram variação nas respostas de crescimento e no estado nutricional. O incremento do teor foliar de Pt e de suas frações (Pi, P-éster, P-ácido nucléico) foi acompanhado de ganhos no crescimento. A capacidade de aquisição e a conversão do P acumulado em biomassa foram mais elevadas para o limão ‘Cravo’, indicando ser o material com maior potencial para aproveitamento do nutriente disponível no ambiente. A quantificação da atividade da fosfatase ácida nas folhas foi útil para confirmar a deficiência severa por P. Entretanto, seria importante que tal avaliação estivesse associada à determinação dos teores foliares do nutriente. A atividade desta enzima na raiz foi induzida por deficiência de P, e deve contribuir para absorção mais eficiente do nutriente pelo limão ‘Cravo’, principalmente em condições de baixa disponibilidade.

4.6. Referências Bibliográficas

- ALVA, A.K.; CHEN, E.Q. Effects of external copper concentration on uptake of trace elements by citrus seedlings. **Soil Science**, v. 159, p. 59-64, 1995.
- ASCENCIO, J. Acid phosphatase as diagnostic tool. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 25, p. 1565-1582, 1994.
- BALDWIN, J.C.; KARTHIKEYAN, A.S.; RAGHOTHAMA, K.G. LEPSE, a phosphorus starvation-induced novel acid phosphatase from tomato. **Plant Physiology**, v. 125, p. 728-737, 2001.
- BALIGAR, V.C.; FAGÉRIA, N.K.; HE, Z.L. Nutrient use efficiency in plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 37, p. 921-950, 2001.

- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Método de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1983. Boletim técnico n.78.
- BATES, T.R.; LYNCH, J.P. The efficiency of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) root hairs in phosphorus acquisition. **American Journal of Botany**, v. 87, p. 964-970, 2000.
- BESFORD, R.T. A rapid tissue test for diagnosing phosphorus deficiency in the tomato plant. **Annals of Botany**, v. 45, p. 225-227, 1980.
- BESFORD, R.T. Nutrient imbalances in tomato plants and acid phosphatase activity in the leaves. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 30, p. 275-280, 1979.
- BIELESKI, R.L. Levels of phosphate esters in *Spirodela*. **Plant Physiology**, v. 43, p. 1297-1308, 1968.
- BIELESKI, R.L. Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 24, p. 225-252, 1973.
- CHAPIN, F.S.; FOLLETT, J.M.; O'CONNOR, K.F. Growth, phosphate absorption, and phosphorus chemical fractions in two *Chionochloa* species. **Journal of Ecology**, v. 70, p. 305-321, 1982.
- CHAPIN, F.S.; KEDROSKI, R.A. Seasonal changes in nitrogen and phosphorus fractions and autumn retranslocation in evergreen and deciduous taiga trees. **Ecology**, v. 64, p. 376-391, 1983.
- CHÁVEZ, E.S.; MUÑOZ, ANCHONDO, A.; RUIZ, J.M.; ROMERO, L. Nitrogen impact on nutritional status of phosphorus and its main bioindicator: response in the roots and leaves of green bean plants. **Revista Chapingo Serie Horticultura**, v. 15, p. 177-182, 2009.
- CHIERA, J.; THOMAS, J.; RUFTY, T. Leaf initiation and development in soybean under phosphorus stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 473-481, 2002.
- CLOSE, D.C.; BEADLE, L.C. Total, and chemical fractions, of nitrogen and phosphorus in *Eucalyptus* seedling leaves: Effects of species, nursery fertilizer management and transplanting. **Plant and Soil**, v. 259, p. 85-95, 2004.
- COELHO, P. Purification and characterization of secreted acid phosphatase in phosphorus-deficient *Arabidopsis thaliana*. **Physiologia Plantarum**, v. 116, p. 293-298, 2002.
- DREW, M.C. Comparison of the effects of a localized supply of phosphate, nitrate, ammonium and potassium on the root growth of the seminal root system, and the shoot in barley. **New Phytologist**, v. 75, p. 479-490, 1975.
- DUFF, S.M.G.; PLAXTON, W.C.; LAFEBVRE, D.D. Phosphate-starvation response in plant cells: *de novo* synthesis and degradation of acid phosphatases. **Proceeding of the National Academic of Science**, v. 88, p. 9538-9542, 1991.

- DUFF, S.M.G.; SARATH, G.; PLAXTON, W.C. The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. **Physiologia Plantarum**, v. 90, p. 791-800, 1994.
- ELLIOT, K.; A.S. WHITE. Effects of light, nitrogen, and phosphorus on red pine seedling growth and nutrient use efficiency. **Forest Science**, v. 40, p. 47-58, 1994.
- ELLIOTT, G.C.; LÄUCHLI, A. Evaluation of an acid phosphatase assay for detection of phosphorus deficiency in leaves of maize (*Zea mays* L.). **Journal of Plant Nutrition**, v. 9, p. 1469-1477, 1986.
- ESPOSTI, M.D.D.; SIQUEIRA, D.L. Doses de uréia no crescimento de porta-enxertos de citros produzidos em recipientes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 136-139, 2004.
- FAYE, I.; DIOUF, O.; GUISSÉ, A.; SENE, M.; DIALLO, N. Characterizing root responses to low phosphorus in pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.). **Agronomy Journal**, v. 98, p. 1187-1194, 2006.
- FERNANDES, L.A.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CURI, N. Frações de fósforo e atividade da fosfatase ácida em plantas de feijoeiro cultivadas em solos de várzea. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 561-571, 2000.
- FERNANDEZ, D.S.; ASCENCIO, J. Acid phosphatase activity in bean and cowpea plants grown under phosphorus stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 17, p. 229-241, 1994.
- FONSECA, E.B.A.; OLIVEIRA, E.; SOUZA, M.; CARVALHO, J.C. Efeitos do fósforo e fungo MVA na nutrição de dois porta-enxertos de citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, p.1889-1896, 1994.
- FREDEEN, A.; RAO, I.M.; TERRY, N. Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partitioning in *Glycine max*. **Plant Physiology**, v. 89, p. 335-230, 1989.
- FURLANI, A.M.C.; CLARK, R.B.; MARANVILLE, J.W.; ROSS, W.M. Root phosphatase activity of sorghum genotypes grown with organic and inorganic sources of phosphorus. **Journal of Plant Nutrition**, v. 7, p. 1583-1595, 1984.
- FURLANI, P.R.; SILVEIRA, L.C.P.; BOLONHEZI, D.; FAQUIN, V. **Cultivo hidropônico de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1999. Boletim Técnico n. 180.
- FURTINI NETO; A.E.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F.; OLIVEIRA, M.F.G. Frações fosfatadas em mudas de Eucalyptus. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 267-274, 1998.
- GOURLEY, C.J.P.; ALLAN, D.L.; RUSSELE, M.P. Defining phosphorus efficiency in plants. **Plant and Soil**, v. 155/156, p. 289-292, 1993.

- HAMMOND, J.P.; BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J. Genetic responses to phosphorus deficiency. **Annals of Botany**, v. 94, p. 323-332, 2004.
- HARAN, S.; LOGENDRA, S.; SESKAR, M.; BRATANOVA, M.; RASKIN, I. Characterization of Arabidopsis acid phosphatase promoter and regulation of acid phosphatase expression. **Plant Physiology**, v. 124, p. 615-626, 2000.
- HART, A.L.; JESSOP, D. Phosphorus fractions in trifoliolate leaves of white clover and lotus at various levels of phosphorus supply. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 26, p. 357-361, 1983.
- HELAL, H.M. Varietal differences in root phosphatase activity as related to the utilization of organic phosphates. **Plant and Soil**, v. 123, p. 161-163, 1990.
- HERNANS, C.; HAMMOND, J.P.; WHITE, P.J.; VERBRUGGEN, N. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 614-616, 2006.
- HOGUE, E.; WILCOX, G.E.; CANTLIFFE, D.J. Effect of soil phosphorus levels on phosphate fractions in tomato leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 95, p. 174-176, 1970.
- LEITE, P.B.; ALVAREZ, V.H.; BARROS, N.F.; NEVES, J.C.; GUARÇONI, A.M.; ZANÃO Jr. Níveis críticos de fósforo, para eucalipto, em casa de vegetação, em função de sua localização no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 1311-1322, 2009.
- LIM, J.H.; CHUNG, I.; RYU, S.S.; PARK, M.R.; YUN, S.J. Differential responses of rice acid phosphatase activities and isoforms to phosphorus deprivation. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 36, p. 597-602, 2003.
- LIU C.; UMESH, S.M.; UTHAPPA, M.; KONONOWICZ, A.K.; RAGHOTHAMA, K.G. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus. **Plant Physiology**, v. 116, p. 91-99, 1998.
- LÓPEZ-CANTARERO, I.; RUIZ, J.M.; HERNADEZ; ROMERO, L. Phosphorus metabolism and yield response to increase in nitrogen-phosphorus fertilization: Improvement in greenhouse cultivation of eggplant (*Solanum melongena* cv. Bonica). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 1603-1608, 1998.
- LYNCH, J.; LAUHLI, A.; EPSTEIN, E. Vegetative growth of the common bean in response to phosphorus nutrition. **Crop Science**, v. 31, p. 380-387, 1991.

- MACHADO, C.T.T.; FURLANI, A.M.C. Root phosphatase activity, plant growth and phosphorus accumulation of maize genotypes. **Scientia Agricola**, v. 61, p. 216-233, 2004.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 314 p. 1997.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.
- MARSCHNER, H. Role of root growth, arbuscular mycorrhiza, and root exudates for the efficiency in nutrient solution. **Field Crops Research**, v. 56, p. 203-207, 1998.
- MATTOS Jr., D.; BOARETTO, R. M.; CORRÊA, E.R.L.; ABREU, M.F.; CARVALHO, S.A. Disponibilidade de boro em substrato para a produção de porta-enxertos de citros em fase de sementeira. **Bragantia**, v.67, p.983-989, 2008.
- MATTOS Jr., D.; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; ALVA, A.K.; GRAETZ, D. A. Response of young citrus trees on selected rootstocks to nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization. **Journal of Plant Nutrition**, v. 29, p. 1371-1385, 2006.
- NANAMORI, M.; SHINANO, T.; WASAKI, J.; YAMAMURA, T.; RAO, I.M.; OSAKI, M. Low phosphorus tolerance mechanisms: phosphorus recycling and photosynthate partitioning in the tropical forage grass, *Bachiaria* hybrid cultivar mulato compared with rice. **Plant and Cell Physiology**, v. 45, p. 460-469, 2004.
- O'CONNELL, A.M.; GROVE, T.S. Acid phosphatase activity karri (*Eucalyptus diversicolor* F. Muell.) in relation to soil phosphate and nitrogen supply. **Journal of Experimental Botany**, v. 36, p. 1359-1372, 1985.
- PANIGRAHY, M.; RAO, D.N.; SARLA, N. Molecular mechanisms in response to phosphate starvation rice. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 389-397, 2009.
- PEREIRA, W.E.; SIQUEIRA, D.L.; PUIATTI, M.; MARTÍNEZ, C.A.; SALOMÃO, L.C.C.; CECON, P.R. Growth of citrus rootstock under aluminium stress in hydroponic. **Scientia Agricola**, v. 60, p. 31-41, 2003.
- PESTANA, M.; VARENNES, A.; ABADIA, J.; FARIA, E.A. Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstocks grown in nutrient solution. **Scientia Horticulturae**, v. 104, p. 25-36, 2005.
- POLGLASE, P.J.; JOKELA, E.J.; COMERFORD, N.B. Phosphorus, nitrogen and carbon fractions in litter and soil of southern pine plantations. **Soil Science Society of American Journal**, v. 56, p. 566-572, 1992.

- POMPEU Jr., P. Porta-enxertos. In: MATTOS Jr., D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU Jr., J. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005. cap. 4, p. 61-104.
- QUISEL, J.D.; WYDOFF, D.D.; GROSSMAN, A.R. Biochemical characterization of the extracellular phosphatase produced by phosphorus-deprived *Chlamydomonas reinhardtii*. **Plant Physiology**, v. 111, p. 839-848, 1996.
- RADIN, J.W.; EINDENBOCK, M.P. Hydraulic conductance as factor limiting leaf expansion of phosphorus-deficient cotton plants. **Plant Physiology**, v. 75, p. 372-377, 1984.
- RAO, I.M.; TERRY, N. Leaf phosphate status, photosynthesis, and carbon partitioning in sugar beet. **Plant Physiology**, v. 107, p. 1313-1321, 1995.
- RAPOSO, R.W.C.; MURAOKA, T.; BASSO, L.C.; LAVRES Jr.; FRANZINI, V.I. Acid phosphatase activity and leaf phosphorus content in soybean cultivars. **Scientia Agricola**, v.61, p. 439-445, 2004.
- REID, M.S.; BILESKEI, R.L. Changes in phosphatase activity in phosphorus-deficient *Spirodela*. **Planta**, v. 94, p. 273-281, 1970.
- ROCHA, M.R.; OLIVEIRA, E.; CORRÊA, G.C. Efeitos de doses de fósforo e fungo MVA no crescimento e nutrição mineral da tangerina ‘Cleópatra’ em sementeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, p.725-731, 1994.
- RUIZ, D.; MARTINEZ, V.; CERDÁ, A. Demarcating specific ion (NaCl , Cl^- , Na^+) and osmotic effects in the response of two citrus rootstocks to salinity. **Scientia Horticulturae**, v. 80, p. 213-224, 1999.
- SANGINGA, N.; LYASSE, O.; SINGH, B.B. Phosphorus use efficiency and nitrogen balance of cowpea breeding lines in a low P soil of the derived savanna zone in West Africa. **Plant and Soil**, v. 220, p. 119-128, 2000.
- SANTOS, J.Z.L.; RESENDE, A.V.; FURTINI NETO, A.E.; CORTE, E.F. Crescimento, acúmulo de fósforo e frações fosfatadas em mudas de sete espécies arbóreas nativas. **Revista Árvore**, v. 32, p. 799-807, 2008.
- SARRUGE, J.R. Soluções nutritivas. **Summa Phytopatologica**, v.1, p. 231-233, 1975.
- SCIVITTARO, W.B.; OLIVEIRA, R.P.; MORALES, C.F.G.; RADMANN, E.B. Adubação nitrogenada na formação de porta-enxertos de limoeiro ‘Cravo’ em tubetes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 131-135, 2004.

- SHENOY, V.V.; KALAGUDI, G.M. Enhancing plant phosphorus use efficiency for sustainable cropping. **Biotechnology Advances**, v. 23, p. 501-513, 2005.
- SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 4, p. 289-302, 1981.
- SILVA, F.C.; BASSO, L.C. Avaliação da atividade in vivo da fosfatase ácida da folha na diagnose da nutrição fosfórica em cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 17, p. 371-375, 1993.
- SINCLAIR, T.R.; VADEZ, V. Physiological traits for crop yield improvement in low N and P environments. **Plant and Soil**, v. 245, p. 1-45, 2002.
- SKINNER, P.W.; MATTHEWS, M.A.; CARLSON, R.M. Phosphorus requirement of wine grapes: extractable phosphate of leaves indicates phosphorus status. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 112, p. 449-454, 1987.
- SORGONA, A.; ABENAVOLI, M.R.; GRINGERI, P.G.; CACCO, G. A comparison of nitrogen use efficiency definition in *Citrus* rootstocks. **Scientia Horticulturae**, v. 109, p. 389-393, 2006.
- SPEIR, T.W.; COWLING, J.C. Phosphatase activities of pastures plants and soils: relationship with plant productivity and soil P fertility indices. **Biology and Fertility of Soils**, v. 12, p. 189-194, 1991.
- SWIADER, J.M.; CHYAN, Y.; FREIJI, F.G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, v. 17, p. 1687-1699, 1994.
- SYVERTSEN, J.P.; GRAHAM, J.H. Phosphorus supply and arbuscular mycorrhizae increase growth and net gas exchange responses of two *Citrus* spp. grown at elevated [CO₂]. **Plant and Soil**, v. 208, p. 209-219, 1999.
- THEODORU, M.E.; PLAXTON, W.C. Metabolic adaptations of plant respiration to nutritional phosphate deprivation. **Plant Physiology**, v. 101, p. 339-344, 1993.
- TOMSCHA, J.L.; TRULL, M.C.; DEIKMAN, J.; LYNCH, J.P.; GUILTINAN, M.J. Phosphatase under-producer mutants have altered phosphorus relations. **Plant Physiology**, v. 135, p. 334-345, 2004.
- URICH, R.; CORONEL, I.; SILVA, D.; CUBEROS, M.; WULFF, R.D. Intraspecific variability in *Commelina erecta* response to phosphorus addition. **Canadian Journal of Botany**, v. 81, p. 945-955, 2003.

- WISSUWA, M.; GAMAT, G.; ISMAIL, A.M. Is root growth under phosphorus deficiency affected by source or sink limitations? **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1943-1950, 2005.
- YAN, X.; LIAO, H.; TRULL, M.C.; BEEBE, S.E.; LYNCH, P. Induction of a major leaf acid phosphatase does not confer adaptation to low phosphorus availability in common bean. **Plant Physiology**, v. 125, p. 1901-1911, 2001.
- YUN, S.J.; KEPLER, S.M. Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorus starvation, **Plant and Soil**, v. 237, p. 109-115, 2001.

5. CRESCIMENTO INICIAL E NUTRIÇÃO DE PLANTAS JOVENS DE LARANJEIRA EM FUNÇÃO DO PORTA-ENXERTO E LOCALIZAÇÃO DA ADUBAÇÃO COM FÓSFORO

Resumo

No manejo da adubação e nutrição de plantas cítricas, persistem questionamentos sobre a melhor forma de distribuição do fertilizante fosfatado no solo por ocasião da instalação dos pomares. Além disso, a magnitude de respostas de plantas de laranjeira ao suprimento de fósforo (P) tem se mostrado dependente da combinação copa/porta-enxerto. Desta maneira, foi conduzido um experimento em condições de casa-de-vegetação, utilizando plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’ submetidas à doses (20, 40 ou 80 mg kg⁻¹ solo de P), que foram aplicadas em diferentes camadas de solo (0-0,28m ou 0,29-0,56 m). Durante o experimento, folhas maduras foram coletadas para quantificação da atividade da fosfatase ácida (AFAF) e teor de P total (Pt). Ao final de 12 meses de cultivo em contêineres, as plantas foram colhidas e separadas em folhas, ramos e raiz. Independentemente do porta-enxerto, as plantas responderam positivamente ao fornecimento do P em solo deficiente, com acréscimos correspondentes a 15,1% no acúmulo total de MS em relação ao tratamento sem adição de P. As plantas da combinação laranja ‘Pêra’/limão ‘Cravo’ produziram 11,1% e 7,8% mais MS de raízes e MS total, respectivamente, do que as plantas ‘Pêra’/tangerina ‘Cleópatra’. Além disso, as plantas desta última combinação absorveram somente 67% da quantidade de P determinada para ‘Pêra’/‘Cravo’. As plantas ‘Pêra’/‘Cleópatra’ foram caracterizadas como menos eficiente na absorção de P e com maiores valores de AFAF ao longo do período experimental, o que possivelmente refletiu a menor capacidade do sistema radicular destas plantas para a absorção de P e atender a demanda dos novos fluxos de crescimento pelo nutriente. A distribuição homogênea do fertilizante entre as camadas de solo, demonstrou ser um procedimento potencialmente benéfico para crescimento e nutrição fosfatada de plantas jovens de laranjeira. A mais baixa capacidade de aquisição de P pelas plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’ foi resultante da menor eficiência de absorção e crescimento absoluto do sistema radicular.

Palavras-chave: citros; nutrição mineral; fertilizante fosfatado; sistema radicular; deficiência por P.

GROWTH AND NUTRITION OF YOUNG CITROS TREES ACCORDING TO ROOTSTOCK VARIETY AND P FERTILIZER PLACEMENT

Abstract

There are still doubts about management of phosphorus fertilization in citrus orchards, mainly at the moment of plants establishment in the field. Moreover, the rootstocks have been an important component in determining citrus responses to P fertilization. A greenhouse experiment was carried out, in which 'Pêra' sweet orange on two rootstocks ('Rangpur' lime or 'Cleopatra' mandarin) were subjected to P rates (20, 40 or 80 mg P kg soil⁻¹) applied at different soil layers (0-0.28 m or 0.29-0.56 m). During the experiment mature leaves were sampled to quantify acid phosphatase activity and total P content. After 12 months, the plants were harvested and separated into leaves, stem and root system. Regardless of the rootstocks, the P fertilization was beneficial for plant growth. The P fertilized plants produced 15.1% more dry mass than unfertilized ones. The 'Pêra'/'Rangpur' plants had higher values of root and shoot dry mass as well total P accumulated and phosphorus uptake efficiency than 'Pêra'/'Cleopatra', that showed higher phosphatase acid activity (APA) in the leaves and accumulated only 67% of the total P determined in 'Pêra'/'Rangpur'. The higher APA of 'Pêra'/'Cleopatra' might have been related to lower capacity of its root system to uptake P and meet shoot demand. More uniform distribution of P fertilizer in the soil was an important practice to improve growth and P nutrition of young citrus trees. The lower phosphorus uptake efficiency and root growth of 'Pêra'/'Cleopatra' resulted in lower capacity of P acquisition than 'Pêra'/'Rangpur' plants.

Key-words: citrus; fertilization; rootstock; growth; mineral nutrition.

5.1. Introdução

O fósforo (P) é um nutriente limitante ao crescimento e produtividade das culturas em grande número de áreas cultivadas. Em função da carência generalizada de P nos solos brasileiros, a presença de sintomas visuais da deficiência deste nutriente e de resultados mostrando respostas a sua aplicação são comuns em pomares de laranja, o que possivelmente se explica por situações em que a disponibilidade do nutriente no solo está abaixo do nível crítico para a cultura. A fertilização com até 52 kg ha⁻¹ de P em plantas adultas de laranja ‘Pêra’ afetou positivamente a produção (t ha⁻¹) e o peso médio de frutos, além da porcentagem de suco e da relação sólidos solúveis/acidez (Sobral et al., 2003). Por outro lado, Quaggio et al. (2004) não constatarem efeito da adubação fosfatada sobre o crescimento (volume da copa) de plantas de laranja ‘Pêra’ enxertada sobre limão ‘Cravo’, o que foi atribuído aos teores já relativamente elevados de P no solo (22 mg dm⁻³). Em plantas adultas, as respostas à aplicação de P são de maior probabilidade em solos com teores de P menores do que 20 mg dm⁻³ (Quaggio et al., 1998).

Apesar dos importantes resultados sobre as respostas das plantas cítricas ao aumento da disponibilidade de P no solo por meio da fertilização, devido à busca por pomares mais vigorosos e produtivos, questionamentos ainda persistem sobre a melhor forma de distribuição da adubação fosfatada no sulco de plantio (melhor combinação entre dose e posicionamento do adubo). Qual seria a eficiência da aplicação de dose única na camada superficial do sulco de plantio, em relação ao seu parcelamento em duas profundidades (por exemplo, aos 0,25-0,30 e 0,50-0,60m)? Estes questionamentos são baseados em observações de campo, onde plantas jovens de laranjeira têm mostrado sintomas de deficiência por P (Mattos Jr. et al., 2005), o que deve caracterizar limitações ao desenvolvimento. Além disso, a demanda por P é relativamente maior nos primeiros anos após o plantio, porque as plantas exploram menor volume de solo e apresentam taxa de crescimento mais elevada do que a planta adulta (Quaggio et al., 2004, 2005). Uma opção para estudar o efeito do posicionamento do fertilizante sobre o crescimento e nutrição de citros, seria a condução de experimentos em condições controladas, como o cultivo em vasos, pois permite maior controle sobre a variação das formas de distribuição. Por exemplo, a influência das formas de aplicação de P no solo sobre o crescimento de mudas de *Eucalyptus pellita* em casa-de-vegetação foi estudada por Leite et al. (2009). Os autores verificaram que a produção de MS da parte aérea foi altamente influenciada pela forma de localização do P no solo e apresentou baixa relação com a quantidade total do nutriente aplicada no vaso.

As respostas de plantas cítricas à adubação fosfatada têm se mostrado dependente da combinação copa/porta-enxerto. Em resultados de experimentação de campo, foi observado que na fase de formação, a resposta da laranjeira à adubação com P foi maior para aquelas copas enxertadas em tangerina ‘Cleópatra’ (*C. reshni* hort. ex Tanaka) em comparação àquela em limão ‘Cravo’ ou citrumelo ‘Swingle’ [*C. paradisi* Macfad. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] (Mattos et al., 2006). Deste modo, ajustes nas doses de fertilizantes poderiam ser feitos em função do PE empregado. Apesar destas constatações, os mecanismos relacionados a estas diferenças ainda são poucos conhecidos, e provavelmente estão associados à capacidade de aquisição de P pelo PE, a qual deve ser mais importante em ambientes com disponibilidade restrita do nutriente.

Além da avaliação dos parâmetros de crescimento das plantas, medidas sensíveis para detectar a disponibilização de P pelo PE à parte aérea, seriam importantes para ampliar o entendimento da interação copa x porta-enxerto. A análise da composição mineral de tecidos foliares é um procedimento frequentemente empregado, por apresentar boa correlação entre a quantidade de nutriente aplicada e a concentração nas folhas. Contudo, muitas vezes, a análise química do tecido vegetal não identifica certos desbalanços nutricionais (Besford, 1979). Segundo este autor, uma alternativa para esta limitação seria a medida de atividade de enzimas que são influenciadas pelo elemento em questão. Para o P, a atividade da fosfatase ácida nas folhas (AFAF) tem se destacado como alternativa para auxiliar na avaliação do estado nutricional de várias culturas, como tomate (Besford, 1978), eucalipto (O’Connell & Grove, 1985), milho (Elliott & Läuchli, 1986), feijão e algodão (Ascencio, 1994), cana-de-açúcar (Silva & Basso, 1993) e soja (Raposo et al., 2004). Considerando a sua sensibilidade em detectar a deficiência por P (Elliott & Läuchli, 1986), a AFAF seria ferramenta interessante para auxiliar no entendimento de respostas das combinações copa/porta-enxerto à disponibilidade de P.

O desenvolvimento do trabalho foi alicerçado na seguinte hipótese: a forma de distribuição e dose do fertilizante fosfatado no solo e o porta-enxerto afetariam o crescimento e a nutrição por fósforo da laranjeira. Neste contexto, o objetivo proposto foi avaliar em condições controladas o efeito do porta-enxerto, das doses e formas de distribuição do fertilizante fosfatado sobre o crescimento inicial e a nutrição de plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’.

5.2. Material e Métodos

5.2.1. Coleta, correção da acidez do solo e definição das doses de fósforo aplicadas ao solo

O solo empregado no estudo, Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico típico (EMBRAPA, 1999), foi proveniente da área experimental localizada na fazenda Santa Elisa, pertencente ao Instituto Agrônômico (IAC), no município de Campinas-SP. A coleta foi realizada de forma manual em área recoberta com gramíneas (*Brachiaria decumbens*), retirando-se o solo contido na camada de 0-0,25 m. O solo foi acondicionado em sacos de rafia e transportado para casa-de-vegetação, onde foi passado através de peneira com malha de 4 mm de diâmetro, e deixado secar ao ar livre – terra fina seca ao ar (TFSA). Neste momento, foram retiradas amostras para caracterização química (Raij et al., 2001) e física (Camargo et al., 1986) (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Características químicas do solo na camada de 0-0,25 m usado para a instalação do experimento.

pH	H + Al	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	CTC	S	P	B	Cu	Fe	Mn	Zn	V
-----mmol _c dm ⁻³ -----						-----mg dm ⁻³ -----								%
4,3	38	5	7	3	1,0	49,0	14	3	0,29	2,3	65	3,3	0,5	22

Tabela 2. Características físicas do solo na camada de 0-0,25 m usado para a instalação do experimento.

Areia	Silte	Argila
-----g kg ⁻¹ -----		
617	50	333

A correção da acidez e fornecimento de cálcio e magnésio foi realizada mediante a aplicação de calcário (PRNT = 102,8%), para elevação da saturação por bases a 70%. O calcário foi misturado manualmente com a TFSA, e em seguida acondicionado em sacos plásticos de coloração escura. Posteriormente, foi aplicado volume de água deionizada para manter a umidade a 80-85% da capacidade de campo, repondo-se a água sempre que necessário, com base em monitoramento realizado por meio de pesagens a cada cinco dias. O solo permaneceu em incubação por aproximadamente 60 dias. Após esta etapa, o solo foi deixado secar na casa-de-vegetação e novamente peneirado.

O solo utilizado no presente estudo apresentava teor muito baixo de P (3 mg dm⁻³ de P), segundo os critérios apresentados em Quaggio et al. (2005). A dose básica de P, de modo que fosse atingido o nível crítico (NC) no solo para plantas de citros em produção foi previamente definida, o qual, segundo Quaggio et al. (1998, 2005), está ao redor de 20 mg dm⁻³ de P. As demais doses foram

definidas a partir desta, obtendo-se os seguintes tratamentos: i) controle - sem aplicação de P (P_0); ii) dose 1 - metade da dose recomendada para elevar o teor de P ao nível crítico ($P_{0,5} = 10 \text{ mg dm}^{-3}$ de P); iii) dose 2 - recomendada para elevar o teor de P ao nível crítico ($P_1 = 20 \text{ mg dm}^{-3}$ de P); iv) dose 3 - dobro da dose 1 ($P_2 = 40 \text{ mg dm}^{-3}$ de P). Apesar de se trabalhar com plantas em estágio de mudas e o cultivo em vasos (contêineres contendo 200 kg de solo), o NC estabelecido para plantas adultas em condições de campo foi mantido. O referido procedimento foi adotado porque o desempenho destas plantas em tais níveis de disponibilidade, forneceria indicativos da aplicabilidade ou não destes valores para interpretação do nível de fertilidade do solo em pomares recém-instalados, e principalmente, criar um ambiente favorável para que possíveis diferenças entre os PE para o cultivo em solos deficientes por P, fossem manifestadas.

A quantidade de P a ser adicionada ao solo, de modo que fossem atingidos os respectivos teores, foi obtida a partir de uma curva prévia de incubação. Para a construção da curva, o mesmo solo usado no experimento foi acondicionado em copos plásticos, com aplicação de quantidades crescentes do nutriente na forma de fosfato monoamônico (MAP), que apresenta 60% de P_2O_5 . Os recipientes foram deixados no laboratório à sombra durante 90 dias. Durante este período, a umidade do solo foi mantida a 80-85% da capacidade de campo por meio de pesagens diárias dos recipientes e adição de água deionizada quando necessário. Ao final, o solo foi destorroado e passado através de peneira com malha de 2 mm de diâmetro, para análise de P segundo Raij et al. (2001). Foi então, obtida uma relação entre a quantidade aplicada de P e o teor extraído do nutriente após o período de incubação: $\hat{y}$ (teor de P no solo, mg dm^{-3}) = $1,19x$ (dose MAP, $\text{mg MAP } 100\text{g de solo}^{-1}$) + 1,81; $R^2 = 0,99$; $n = 5$.

A partir do modelo gerado, as seguintes quantias de P foram aplicadas para obtenção dos teores previamente definidos: P_0 - sem adição de P ao solo; $P_{0,5}$ - 20 mg P kg solo^{-1} ; P_1 - 40 mg P kg solo^{-1} e P_2 - 80 mg P kg solo^{-1} . Os tratamentos consistiram da distribuição destas doses em cinco maneiras diferentes (Tabela 3), combinadas com a variedade de laranja 'Pêra' enxertada sobre dois porta-enxertos. Assim, cada tratamento, foi formado à partir da acomodação de duas camadas de solo (0 a 0,28 m – superficial, e 0,29 a 0,56 - profundidade), contendo cada uma 100 kg de solo, que receberam quantidades variáveis do nutriente. O arranjo dos tratamentos foi proposto de modo a contemplar possíveis formas de distribuição do fertilizante fosfatado no sulco de plantio no momento de instalação dos pomares.

5.2.2. Instalação e condução do experimento

Após a definição das doses de P a serem aplicadas, quantidades variáveis de MAP (Tabela 3), foram misturadas em lotes 10-15 kg de TFSA, até que os 100 kg de solo em cada camada fossem obtidos. Para melhor homogeneidade na distribuição do fertilizante junto ao solo, procedeu-se à mistura manual, mediante agitações de sacos plásticos. Neste mesmo momento foi realizada adubação boratada de plantio, com o uso de ácido bórico (H_3BO_3 , 17% de B) para elevar o teor deste micronutriente no solo a $0,7 \text{ mg dm}^{-3}$. A quantidade de nitrogênio amoniacal (NH_4^+) fornecido pelo MAP, foi balanceada com o fornecimento de cloreto de amônio (NH_4Cl), de modo a ser aplicada a mesma quantidade de N. Imediatamente após a mistura entre o solo corrigido e o fertilizante fosfatado, ocorreu o enchimento dos contêineres de acordo com os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Organização das doses e formas de aplicação de fósforo (tratamentos) aos contêineres preenchidos com duas camadas de solos.

Camadas no contêiner ⁽¹⁾	Tratamentos de P				
	P_0/P_0	P_1/P_0	$P_{0,5}/P_{0,5}$	P_2/P_0	P_1/P_1
	----- Quantidade de P aplicada (mg kg^{-1} de solo) -----				
Superficial	n.a.	40	20	80	40
Profundidade	n.a.	n.a.	20	n.a.	40

⁽¹⁾Cada camada foi constituída por 100 kg de solo, fazendo com que cada uma apresentasse altura aproximada de 0,28 m no interior do contêiner. n.a.: não adição de P ao solo (teor orgininal de P equivalente à 3 mg dm^{-3}).

O experimento foi conduzido em condições de casa-de-vegetação, no período de outubro de 2007 a novembro de 2008. As mudas de laranja ‘Pêra’ [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] enxertada em dois porta-enxertos: limão ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osbeck) e tangerina ‘Cleópatra’ (*Citrus reshni* hort. ex Tanaka), foram transplantadas para os contêineres contendo 200 kg de solo. O delineamento experimental utilizado foi em esquema fatorial 5×2 (tratamentos de P x porta-enxertos), distribuídos num delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, totalizando 30 unidades experimentais, cada qual formada por um contêiner contendo uma planta. Foram utilizadas plantas em estágio equivalente àquele de transplante para o campo. Antes do transplante, a parte inferior (3-4 cm) dos sacos plásticos que abrigavam as mudas foi cortada para retirada das raízes que pudessem estar enoveladas. Em seguida, o sistema radicular foi rapidamente mergulhado num recipiente contendo solução de oxicloreto de cobre (2 g L^{-1}).

O monitoramento da umidade do solo foi realizado por meio de tensiômetros instalados nos contêineres. A instalação ocorreu para as camadas de 0-0,2 m e 0,2-0,4 m, objetivando um melhor manejo da irrigação, com maior homogeneidade na distribuição da água. A irrigação foi realizada manualmente, aplicando-se água deionizada na superfície do solo, sempre que os valores de umidade

do solo chegavam próximo àquele apontado como crítico para a cultura do citros (potencial de água de -40 kPa) (Pires et al., 2005). Para auxiliar neste monitoramento, foi realizada uma curva de retenção de água (Camargo et al., 1986), que relaciona tensão e umidade do solo (Figura 1). A partir desta curva, foram definidas as quantidades de água adicionadas nos contêineres.

O manejo da adubação foi conduzido de acordo com Quaggio et al. (2005). A quantidade total de nutrientes aplicados correspondeu aproximadamente a 90 g de N e 30 g de K₂O planta⁻¹ ano⁻¹. A adubação foi dividida em aplicações de intervalos de 7-10 dias, empregando-se como fontes, o nitrato de cálcio, nitrato de magnésio, nitrato de amônio e sulfato de potássio, aplicados via solução nutritiva (fertirrigação). A adubação com micronutrientes, após duas aplicações foliares iniciais (Quaggio et al., 2005), foi feita via fertirrigação, utilizando-se fontes quelatadas de micronutrientes e de composição semelhante daquela recomendada por Furlani et al. (1999), sendo realizada juntamente com a fertilização nitrogenada e potássica.

Para o controle de pragas (ácaros, insetos), sempre que necessário e de modo preventivo, foram feitas aplicações de inseticidas sistêmicos e/ou de contato.

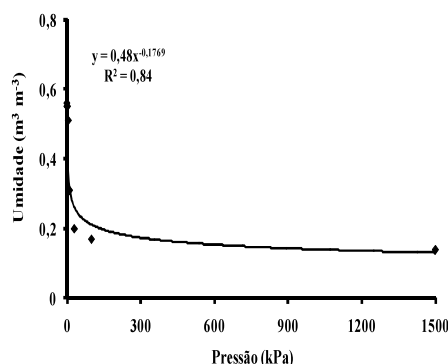


Figura 1. Curva de retenção de água obtida em amostras deformadas do solo empregado na instalação do experimento em casa-de-vegetação.

5.2.3. Análises no tecido vegetal

5.2.3.1. Coleta das folhas

Com a intenção de monitorar as respostas das plantas aos tratamentos de P ao longo do tempo, foram feitas três coletas de folhas fisiologicamente maduras (Fernandes et al., 2000) durante o todo o período experimental. A primeira coleta foi realizada aos 150 dias do transplântio, enquanto a segunda

ocorreu noventa dias mais tarde, e a terceira aos 330 dias após o transplante. Para todas as coletas foi quantificada a atividade da fosfatase ácida (AFAF) e o teor total de fósforo (Pt).

Em cada planta, coletaram-se 6-8 folhas completamente desenvolvida (3-4 pares de folhas a partir da ponta do ramo). Após a coleta, as mesmas foram acondicionadas em sacos plásticos, colocadas em isopor com gelo e imediatamente levadas ao laboratório para a determinação da atividade da AFA. Em seguida, o tecido foliar foi lavado, acondicionado em sacos de papel e deixados no interior de estufa a 65°C durante 72 h. As amostras foram trituradas em almofariz e passadas em peneira com malha de 1 mm de diâmetro e, por fim guardadas em frascos de vidro hermeticamente fechados até a realização da análise de Pt.

5.2.3.2. Atividade da fosfatase ácida nas folhas

A determinação da atividade da fosfatase ácida *in vivo* foi realizada segundo os procedimentos de Besford (1980) e Elliott & Lauchli (1986), conforme descritos no item 4.2.5.

5.2.4. Coleta do experimento

Por ocasião da coleta do experimento (360 dias após o transplante das plantas para os contêineres), a parte aérea (PA) foi separada em folhas (novas, maduras e velhas) e ramos (tronco principal e ramificações secundárias). Com auxílio de uma régua foi avaliado o comprimento total de ramos em cada planta (CTRM, cm planta⁻¹). O diâmetro do tronco (cm) abaixo do ponto de enxertia (aproximadamente 5 cm) foi determinado com auxílio de paquímetro. As várias partes das plantas foram levadas ao laboratório para lavagem em água corrente e deionizada, seguindo-se o acondicionamento em sacos de papel, os quais foram colocados no interior de estufa, com circulação forçada de ar a 65°C durante 72 h. Após esta etapa, as partes foram pesadas separadamente para determinar a produção de massa seca total de folhas (MSF), de ramos (MSRM) e por fim da parte aérea (MSPA).

Após a coleta da PA, procederam-se imediatamente os trabalhos com o sistema radicular. A separação das raízes do solo foi realizada com um auxílio de uma peneira com malha de 4 mm de diâmetro, de modo que todo o solo contido em cada contêiner (200 kg) foi passado através da mesma. Este procedimento foi escolhido com intenção de alcançar maior acurácia na separação e quantificação da massa seca do sistema radicular (MSR) das plantas. Com os dados de produção de massa seca da PA (ramos + folhas) e total do sistema radicular, foi calculada a relação raiz/parte aérea (g g⁻¹), bem como a massa seca total da planta (MSTP, g planta⁻¹).

A determinação do teor de P no tecido vegetal foi realizada de acordo com os procedimentos em Bataglia et al. (1983) e Malavolta et al. (1997), como apresentado no item 4.2.4. A partir do produto entre os dados de produção de MS e do teor do nutriente nas diferentes partes das plantas, calculou-se o acúmulo total de P (mg planta^{-1} de P).

5.2.5. Estimativa da absorção de P pelas plantas

Imediatamente antes do transplante das mudas de laranjeira para os contêineres, três plantas representativas de cada combinação copa/porta-enxerto foram selecionadas e separadas em folhas, ramos e sistema radicular. Nestas partes foi determinado o acúmulo de MS, e o teor de P. De posse destes resultados, calculou-se o P acumulado nestas plantas (mg planta^{-1} de P). Ao final do experimento, este valor foi subtraído do P total acumulado nas plantas transplantadas para os contêineres, obtendo-se deste modo, a estimativa do P absorvido ao longo de 12 meses por diferentes combinações copa/porta-enxerto crescidas em variada disponibilidade do nutriente no solo.

A eficiência de absorção de fósforo (EAP, mg g^{-1}) também foi calculada: $\text{EAP} = (\text{conteúdo total do nutriente na planta, mg planta}^{-1} \text{ de P}) / (\text{MS do sistema radicular, g planta}^{-1})$ (Swiader et al., 1994).

5.2.6. Análise dos resultados

Os dados foram submetidos à análise de variância num esquema inteiramente casualizado. Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade, enquanto os porta-enxertos pelo teste F. Foram estabelecidas análises de correlações simples entre variáveis previamente selecionadas.

5.3. Resultados

5.3.1. Crescimento de plantas jovens de laranjeira

A produção de MSF, MSR, MSPA e a MSTP foi influenciada pelos tratamentos de P (Tabela 4) e pelos PE (Tabela 5), sem ocorrer interação. O comprimento total e MS de ramos variaram somente em função dos tratamentos de P, com menores valores para o controle (P_0/P_0) e maiores para P_2/P_0 e P_1/P_1 (Tabela 4). Os incrementos máximos de MS em relação ao P_0/P_0 corresponderam à 35,5; 21,6; 27,9; 21,7 e 15,1% para as folhas, ramos, parte aérea, sistema radicular e da planta toda, respectivamente, com ganhos mais elevados para o P_2/P_0 e P_1/P_1 . Por outro lado, o P_1/P_0 somente em relação ao acúmulo de MS do sistema radicular diferiu do P_0/P_0 .

Ao comparar as mesmas doses de P (mg planta^{-1} de P) concentrada na superfície (0-0,28 m), ou distribuída igualmente entre as duas camadas de solo nos contêineres (P_1/P_0 vs $P_{0,5}/P_{0,5}$ ou

P_2/P_0 vs P_1/P_1), verificou-se que não houve diferença sobre o crescimento final das laranjeiras (Tabela 4). Contudo, maiores acréscimos na produção de MS em relação ao tratamento controle foram obtidos quando a mesma dose do fertilizante foi parcelada em duas camadas (0-0,28 m e 0,29-0,56 m). Quando a mesma quantidade total de P utilizada no P_1/P_0 foi dividida em duas camadas (tratamento $P_{0,5}/P_{0,5}$), além de acréscimos no crescimento do sistema radicular, foram observados ganhos para a MSF, MSPA e MSTP.

O efeito positivo da distribuição da mesma dose de P entre duas camadas de solo em relação à deposição do nutriente de 0-0,28 m, também foi visualizado quando foram estabelecidas as seguintes comparações: P_1/P_0 vs P_2/P_0 e P_1/P_0 vs P_1/P_1 . Observou-se maiores respostas na produção de MS quando o dobro da dose foi alocada em duas camadas, ou seja, o ganho na produção de MSTP, quando o P_1/P_0 foi comparado com o P_1/P_1 , foi mais alto do que aquele obtido na comparação entre P_1/P_0 e P_2/P_0 (Tabela 4). Além disso, com a metade da dose dividida em duas camadas, foram conseguidas produções semelhantes de MSF e MSPA em relação ao dobro da quantidade de P concentrado na camada superior, o que foi notado mediante comparação entre $P_{0,5}/P_{0,5}$ e P_2/P_0 . Esses resultados indicaram que a distribuição mais homogênea do fertilizante entre as camadas de solo, contribuiu para maximizar a resposta de crescimento das plantas cítricas jovens ao suprimento de P em solo deficiente.

Tabela 4. Comprimento total de ramos e a produção de massa seca de diferentes partes de mudas de laranjeira ‘Pêra’, aos doze meses após o transplantio, submetidas a diferentes doses e formas de aplicação de fósforo ao solo.

Tratamentos de P	CTRM	MSF	MSRM	MSPA	MSR	MSTP
	cm planta ⁻¹	----- g planta ⁻¹ -----				
P_0/P_0	433,0 c	73,0 d	92,5 b	165,3 c	104,0 b	269,6 c
P_1/P_0	509,7 ab	79,4 cd	99,3 ab	178,8 bc	118,7 a	297,4 bc
$P_{0,5}/P_{0,5}$	485,6 b	88,1 bc	100,6 ab	188,7 b	121,7 a	310,4 ab
P_2/P_0	538,8 a	92,1 ab	105,1 ab	192,2 ab	125,7 a	321,9 ab
P_1/P_1	541,4 a	98,0 a	112,5 a	211,4 a	126,5 a	337,8 a

Tratamentos de P (doses e formas de distribuição do P ao solo): P_0/P_0 = sem adição de P; P_1/P_0 : 40 mg P kg⁻¹ de solo na primeira camada e sem adição de P na segunda camada; $P_{0,5}/P_{0,5}$ = 20 mg P kg⁻¹ de solo na primeira e segunda camada; P_2/P_0 = 80 mg P kg⁻¹ de solo na primeira camada e sem adição de P na segunda camada; P_1/P_1 = 40 mg P kg⁻¹ de solo na primeira e segunda camada. As médias acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem pelo teste de Duncan a 5%. Os valores representam a média das duas combinações copa/porta-enxertos. CTRM: comprimento total de ramos; MSF: massa seca total de folhas; MSRM: massa seca total de ramos; MSPA: massa seca total da parte aérea; MSR: massa seca total do sistema radicular; MSTP: massa seca total da planta.

A relação raiz/parte aérea não foi influenciada pelos tratamentos, obtendo-se um valor médio de $0,64 \pm 0,07$ (n = 30); significando que independente da disponibilidade de P e do PE, o acúmulo de MS

no sistema radicular correspondeu a 64% daquele da PA. O diâmetro do tronco também não sofreu variação, obtendo-se um valor médio de $1,70 \pm 0,12$ cm ($n = 30$).

Os PE influenciaram o crescimento das plantas jovens de laranjeira (Tabela 5). Na média dos tratamentos de P, as plantas de ‘Pêra’/‘Cravo’ mostraram produção mais elevada na ordem de 8,4; 6,9; 11,1 e 7,8%, para MSF, MSR, MSPA e MSTP, respectivamente, em relação à combinação ‘Pêra’/‘Cleópatra’.

5.3.2. Estado nutricional e absorção de fósforo por plantas jovens de laranjeira

Em nenhuma das amostragens foi constatada interação entre tratamentos de P e PE sobre o teor foliar de Pt. O PE afetou o teor do nutriente exclusivamente por ocasião da primeira amostragem, quando as plantas enxertadas em limão ‘Cravo’ apresentaram teor de Pt 12,5% superior ao encontrado nas folhas das plantas sobre tangerina ‘Cleópatra’ (Tabela 6).

Tabela 5. Produção de massa seca de diferentes partes de plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre dois porta-enxertos, aos doze meses após o transplântio.

Copa/porta-enxerto	MSF	MSPA	MSR	MSTP
	----- g planta ⁻¹ -----			
‘Pêra’/‘Cleópatra’	82,6 b	182,8 b	113,3 b	296,1 b
‘Pêra’/‘Cravo’	89,6 a	193,4 a	125,9 a	319,3 a

As médias acompanhadas por letras iguais na mesma coluna não diferem pelo teste F a 5%. Os valores representam a média dos tratamentos de P. MSF: massa seca total de folhas; MSPA: massa seca total da parte aérea; MSR: massa seca total do sistema radicular; MSTP: massa seca total da planta.

Na primeira amostragem, somente os tratamentos P_1/P_0 e P_1/P_1 elevaram o teor de Pt nas folhas em relação ao controle, não sendo observada diferença entre os demais tratamentos (Tabela 7). Entretanto, na segunda amostragem o incremento do Pt em relação ao controle foi exclusivo para P_1/P_1 , o qual continuou não diferindo dos tratamentos P_1/P_0 e P_2/P_0 (Tabela 7).

Por ocasião da terceira amostragem, nenhuma diferença entre os tratamentos foi observada para o teor foliar de Pt (Tabela 7). De maneira geral, as plantas apresentaram deficiência severa do elemento. Sintomas visuais da deficiência de P foram observados nas plantas aos 6-7 meses após o transplântio, mesmo nos tratamentos em que houve a aplicação do nutriente. O sintoma se tornou mais acentuado no decorrer do experimento, o qual foi caracterizado pela necrose, enrolamento e queda das folhas na base dos ramos secundários. Estas observações estão de acordo com os sintomas encontrados para plantios novos em solos com baixos teores disponíveis de P (Mattos Jr. et al., 2005). É válido destacar ainda, que o sintoma surgiu primeiramente e em maior intensidade nas plantas ‘Pêra’/‘Cleópatra’, e que não receberam a fertilização fosfatada.

Relação positiva entre o teor foliar de Pt e o acúmulo total de MS pelas mudas de laranja 'Pêra' foi obtida para a primeira amostragem de folhas (Figura 2). Esta relação forneceu indicativos de que o Pt determinado aos cinco meses do transplântio das mudas, afetou diretamente o acúmulo de MS das plantas após período de um ano de crescimento, podendo deste modo, ser usado como estimativa do desempenho das plantas jovens ao longo do tempo. Além disso, a quantidade de P acumulada nas plantas foi positivamente relacionado com a MSTP ao final do experimento (Figura 2), indicando em termos médios, que cada 1 mg de P acumulado no tecido vegetal correspondeu à 1,20 g de MS na planta inteira.

Tabela 6. Variação do teor total de fósforo (Pt) nas folhas maduras de laranja 'Pêra' enxertada sobre dois porta-enxertos, em três épocas de amostragem (Am).

Épocas de amostragens ⁽¹⁾	Pt foliar	
	'Pêra'/'Cleópatra'	'Pêra'/'Cravo'
	----- g kg ⁻¹ -----	
Am 1	0,88 b	0,99 a
Am 2	0,59 a	0,60 a
Am 3	0,58 a	0,59 a

⁽¹⁾Am 1, Am 2 e Am 3 foram realizadas aos 150, 240 e 330 dias após o transplântio, respectivamente. As médias acompanhadas por letras iguais na mesma linha não diferem pelo teste F a 5%. Os valores representam a média dos tratamentos de P.

Tabela 7. Efeito dos tratamentos de fósforo sobre o teor total do nutriente (Pt) nas folhas maduras de plantas jovens de laranja 'Pêra', em três épocas de amostragem (Am).

Tratamentos de P	Amostragens ⁽¹⁾		
	Am 1	Am 2	Am 3
	----- Pt (g kg ⁻¹) -----		
P ₀ /P ₀	0,82 b	0,54 b	0,55 a
P ₁ /P ₀	1,01 a	0,59 ab	0,55 a
P _{0,5} /P _{0,5}	0,87 ab	0,54 b	0,57 a
P ₂ /P ₀	0,92 ab	0,58 ab	0,61 a
P ₁ /P ₁	1,02 a	0,61 a	0,60 a

Tratamentos de P (doses e formas de distribuição do P ao solo): P₀/P₀ = sem adição de P; P₁/P₀: 40 mg P kg⁻¹ de solo na primeira camada e sem adição de P na segunda camada; P_{0,5}/P_{0,5} = 20 mg P kg⁻¹ de solo na primeira e segunda camada; P₂/P₀ = 80 mg P kg⁻¹ de solo na primeira camada e sem adição de P na segunda camada; P₁/P₁ = 40 mg P kg⁻¹ de solo na primeira e segunda camada.⁽¹⁾Am 1, Am 2 e Am 3 foram realizadas aos 150, 240 e 330 dias após o transplântio, respectivamente. As médias acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem pelo teste de Duncan a 5%. Os valores representam a média das combinações copa/porta-enxerto.

Mesmo não sendo observada diferença nos teores foliares de Pt ao final do experimento, para a absorção total do nutriente pelas plantas foi detectada interação entre PE e tratamentos de P (Tabela 8). Exceto para o P₁/P₀ nas plantas de 'Pêra'/'Cravo', houve aumento na quantidade absorvida do nutriente em relação ao controle, com maiores incrementos para o P₁/P₁. Por exemplo, para 'Pêra'/'Cleópatra', houve aumento de 147% no P absorvido. Quando foram comparadas as plantas 'Pêra'/'Cleópatra' vs

‘Pêra’/‘Cravo’, maiores acúmulos de P foram observadas para as últimas, com destaque para o tratamento controle, em que houve 126,2% mais P absorvido ao longo de 12 meses.

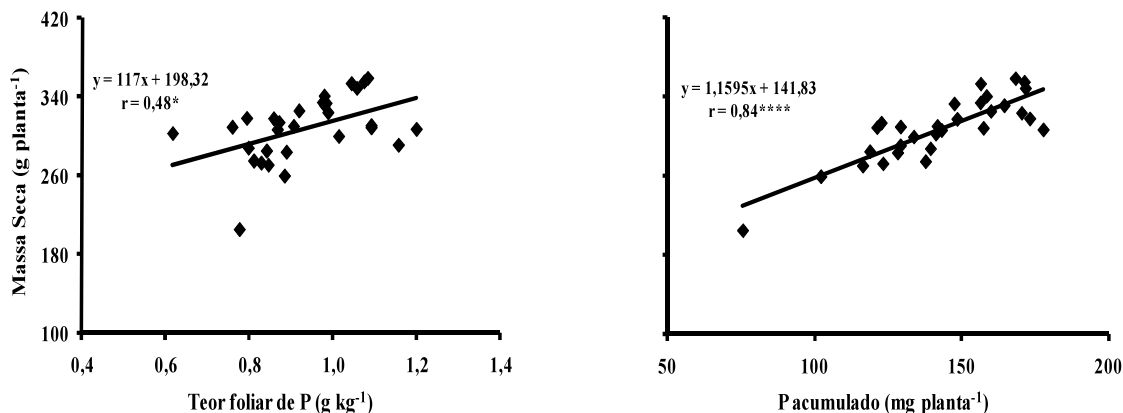


Figura 2. Relação entre o teor foliar de P aos cinco meses do transplantio (à esquerda) e o P acumulado na planta (à direita) com a MST da laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, após 12 meses de cultivo (n = 30). * $P < 0,05$; **** $P < 0,0001$.

A eficiência de absorção de P (EAP) foi afetada pelo PE e tratamentos de P (Tabela 8), sendo o maior valor determinado para as plantas do tratamento P_1/P_1 , o qual foi o único a diferir do controle. De maneira geral, a distribuição do P em duas camadas fez com que a EAP fosse incrementada. Na média dos tratamentos de P, a EAP para plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’ correspondeu à 0,65 mg g MS de raiz⁻¹ de P, enquanto a combinação ‘Pêra’/‘Cravo’, a EAP foi 33,9% superior ($P < 0,05$). Por outro lado, a eficiência de utilização total de P (EUP, produção de biomassa pela planta por unidade de P acumulado) não foi alterada entre os tratamentos de P ou PE, obtendo-se EUP médio equivalente à $671,8 \pm 73,3 \text{ g}^2 \text{ MS mg}^{-1} \text{ de P}$ (n = 30).

5.3.3. Atividade da fosfatase ácida nas folhas de laranjeira

A atividade da fosfatase ácida nas folhas maduras (AFAF) da laranjeira ‘Pêra’ não foi influenciada pelos tratamentos de P, sendo detectado somente efeito do PE, com maior atividade para a combinação ‘Pêra’/‘Cleópatra’. Em valores médios, a AFAF destas plantas foi 38%, 43% e 28% maior do que ‘Pêra’/‘Cravo’, para a primeira, segunda e terceira amostragem, respectivamente (Tabela 9).

O teor foliar de Pt e a AFAF não foram significativamente correlacionados ($P > 0,05$) em nenhuma das amostragens realizadas. Entretanto, ao longo do tempo, observou-se aumento da atividade da enzima nas folhas madura da laranjeira em ambas as combinações, o que provavelmente esteve ao menos em parte, relacionado ao agravamento da deficiência por P, incrementando deste modo, a

necessidade de reciclagem do nutriente de órgãos mais velhos para atender a demanda dos novos fluxos de crescimento (sistema radicular e parte aérea).

Tabela 8. Absorção total e eficiência de absorção de fósforo (EAP) por plantas laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre dois porta-enxertos, para variadas formas de aplicação de P no solo, aos 12 meses após o transplântio.

Tratamentos de P	Absorção de P		EAP ⁽¹⁾ mg g MS de raiz ⁻¹ de P
	‘Pêra’/‘Cleópatra’	‘Pêra’/‘Cravo’	
	----- mg planta ⁻¹	-----	
P ₀ /P ₀	41,81 cB	94,56 bA	0,61 b
P ₁ /P ₀	70,43 bA	85,09 bA	0,64 b
P _{0,5} /P _{0,5}	68,07 bB	112,36 aA	0,77 ab
P ₂ /P ₀	80,54 bB	121, 41 aA	0,82 ab
P ₁ /P ₁	103,26 aB	126,84 aA	0,94 a

Tratamentos de P (doses e formas de distribuição do P ao solo): P₀/P₀ = sem adição de P; P₁/P₀: 40 mg P kg⁻¹ de solo na primeira camada e sem adição de P na segunda camada; P_{0,5}/ P_{0,5} = 20 mg P kg⁻¹ de solo na primeira e segunda camada; P₂/ P₀ = 80 mg P kg⁻¹ de solo na primeira camada e sem adição de P na segunda camada; P₁/P₁ = 40 mg P kg⁻¹ de solo na primeira e segunda camada. As médias acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna, não diferem pelo teste de Duncan a 5%. As médias acompanhadas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem pelo teste F a 5%.

⁽¹⁾ Os valores representam a média das duas combinações copa/porta-enxerto.

Tabela 9. Atividade da fosfatase ácida nas folhas maduras (AFAF) de laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre dois porta-enxertos, em três épocas de amostragens (Am).

Amostragens	AFAF	
	‘Pêra’/‘Cleópatra’	‘Pêra’/‘Cravo’
	----- μmol nitrofenol min ⁻¹ g ⁻¹ de folha	-----
Am 1	0,48 a	0,34 b
Am 2	1,03 a	0,72 b
Am 3	1,30 a	1,01 b

⁽¹⁾ Am 1, Am 2 e Am 3 foram realizadas aos 150, 240 e 330 dias após o transplântio, respectivamente. As médias acompanhadas por letras iguais na mesma linha não diferem pelo teste F a 5%. Os valores representam a média dos tratamentos de P.

5.4. Discussão dos Resultados

5.4.1. Crescimento das plantas, estado nutricional e acúmulo de fósforo

Os aumentos de MS da PA e do sistema radicular das plantas jovens de laranjeira com a aplicação de P, confirmaram o papel do nutriente para o estabelecimento destas plantas (Cruz et al., 1971; Sena et al., 2004; Prado et al., 2008), como também para outras espécies frutíferas (Corrêa et al., 2002; Corrêa et al., 2003; Melo et al., 2005) e florestais (Resende et al., 1999; Fernandes et al., 2000; Neves et al., 2004; Schumacher et al., 2004; Santos et al., 2008). A participação do P para o vigoroso crescimento inicial de plantas cítricas, já tinha sido detectado para os diferentes PE cultivados em condições de solução nutritiva (item 4.3.1).

Os benefícios no desenvolvimento das plantas com a melhoria da nutrição fosfatada foram consequências de um conjunto de papéis desempenhado pelo P no desenvolvimento, crescimento e no metabolismo vegetal. Em condições de deficiência, a redução da taxa de expansão e emissão de folhas diminui a área foliar da planta, resultando em comprometimento da fotossíntese e do crescimento (Fredeen et al., 1989; Lynch et al., 1991; Yun & Kaepler, 2001), conforme detectado para os PE cultivados em solução nutritiva (item 4.3.1). No presente estudo, apesar da área foliar não ter sido diretamente avaliada, o impacto positivo da fertilização fosfatada foi detectada no aumento de MSF ao final do experimento, a qual foi positivamente correlacionada com MSR ($r = 0,65$; $P = 0,0002$; $n = 30$), MSPA ($r = 0,91$; $P < 0,0001$; $n = 30$) e por fim MSTP ($r = 0,88$; $P < 0,0001$; $n = 30$).

Incrementos na capacidade de absorção de água devido à elevação da condutividade hidráulica do sistema radicular (Radin, 1990; Singh & Sale, 2000; Fan et al., 2007) ou à ocupação de maior volume de solo, devem ter contribuído para resultados positivos da adição de P ao solo deficiente. O efeito benéfico do suprimento de P para potencialização da absorção de água e nutrientes foi confirmado mediante maior crescimento radicular, o qual foi positivamente correlacionado com acúmulo de P nas plantas ($r = 0,72$; $P < 0,0001$; $n = 30$) e com a MSTP ($r = 0,86$; $P < 0,0001$; $n = 30$). Apesar do crescimento das raízes ser considerado menos sensível ao estresse por P do que a PA e as plantas apresentarem a tendência de maximizar o volume de solo explorado por meio do aumento da superfície efetiva das raízes (Hammond et al., 2004), a ausência de aplicação de P comprometeu o crescimento radicular das duas combinações copa/porta-enxerto. Segundo Wissuwa et al. (2005), apesar de ocorrer com frequência aumento da relação raiz/parte aérea quando ocorre deficiência do nutriente, esta condição conduz para uma redução absoluta do crescimento das raízes. Quando estas crescem em solo com baixo P, ou apresentam deficiência, o nutriente necessita ser provido para sustentar a atividade meristemática e fisiológica do órgão, devendo ser mantido em elevadas concentrações nos pontos de crescimento (Doerner, 2008). Embora não tenha sido evidenciado, é provável que a distribuição mais homogênea do P no solo amplie o contato dos pontos de crescimento das raízes com regiões mais ricas do nutriente, o que facilitaria a ocupação do solo pelo citros.

O maior crescimento radicular e a EAP da combinação ‘Pêra’/‘Cravo’ contribuíram para a mais elevada absorção e acúmulo de P nestas plantas. Entretanto, é difícil separar a relação causa-efeito, ou seja, se o maior desenvolvimento radicular é uma consequência da maior eficiência de absorção, ou *vice-versa*. O crescimento radicular e a EAP são interrelacionados, e a complexidade desta relação dificulta a identificação de um fator primário que deve ter causado diferenças genotípicas na absorção

de P. Genótipos mais eficientes, certamente apresentarão maior crescimento relativo das raízes, porque o P adicional absorvido permitirá futuro acúmulo de biomassa, incluindo o sistema radicular (Wissuwa, 2003). O maior crescimento das raízes verificado para PE limão ‘Cravo’ crescido em hidroponia em relação ao observado para a tangerina ‘Cleópatra’ (item 4.3.1), foi mantido após as plantas de laranja ‘Pêra’ enxertadas sobre estes dois PE, terem sido cultivadas em solo durante o período de um ano. Esses resultados demonstraram que o crescimento radicular mais vigoroso determinado para os PE, foi de certo modo, mantido após o processo de enxertia. Além disso, a eficiência de utilização de P para a produção de biomassa no sistema radicular manteve a tendência de ser mais elevada nas plantas de ‘Pêra’/‘Cravo’, como já havia sido detectado para as plantas de PE.

Além do efeito do PE, a EAP apresentou a tendência de ser incrementada com o suprimento de P e maior homogeneidade na sua distribuição nas camadas de solo, provavelmente por permitir o contato de maior volume do sistema radicular com solo contendo teor disponível mais elevado do nutriente, potencializando o funcionamento das raízes para o processo de absorção. Deste modo, é provável que as observações e recomendações previamente definidas para plantas sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, que consideraram as primeiras como mais exigentes no suprimento de P, estejam relacionadas ao menor crescimento do sistema radicular, ocupando menor volume de solo, bem como a menor EAP. A eficiência de utilização de P pela planta inteira (ganhos de biomassa por unidade de P presente na planta) não foi alterada pelo PE, indicando que a diferença no acúmulo final de MS entre estas duas combinações foi influenciada pelas características de aquisição do nutriente pelo sistema radicular. Seria importante destacar, que a variação na EAP determinada para os PE no experimento anterior (limão ‘Cravo’ x tangerina ‘Cleópatra’, item 4.3.3), foi mantida neste estudo.

Apesar das informações disponíveis sobre a relação entre o acúmulo de MS por mudas de plantas perenes e a disponibilidade de P no solo, pesquisas que abordem o efeito do posicionamento do nutriente no solo sobre o crescimento inicial destas plantas estão disponíveis em menor número. Entretanto, isto se torna uma questão importante, quando se considera a instalação de pomares cítricos em solos de baixa fertilidade, pois além da necessidade da definição das doses adequadas, a localização do adubo também poderia ser considerada. Este argumento é apoiado pelos resultados encontrados neste estudo, no qual, os efeitos da fertilização com P sobre o crescimento da laranjeira foram influenciados pelo posicionamento no solo (aplicação concentrada na superfície ou distribuída em duas camadas). A influência da forma de distribuição do fertilizante foi relacionada à dinâmica do elemento no solo. A interação do P com cátions, a ocorrência em formas orgânicas, além da baixa taxa de

difusão, fazem com que seja encontrado em baixíssima disponibilidade na região da rizosfera, restringindo a absorção pelas raízes (Raghothama, 1999). Deste modo, torna-se benéfico que maior área do sistema radicular esteja em contato com teores mais elevados do elemento, sobretudo, ao ser lembrado que as aplicações subsequentes de fertilizantes nos pomares acontecerão na superfície do solo, fazendo com que ocorram acúmulos na camada superficial. Em mudas de goiabeira o modo de aplicação da mesma dose (50 ou 100% do sistema radicular em algum contato com o adubo fosfatado) foi indiferente para o desenvolvimento da parte aérea, enquanto que para as raízes, no tratamento com aplicação de 100% com algum contato, acarretou em maior acúmulo do nutriente e produção de MS. Este fato foi atribuído ao aumento considerável da quantidade de raízes que passaram a receber o estímulo ao crescimento ocasionado pelo P externo (Corrêa et al., 2003).

A influência PE no desenvolvimento vegetativo das plantas também foi documentada, sendo detectado maior crescimento das plantas enxertadas sobre limão 'Cravo'. Num experimento de campo, Quaggio et al. (2004) observaram que árvores de laranja 'Natal' enxertadas sobre limão 'Cravo', produziram copas mais vigorosas do que aquelas sobre tangerina 'Cleópatra', o que foi atribuído à possível ocorrência de déficit hídrico. Por outro lado, para as plantas de laranja 'Valência', tal comportamento não foi observado, refletindo a influência da interação copa x porta-enxerto. Apesar dos vários relatos da ação do PE em controlar o vigor da copa, este fenômeno é ainda pobremente entendido (Clearwater et al., 2007). Segundo estes autores, vários fatores determinam as diferenças encontradas, entre elas, as propriedades hídricas de cada material. A capacidade diferencial entre os PE empregados na citricultura, quanto à absorção e translocação de nutrientes à parte aérea (Georgious, 2000; Pompeu Jr., 2005; Toplu et al., 2008), sobretudo em condições limitadas de disponibilidade do nutriente, também contribuem para o vigor final da árvore.

Na primeira amostragem, a elevação do Pt mediante a aplicação de P ao solo correspondeu à 20% do tratamento controle. Na amostragem seguinte, além do incremento ter sido menor (próximo de 12%), foi constatada para todos os tratamentos a redução do Pt. Mesmo com os incrementos, os teores foliares ainda se encontraram abaixo da faixa de suficiência apontada como adequada para este nutriente (Malavolta et al., 1997; Quaggio et al., 2005). Contudo, deve ser destacado que os valores compreendidos por estas faixas de interpretação, foram desenvolvidos para plantas adultas em produção. Além disso, a época de amostragem realizada no presente estudo foi diferente daquela recomendada pelos referidos autores. Esta dificuldade de interpretação da análise foliar para plantas jovens já foi apontado por Ruschel et al. (2004), já que no Brasil existem poucos resultados para este

tipo de planta, e a natureza da composição foliar é fortemente influenciada pela idade (Walworth & Sumner, 1987). Soma-se isso, o fato que a determinação do status de P em plantas perenes é difícil, devido ao estoque de P na casca, tronco e raiz, a rápida mobilidade entre os órgãos vegetativo e reprodutivo, e a compartimentalização entre o P inorgânico e orgânico (Skinner et al., 1987). Apesar destas dificuldades de interpretação, os benefícios da aplicação de P ao solo e conseqüente incremento no Pt das folhas das plantas jovens de laranjeira, determinados aos 5 meses após o transplântio, foi refletido por meio da correlação positiva com a MSTP. Esse resultado demonstrou possível aplicabilidade da análise foliar neste período para previsão aproximada do desempenho destas plantas ao longo de 12 meses de cultivo. Logicamente, a manutenção dos teores nas folhas, dependerá da capacidade de suprimento de P pelo solo, o que será proporcional à dose aplicada e aos fatores que governam a disponibilidade do nutriente (adsorção e precipitação).

Apesar de ter sido em pequena magnitude e ocorrido somente para a coleta aos quatro meses do transplântio, as diferenças no Pt das folhas confirmou a influência do PE sobre a nutrição por P da PA. Além disso, o PE afetou a absorção total de P pelas plantas ao longo do experimento. Sobretudo em condição mais severa de deficiência (tratamento controle), a combinação ‘Pêra’/‘Cravo’ acumulou quantidade muito maior do elemento do que as plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’. A capacidade de acumular P em condições de baixa disponibilidade do nutriente no solo foi determinante para a performance das plantas nestas condições, conforme demonstrado pela relação positiva entre P acumulado nas plantas jovens de laranjeira e a MS total produzida. Esses resultados estão de acordo com a afirmação de Kennedy et al. (1980), de que existe variação genética entre os PE quanto à capacidade de absorver e translocar nutrientes do solo para a copa. A capacidade distinta de absorção de P encontrada nos vegetais é uma resultante de inúmeros fatores, como mudanças na alocação de biomassa e na arquitetura das raízes, estabelecimento de associações simbióticas com microrganismos, além de alterações na região da rizosfera e na fisiologia de funcionamento radicular (eficiência de absorção de P), conforme discussão já apresentada para a variação de EAP entre os quatro PE (item 4.4.3). Segundo Chaplin & Westwood (1980), a composição genética do enxerto parece ser mais determinante no conteúdo de nutrientes da PA, enquanto para Tagliavini et al. (1992), a concentração no xilema parece estar mais relacionada com o vigor trazido pela combinação do sistema radicular com a PA. O efeito dos PE na nutrição fosfatada da parte aérea tem sido atribuído à variação na condutividade hidráulica das raízes (Rabe & Lovatt, 1986). Segundo estes autores, esta propriedade deve ser a base fisiológica para diferenças entre PE quanto ao fornecimento de P às folhas da variedade

copa, bem como para outros nutrientes. Correlações positivas foram obtidas entre a condutividade hidráulica e os teores foliares de N e P em vários PE cítricos (Syvertsen & Graham, 1985).

É notável que o nível crítico de P no solo apresentado por Quaggio et al. (2005), correspondente à 20 mg dm^{-3} de P para plantas em produção, não se aplicou às condições do presente experimento, onde foram utilizadas plantas jovens. Apesar do experimento ter sido realizado com o cultivo em contêineres, o que poderia limitar o volume de solo explorado pelo sistema radicular, foram obtidos em todos os tratamentos de P, após 12 meses do transplantio, plantas deficientes. Deste modo, esses resultados são fortes indicativos que o teor de 20 mg dm^{-3} de P está consideravelmente abaixo do necessário para o estabelecimento e crescimento vigoroso de plantas jovens de citros no campo. Entretanto, a baixa disponibilidade de P do solo empregado atendeu aos objetivos do experimento, pois foram demonstradas respostas ao fornecimento do elemento e a diferença no desempenho da laranjeira ‘Pêra’ quando enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’.

Apesar do sistema intensivo de produção preconizar a aplicação de dosagens adequadas de fertilizante fosfatado, objetivando o alcance de teores satisfatórios do nutriente no solo, é conhecido que o P não é distribuído de forma homogênea no solo, apresentando maiores teores nas camadas superficiais, além de apresentar baixa eficiência de aproveitamento. Deste modo, PE com sistema radicular mais vigoroso e mais eficiente na absorção de P, como o limão ‘Cravo’, detém provavelmente, maior potencial de exploração do solo, contribuindo para o estabelecimento de plantas jovens de laranjeira, pois teriam maior capacidade para aproveitar o nutriente além do sulco de plantio ou concentrado na camada superficial. Neste contexto, maiores cuidados com a fertilização fosfatada deveriam ser direcionados para a instalação de pomares utilizando a tangerina ‘Cleópatra’, como já apontado por outros autores (Quaggio et al., 2005; Mattos Jr. et al., 2006), pois foi confirmado menor crescimento absoluto do sistema radicular, menor acúmulo e eficiência de absorção de P por estas plantas.

5.4.2. Atividade da fosfatase ácida nas folhas (AFAF)

Os valores de AFAF de plantas cítricas cultivadas em solos com baixos teores disponíveis de P não são ainda conhecidos. Os resultados demonstraram para as três amostragens que os valores de AFAF, os quais variaram de $0,35$ a $1,30 \text{ } \mu\text{mol nitrofenol min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de folha, estão situados em faixas de valores determinados para outras espécies de plantas (Besford, 1978; O’Connell & Grove, 1985; Ascencio, 1994), apesar da acentuada variação quanto à idade e tipos de folha, condições de crescimento, disponibilidade de P e metodologia de quantificação.

A medida da AFAF foi proposta como teste bioquímico para avaliar o estado nutricional por P, dado que sofre pouco efeito da deficiência por outros nutrientes (Besford, 1979). Considerando a relação negativa entre o status por P e AFAF para várias espécies de plantas (Besford, 1979; Besford, 1980; Press & Lee, 1983; O'Connell & Grove, 1985; Silva & Basso, 1993; Tristão et al., 2006), é pressuposto que o efeito do PE sobre a AFAF da laranjeira 'Pêra' nas três amostragens, refletiu diferença na disponibilização de P à PA. De acordo com Ascencio (1994), a intensidade de elevação da atividade desta enzima está relacionada com a severidade do estresse por P. É possível afirmar que as plantas 'Pêra'/'Cleópatra' foram mais dependentes das fontes de P previamente armazenadas (P orgânico), havendo maior necessidade da ação da fosfatase ácida para a mobilização do nutriente, uma vez que o sistema radicular destas plantas apresentou menor capacidade de aquisição de P e translocação para as regiões mais jovens da PA, que detém demanda mais elevada do nutriente. Por outro lado, neste estudo a AFAF não foi hábil para identificar diferenças entre os tratamentos de P, provavelmente devido à estreita faixa de variação no teor de Pt nas folhas maduras (máximo de 0,2 g kg⁻¹). Por exemplo, no estudo com PE (item 4.3.4), praticamente não foi detectada variação na AFAF para teores médios de Pt entre 1,3 e 2,4 g kg⁻¹. Em folhas de eucalipto (*Eucalyptus diversicolor* F. Muell.), a AFA aumentou marcadamente para os níveis de fertilização menores do que 200 mg P kg⁻¹ de solo (O'Connell & Grove, 1985).

AFAF também tem sido relacionada com a eficiência de uso de P (capacidade de converter o P em biomassa ou após ser adquirido pela planta), bem como na remobilização do nutriente de folhas mais velhas para os tecidos novos (Yun & Kepler, 2001). Esta remobilização ocorre em maior intensidade, quando a disponibilidade do nutriente no meio de crescimento e/ou as taxas de absorção são insuficientes para atender a demanda da planta. Deste modo, devido ao fato da AFA ter sido determinada em folhas maduras da laranjeira, acredita-se que as mesmas estavam atuando como fonte de P para regiões de crescimento da planta com elevada demanda por P. Além disso, independente do PE, observou-se que houve aumento da AFA entre as coletas. A elevação da AFA foi acompanhada de decréscimos dos teores de Pt nas folhas maduras, o que provavelmente foi relacionada ao aumento do estresse por P da planta inteira, gerando a necessidade de maior reciclagem do P. O aumento da AFA, tanto intra, como extracelular, pode incrementar a aquisição e a reutilização do P, ajudando a planta a crescer sob condições deficientes de P. Contudo, o padrão e nível de mudança na AFAF em dois genótipos de arroz contrastantes quanto a eficiência de absorção e o uso de P não foi suficientemente diferente para responder pela diversidade no crescimento em baixa disponibilidade de P (Yun &

Kepler, 2001). De acordo com os autores, os resultados sugeriram que AFA não foi o principal mecanismo para aproveitamento do P interno, e mudanças na AFAF refletiram condição de estresse em ambas as variedades. Desta maneira, ainda não está claro se o aumento da AFAF foi um mecanismo de eficiência de uso de P ou indicativo de deficiência (Yan et al. 2001).

É interessante notar que, apesar da consistente AFAF mais elevada para as plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’ em relação à ‘Pêra’/‘Cravo’ nas três amostragens, diferença no teor foliar de Pt foi detectada somente para a primeira amostragem. Desta maneira, é possível que as plantas ‘Pêra’/‘Cleópatra’ se tornaram mais adaptadas ao estresse por P, com maior quantidade absoluta da proteína fosfatase nas folhas, a qual foi estimulada e promoveu quebra em maior proporção do paranitrofenilfosfato incubado com discos foliares. O maior investimento na síntese da proteína teria ocorrido em estágios anteriores de desenvolvimento das folhas, quando o teor de Pt provavelmente era mais elevado do que o determinado no momento da amostragem. Conforme discutido para os PE (item 4.2.5), os incrementos na atividade da enzima têm sido relacionados à síntese mais elevada ou ativação daquela previamente existente no tecido vegetal.

5.5. Conclusões

Comprovando a hipótese do trabalho, os porta-enxertos tangerina ‘Cleópatra’ e limão ‘Cravo’ afetaram o crescimento e a nutrição por fósforo da laranjeira ‘Pêra’. A distribuição do fertilizante fosfatado de forma mais homogênea entre as camadas de solo indicou ser uma estratégia potencial para maximizar o desempenho de plantas recém transplantadas para o campo. O porta-enxerto limão ‘Cravo’ foi mais adaptado para solos deficientes por fósforo, dada a sua contribuição para maior absorção de P e crescimento mais vigoroso das laranjeiras. Por outro lado, as plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’ foram mais sensíveis à baixa disponibilidade do nutriente, devido a um sistema radicular com menor crescimento, menos eficiente para absorção de P e consequentemente menor capacidade para atender a demanda da parte aérea. Estas características fizeram provavelmente com que as plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’ ativassem em maior intensidade a remobilização interna de P (quebra de P orgânico nas folhas maduras), como refletido na maior atividade da fosfatase ácida.

5.6. Referências Bibliográficas

ASCENCIO, J. Acid phosphatase as diagnostic tool. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 25, p. 1565-1582, 1994.

- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Método de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1983. Boletim técnico n.78.
- BESFORD, R.T. A rapid tissue test for diagnosing phosphorus deficiency in the tomato plant. **Annals of Botany**, v. 45, p. 225-227, 1980.
- BESFORD, R.T. Effect of phosphorus supply on acid phosphatase activity in the leaves of tomato plants. **Scientia Horticulturae**, v. 9, p. 303-309, 1978.
- BESFORD, R.T. Nutrient imbalances in tomato plants and acid phosphatase activity in the leaves. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 30, p. 275-280, 1979.
- CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de análise química e física de solos do IAC**. Campinas: IAC, 1986. 94 p. (Boletim técnico 106).
- CHAPLIN, M.H.; WESTWOOD, M.N. Nutritional status of 'Bartlett' Pear on *Cydonia* and *Pyrus* species rootstocks. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 105, p. 60-63, 1980.
- CLEARWATER, M.J.; BLATTMANN, P.; LUO, Z.C. LOWE, R.G. Control of scion vigour by kiwifruit rootstocks is correlated with spring root pressure phenology. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 1741-1751, 2007.
- CORRÊA, F.L.O.; SOUZA, C.A.S.; CARVALHO, J.G.; MENDONÇA, V. Fósforo e zinco no desenvolvimento de mudas de aceloreira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 793-796, 2002.
- CORRÊA, M.C.D.; PRADO, R.M.; NATALE, W.; PEREIRA, L.; BARBOSA, J.C. Respostas de mudas de goiabeira a doses e modos de aplicação de fertilizante fosfatado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 164-169, 2003.
- CRUZ, L.S.P.; RODRIGUEZ, O.; IGUE, T. Reação de laranjeiras Natal à aplicação de adubos minerais e orgânicos nas covas de plantio. **Bragantia**, v. 30, p. 135-143, 1971.
- DOERNER, P. Phosphate starvation signaling: a threesome controls systemic Pi homeostasis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, p. 536-540, 2008.
- ELLIOTT, G.C.; LÄUCHLI, A. Evaluation of an acid phosphatase assay for detection of phosphorus deficiency in leaves of maize (*Zea mays* L.). **Journal of Plant Nutrition**, v. 9, p. 1469-1477, 1986.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa do Solo. **Sistema Brasileira de Classificação de Solos**. Rio de Janeiro, 1999. 412p.

- FAN, M.; BAI, R.; ZHAO, X.; ZHANG, J. Aerenchyma formed under phosphorus deficiency contributes to the reduced root hydraulic conductivity in maize roots. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 49, p. 598-604, 2007.
- FERNANDES, L.R.; FURTINI NETO, A.E.; FONSECA, F.C.; VALE, F.R. Crescimento inicial, níveis críticos de fósforo e frações fosfatadas em espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 1191-1198, 2000.
- FREDEEN, A.; RAO, I.M.; TERRY, N. Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partitioning in *Glycine max*. **Plant Physiology**, v. 89, p. 335-230, 1989.
- FURLANI, P.R.; SILVEIRA, L.C.P.; BOLONHEZI, D.; FAQUIN, V. **Cultivo hidropônico de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1999. Boletim Técnico n. 180.
- GEORGIUS, A. Performance of ‘Nova’ mandarin on eleven rootstocks in Cyprus. **Scientia Horticulturae**, v. 84, p. 115-126, 2000.
- HAMMOND, J.P.; BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J. Genetic responses to phosphorus deficiency. **Annals of Botany**, v. 94, p. 323-332, 2004.
- KENNEDY, A.J.; ROWE, R.W.; SAMUELSON, T.J. The effects of apple rootstock genotypes on mineral content of scion leaves. **Euphytica**, v. 29, p. 477-482, 1980.
- LYNCH, J.; LAUCHLI, A.; EPSTEIN, E. Vegetative growth of the common bean in response to phosphorus nutrition. **Crop Science**, v. 31, p. 380-387, 1991.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 314 p. 1997.
- MATTOS Jr., D.; BATAGLIA, O.C.; QUAGGIO, J.A. Nutrição do citros. In: MATTOS Jr., D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU Jr., J. **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2005. cap. 8, p. 198-216.
- MATTOS Jr., D.; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; ALVA, A.K.; GRAETZ, D. A Response of young citrus trees on selected rootstocks to nitrogen, phosphorus, and potassium Fertilization. **Journal of Plant Nutrition**, v. 29, p. 1371-1385, 2006.
- MELO, A.S.; GOIS, M.P.P.; BRITO, M.E.B.; VIÉGAS, P.R.A.; ARAÚJU, F.P.; MELO, D.L.M.F. Desenvolvimento de porta-enxertos de umbuzeiro em resposta à adubação com nitrogênio e fósforo. **Ciência Rural**, v.35, p.324-331, 2005.
- NEVES, O.S.C.; BENEDITO, D.S.; MACHADO, R.V.; CARVALHO, J.G. Crescimento, produção de matéria seca e acúmulo de N, P, K, Ca, Mg e S na parte aérea de mudas de andiroba (*Carapa*

- guianensis* Aubl.) cultivadas em solos de várzea, em função de diferentes doses de fósforo. **Revista Árvore**, v.28, p. 343-349, 2004.
- O'CONNELL, A.M.; GROVE, T.S. Acid phosphatase activity in Karri (*Eucalyptus diversicolor* F. Muell.) in relation to soil phosphate and nitrogen supply. **Journal of Experimental Botany**, v. 36, p. 1359-1372, 1985.
- PIRES, R.C.M.; LUCHIARI, D.J.F.; ARRUDA, F.B.; MOSSAK, I. Irrigação. In: MATTOS Jr., D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU Jr., J. **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2005. cap. 4, p. 61-104.
- POMPEU Jr., P. Porta-enxertos. In: MATTOS Jr., D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU Jr., J. **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2005. cap. 4, p. 61-104.
- PRADO, R.M.; ROZANE, D.E.; CAMAROTTI, G.S.; CORREIA, M.A.R.; NATALE, W.; BARBOSA, J.C.; BEUTLER, A.N. Nitrogênio, fósforo e potássio na nutrição e na produção de mudas de laranjeira 'Valência', enxertada sobre citrumelo 'Swingle'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 812-817, 2008.
- PRESS, M.C.; LEE, J.A. Acid phosphatase activity in *Spagnum* species in relation to phosphate nutrition. **New Phytologist**, v. 93, p. 567-573, 1983.
- QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van. Phosphorus and potassium soil test and nitrogen leaf analysis as a base for citrus fertilization. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 52, p. 67-74, 1998.
- QUAGGIO, J.A.; MATTOS Jr., D.; CANTARELLA, H.; STUCHI, E.S.; SEMPIONATO, O.R. Sweet orange trees grafted on selected rootstocks fertilized with nitrogen, phosphorus and potassium. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.55-60, 2004.
- QUAGGIO, J.A.; MATTOS Jr., D.; CATARELLA, H. Manejo da fertilidade do solo na citricultura. In: MATTOS Jr., D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU Jr., J. **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2005. cap. 17, p. 485-504.
- RABE, E.; LOVATT, C.J. Relative phosphorus dependency of citrus rootstock reflected in leaf nitrogen metabolism. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 110, p. 922-926, 1986.
- RADIN, J.W. Responses of transpiration and hydraulic conductance to root temperature in nitrogen- and phosphorus-deficient cotton seedlings. **Plant Physiology**, v. 92, p. 855-857, 1990.

- RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate acquisition. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 665–693, 1999.
- RAIJ, B. van.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: IAC, 2001. 285p.
- RAPOSO, R.W.C.; MURAOKA, T.; BASSO, L.C.; LAVRES Jr.; FRANZINI, V.I. Acid phosphatase activity and leaf phosphorus content in soybean cultivars. **Scientia Agricola**, v.61, p. 439-445, 2004.
- RESENDE, A.V.; NETO, A.E.F.; MUNIZ, J.A.; CURI, N.; FAQUIN, V. Crescimento inicial de espécies florestais de diferentes grupos sucessionais em respostas a doses de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 2071-2081, 1999.
- RUSCHEL, J.; CARMELLO, Q.A.C.; BERNARDI, A.C.D.; CARVALHO, S.A.; MATTOS Jr. D. Leaf nutrient content of rangpur lime rootstock as affected by N, P, K Ca and S fertilization. **Scientia Agricola**, v. 61, p. 501-506, 2004.
- SANTOS, J.Z.L.; RESENDE, A.V.; NETO, A.E.F.; CORTE, E.F. Crescimento, acúmulo de fósforo e frações fosfatadas em mudas de sete espécies arbóreas nativas. **Revista Árvore**, v. 32, p. 799-807, 2008.
- SARRUGE, J.R. Soluções nutritivas. **Summa Phytopatologica**, v.1, p. 231-233, 1975.
- SCHUMACHER, M.V.; CECONI, D.E.; SANTANA, C.A. Influência de diferentes doses de fósforo no crescimento de mudas de angico vermelho (*Parapiptadenia rigida* (Benth) Brenan). **Revista Árvore**, v. 28, p. 149-155, 2004.
- SENA, J.O.A.; LABATE, C.A.; CARDOSO, E.J.B.N. Caracterização fisiológica da redução de crescimento de mudas de citros micorrizadas em altas doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 827-832, 2004.
- SILVA, F.C.; BASSO, L.C. Avaliação da atividade in vivo da fosfatase ácida da folha na diagnose da nutrição fosfórica em cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 17, p. 371-375, 1993.
- SINGH, D.K.; SALE, P.W.G. Growth and potential conductivity of white clover roots in dry soil with increasing phosphorus supply and defoliation frequency. **Agronomy Journal**, v. 92, p. 868-874, 2000.

- SKINER, P.W.; MATTHEWS, M.A.; CARLSON, R.M. Phosphorus requirements of wine grapes: extractable phosphate of leaves indicates phosphorus status. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 112, p. 449-454, 1987.
- SOBRAL, L.F.; SOUZA, L.F.S.; MAGALHÃES, A.F.J.; SILVA, J.U.B.; LEAL, M.L.S. Respostas da laranja-pêra à adubação com nitrogênio, fósforo e potássio em um latossolo amarelo dos tabuleiros costeiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 307-312, 2000.
- SWIADER, J.M.; CHYAN, Y.; FREIJI, F.G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, v. 17, p. 1687-1699, 1994.
- SYVERTSEN, J.P.; GRAHAM, J.H. Hydraulic conductivity of roots, mineral nutrition, and leaf gas exchange of citrus rootstocks. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 110, p. 865-869, 1985.
- TAGLIAVINI, M.; SCUDELLARI, D.; MARANGONI, B.; BASTIANEL, A.; FRANZIN, F. ZAMBORLINI, M. Leaf mineral composition of apple tree: sampling date and effects of cultivar and rootstock. **Journal of Plant Nutrition**, v.15, p. 605-619, 1992.
- TOPLU, C.; KAPLANKIRAN, M.; DEMIRKESER, T.H.; YILDIZ, E. The effects of citrus rootstocks on Valencia Late and Rhode Red Valencia oranges for some plant nutrient elements. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 4441-4445, 2008.
- TRISTÃO, F.S.M.; ANDRADE, S.A.L.; SILVEIRA, A.P. Fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas de cafeeiro, em substratos orgânicos comerciais. **Bragantia**, v. 65, p. 649-658, 2006.
- WALWORTH, J.L.; SUMMER, M.E. The diagnosis and recommendation integrated system (Dris). **Advances in Soil Science**, v. 6, p. 149-188, 1987.
- WISSUWA, M. How do plants achieve tolerance to phosphorus deficiency? Small causes with big effects. **Plant Physiology**, v. 133, p. 1947-1958, 2003.
- WISSUWA, M.; GAMAT, G.; ISMAIL, A.M. Is root growth under phosphorus deficiency affected by source or sink limitations? **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1943-1950, 2005.
- YAN, X.; LIAO, H.; TRULL, M.C.; BEEBE, S.E.; LYNCH, P. Induction of a major leaf acid phosphatase does not confer adaptation to low phosphorus availability in common bean. **Plant Physiology**, v. 125, p. 1901-1911, 2001.
- YUN, S.J.; KEPLER, S.M. Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorus starvation. **Plant and Soil**, v. 237, p. 109-115, 2001.

6. ABSORÇÃO, REMOBILIZAÇÃO E PARTIÇÃO DO FÓSFORO (^{32}P) EM PLANTAS JOVENS DE LARANJEIRA DIFERENTES QUANTO AO ESTADO NUTRICIONAL POR FÓSFORO E PORTA-ENXERTO

Resumo

O fósforo (P) é um nutriente caracterizado por apresentar elevadas taxas de remobilização. Entretanto, este processo não é detalhadamente conhecido em plantas cítricas, especialmente em relação ao efeito do porta-enxerto e do estado nutricional da laranjeira. Desta maneira, foi conduzido um experimento em condições de casa-de-vegetação, cultivando-se mudas de laranjeira ‘Pêra’ [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] enxertadas sobre limão ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osbeck) ou tangerina ‘Cleópatra’ (*Citrus reshni* hort. ex Tanaka) em condições de solução nutritiva suficiente (S) ou deficiente (D) em P. Após um período aproximado de nove meses, cada conjunto de plantas foi subdividido, mantendo-se ou alterando a disponibilidade do nutriente. Neste momento, também ocorreu a aplicação de ^{32}P na solução nutritiva. Os seguintes regimes de crescimento foram obtidos: i) suficiência-suficiência (SS); ii) suficiência-deficiência (SD); iii) deficiência-deficiência (DD); iv) deficiência-suficiência (DS). As plantas foram mantidas nestas condições por 48 dias, quando foram coletadas e separadas em partes novas e velhas. A absorção e a remobilização de P foi afetada pelo estado nutricional da planta e pelo porta-enxerto. A maior taxa e eficiência de absorção de P foram obtidas para as plantas do tratamento DS e enxertadas sobre limão ‘Cravo’. As plantas sobre tangerina ‘Cleópatra’ demonstraram menor acúmulo de P e maior dependência da remobilização do nutriente previamente acumulado. A quantidade remobilizada do nutriente foi dependente da reserva de P e da demanda dos novos fluxos de crescimento. As partes novas representaram o destino preferencial para o P (^{32}P) recém absorvido pelas plantas.

Palavras-chave: citros; estado nutricional; solução nutritiva; nutrição mineral.

PHOSPHORUS UPTAKE, REMOBILIZATION AND PARTITIONING IN YOUNG CITRUS TREES ACCORDING TO PHOSPHORUS NUTRITIONAL STATUS AND ROOTSTOCKS

Abstract

Phosphorus is considered to be a mobile element into the plants with high remobilization rates. However, this process is not known in details for citrus plants, as well as the influences of the rootstocks and P status. So, 'Pêra' sweet orange plants on 'Rangpur lime' or 'Cleopatra' mandarin were grown in nutrient solution sufficient (S) or deficient in P for nine months. Further half of the plants belonging to each group had the concentration of P in the nutrient solution changed, while the others remained at the same level. The following treatments were obtained: i) sufficiency-sufficiency; ii) sufficiency-deficiency; iii) deficiency-deficiency; iv) deficiency-sufficiency. At the same time, the nutrient solutions were labeled with ^{32}P . After 48 days treatments the plants were harvested and separated into new and old parts. The uptake and remobilization of P were influenced by rootstock and P status. The highest rate and P efficiency uptake were obtained for deficiency-sufficiency plants on 'Rangpur' lime. On the other hand, plants on 'Cleopatra' mandarin had lower accumulated P and higher dependence of P remobilization to meet plant P requirements. The amount of remobilized P depended on the stored P in the old parts and growth rate of new tissues. The new parts were the main fate for the P (^{32}P) recently absorbed from the nutrient solution.

Key-words: citrus; nutritional status; nutrient solution; mineral nutrition.

6.1. Introdução

O uso de porta-enxertos (PE) é uma prática comum e importante para a atividade citrícola, devido à capacidade dos mesmos em influenciar várias características hortícolas e resiliência/tolerância a doenças das árvores (Schafer et al., 2001). Dentre os efeitos dos PE sobre a variedade copa, tem sido detectado variações na tolerância à estresses nutricionais impostos na região da rizosfera. A deficiência por fósforo (P) é um problema comum nos mais variados tipos de solo, devido a formação de complexos de baixa solubilidade com cálcio em condições alcalinas, e com ferro e alumínio em solos ácidos (Ozturk et al., 2005), impactando de forma negativa sobre a produtividade agrícola, incluindo os pomares de laranja. Deste modo, o conhecimento detalhado da interação copa x porta-enxerto sob condição de deficiência do nutriente é de interesse para melhor compreensão de respostas das plantas de laranjeira à variação da disponibilidade do nutriente, bem como, a identificação dos PE mais e menos adaptados para cultivo em solos com baixa disponibilidade de P, o que demandaria ajustes no manejo, como maiores fertilizações para materiais menos adaptados.

As plantas absorvem o P da solução do solo na forma de ortofosfatos (H_2PO_4^- e HPO_4^{2-}) (Vance et al., 2003). É geralmente aceito, que na faixa de concentração micromolar de P na solução dos solos cultivados ($1\text{-}10\ \mu\text{mol L}^{-1}$) os transportadores de alta afinidade estariam promovendo a absorção do nutriente (Raghotama, 2000). Esses transportadores são expressos nas células de epiderme, pêlos radiculares e na camada mais externa do córtex (Panigrahy et al., 2009). Após a entrada pelo simplasto das raízes, o P_i pode apresentar os seguintes destinos no interior da planta: i) permanecer contido na fração metabólica (citoplasma celular somado aos das organelas), como pirofosfato na molécula de ATP; ii) participar das rotas biossintéticas de P-lipídios, DNA, RNA, tornando-se componente estrutural das células; iii) ser estocado no vacúolo para regular o homeostase interna; iv) ser transportado à longas distâncias pelos vasos do xilema; v) ou ainda sofrer efluxo celular (Rausch & Bucher, 2002).

No interior das plantas, o P é reconhecido por ser um elemento extremamente móvel no floema (Marschner, 1995). Neste sentido, estudos têm sido desenvolvidos para avaliar a importância e a participação do P remobilizado para atendimento da demanda pelo nutriente em várias espécies de plantas (Crafts-Brandner, 1992; Helmisaari, 1992; Proe & Millard, 1995; Usuda, 1995; Saur et al., 2000; Piatek & Allen, 2000; Salifu & Timmer, 2001; Fife et al., 2008). Consequentemente, espera-se que em plantas cítricas, a ciclagem interna de P seja importante para atender a demanda do nutriente pelos novos fluxos de crescimento. Entretanto, tais padrões de remobilização ainda não são conhecidos

para estas plantas. Além disso, qual seria a influência do PE e da disponibilidade de nutriente no meio de crescimento (estado nutricional por P) sobre este processo?

O desenvolvimento do presente trabalho foi baseado na hipótese que a absorção e a redistribuição de P (^{32}P) seriam afetados pelo estado nutricional da planta e pelo PE. Deste modo, após as plantas terem sido crescidas em condições de suficiência ou deficiência por P, a solução nutritiva foi marcada com ^{32}P . A técnica do radioisótopo foi selecionada para atender aos objetivos do estudo: acompanhar de forma acurada e detalhada, as respostas das plantas à nível de aquisição do nutriente (taxa e eficiência de absorção), o grau de remobilização interna, bem como a partição do P (^{32}P) proveniente da solução nutritiva no interior das laranjeiras (destino preferencial), diferentes quanto ao estado nutricional por P e porta-enxerto.

6.2. Material e Métodos

6.2.1. Primeira etapa: Instalação e condução do experimento – obtenção de estado nutricional distinto por fósforo nas laranjeiras

O experimento foi conduzido em condições de casa-de-vegetação, durante o período de outubro de 2007 à setembro de 2008. Mudas de laranjeira ‘Pêra’ [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] enxertada sobre dois porta-enxertos: tangerina ‘Cleópatra’ (*Citrus reshni* hort. ex Tanaka) ou limão ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osbeck), em estágio equivalente àquele de transplante para o campo, mudas tipo pavil, foram adquiridas em viveiro comercial.

As plantas foram dispostas no interior de casa-de-vegetação. Para melhor aclimação ao novo ambiente, durante cinco dias, receberam irrigação com água deionizada. A etapa seguinte consistiu da transferência das mudas para a solução nutritiva. Para tal, as mesmas tiveram o sistema radicular lavado em água corrente até a remoção de todo o substrato contido na superfície das raízes, seguindo-se a lavagem com água deionizada por várias vezes. Imediatamente a isto, as plantas foram transferidas para baldes plásticos (recobertos com tinta de coloração prata) contendo oito litros de solução nutritiva, modificada a partir de Sarruge (1975), porém diluída à $\frac{1}{4}$. Foi acomodada uma planta por vaso através de um orifício feito na tampa do mesmo, onde a planta foi prendida com o auxílio de espuma envolta ao caule. Este procedimento permitiu que a planta ficasse suspensa e o sistema radicular mergulhado na solução nutritiva.

Após cinco dias de adaptação das mudas de citros ao novo ambiente de crescimento radicular, a solução nutritiva foi renovada, dobrando a concentração de todos os nutrientes, porém mantidos na

mesma proporção. Seguindo-se mais cinco dias de crescimento nesta condição, iniciaram-se os tratamentos, mediante a combinação da laranja 'Pêra' enxertada sobre limão 'Cravo' ou tangerina 'Cleópatra', com duas condições de disponibilidade de P na solução nutritiva: baixo P (condição de deficiência) e alto P (condição de suficiência), totalizando 4 tratamentos, com 8 repetições cada um, obtendo-se um total de 32 plantas.

Com o objetivo de ser obtido estado nutricional diferenciado em P, sem provocar entretanto, crescimento acentuadamente distinto entre as plantas (acúmulo de massa seca), anteriormente à marcação da solução nutritiva com ^{32}P , o seguinte manejo nutricional foi adotado: num primeiro momento, a condição de deficiência por P correspondeu à uma concentração de $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$ de P, enquanto à de suficiência por P foi equivalente à $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de P na solução nutritiva. O cultivo das plantas nestas duas concentrações de P perdurou por aproximadamente 180 dias. Após este período, na condição de deficiência, a concentração na solução nutritiva foi alterada para $0,005 \text{ mmol L}^{-1}$ de P, enquanto na condição de suficiência, o valor original foi mantido. Esta nova disponibilidade na condição de deficiência perdurou até ao final do experimento. A definição dos tratamentos (disponibilidade de P) foi baseada na tentativa de criar um cenário em que as plantas sofressem estresse nutricional e uma condição de adequado suprimento.

Apesar da necessidade de obtenção de plantas com estado nutricional diferenciado mediante alteração da concentração do nutriente na solução nutritiva, cuidados foram tomados, de modo que a deficiência acentuada de P não limitasse profundamente o crescimento e o metabolismo destas plantas. Isto porque, o estresse severo de P afeta diretamente a assimilação e/ou absorção de outros nutrientes, como nitrogênio (Jeschke et al., 1997; Groot et al., 2003), enxofre (Lee, 1993), cálcio e magnésio (Reinbott & Blevins, 1999), além de atuar negativamente sobre a atividade fotossintética e alterar as relações hídricas (Carvajal et al., 1996). Deste modo, o uso de plantas severamente deficientes, poderia limitar as próprias respostas ao ressuprimento de P. Argumento semelhante foi defendido por Misson et al. (2005) ao estudarem as respostas morfológicas e bioquímicas de plantas de *Arabidopsis* à disponibilidade de P.

Durante a maior parte do período de cultivo, as plantas cresceram livremente, sem a condução preferencial de ramos. Contudo, antes da aplicação de ^{32}P à solução nutritiva, com o objetivo de estimular a emissão de brotações e promover melhor padronização no tamanho das plantas, foi realizada uma poda branda, com a remoção das extremidades dos ramos, no dia 25 de julho de 2008. Neste momento, promoveu-se também uma seleção das plantas, eliminando-se aquelas menos

uniformes, de modo que no final, cada tratamento contivesse três repetições. Além da necessidade de melhor padronização das plantas, o referido procedimento foi escolhido para favorecer e simular a emissão de fluxos de crescimento na parte aérea (PA) durante a primavera-verão, quando haveria maior demanda pelo nutriente.

Em relação ao manejo da solução nutritiva, a renovação da mesma foi realizada em intervalos de 7-10 dias, ocasião em que os valores de condutividade elétrica da solução correspondiam à aproximadamente 75-80% do valor original ($1,8-2,0 \text{ mS cm}^{-1}$). A manutenção do nível inicial da solução nos vasos foi realizada diariamente por meio da adição de água deionizada. A aeração constante da solução foi realizada com auxílio de um compressor de ar. O pH da solução nutritiva foi mantido entre 5,5-6,0 mediante a adição de KOH ou HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

6.2.2 Segunda etapa: partição e remobilização de ^{32}P em função do estado nutricional em fósforo da planta

A marcação da solução nutritiva com ^{32}P ocorreu no dia 13 de agosto de 2008. Nesta segunda etapa, com o objetivo de verificar os efeitos de alterações na disponibilidade do nutriente em função de uma condição nutricional anterior, os dois conjuntos de plantas formados pelos pré-tratamentos de disponibilidade ($0,005$ ou $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de P, conforme item 5.2.1) foram subdivididos. Para cada conjunto, metade das plantas foi mantida na mesma concentração de P na solução nutritiva, enquanto a outra metade sofreu alteração na concentração do nutriente. Assim, no conjunto de plantas que estavam crescendo em $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de P (suficiência), foi tomada uma parte das plantas, e então submetidas à concentração deficiente por P ($0,005 \text{ mmol L}^{-1}$ de P), enquanto as outras permaneceram na concentração original. Este mesmo procedimento, porém de modo inverso, foi aplicado ao outro conjunto de plantas que estavam sob deficiência por P. Por fim, foram gerados oito tratamentos, distribuídos em blocos ao acaso, cada qual com três repetições, com uma planta cada (Tabela 1). No momento da subdivisão dos dois conjuntos de plantas, provenientes dos pré-tratamentos com P (suficiência ou deficiência), foi aplicado fósforo 1 mL de solução contendo $1462300 \text{ cpm } ^{32}\text{P mL}^{-1}$ em cada recipiente plástico contendo $7,8 \text{ L}$ de solução nutritiva. A partir de então, com o objetivo de mensurar a partição e redistribuição do nutriente na planta, todos os novos fluxos de crescimento na PA foram identificados. O manejo de condução dos novos fluxos de crescimento foi adotado com o objetivo de obtenção de maior uniformidade possível entre os tratamentos, sendo deixados 5-6 brotações crescerem livremente em cada copa até a coleta do experimento.

Após a marcação das plantas (aplicação do ^{32}P nos vasos), a solução nutritiva não foi mais renovada, sendo feito somente o monitoramento da condutividade elétrica e pH. A reposição de nutriente foi feita uma única vez durante o período de crescimento, quando os valores de condutividade elétrica estavam entre 70-75% do valor inicial, o que fez com que o valor voltasse próximo ao original (1,8-2,0 mS cm^{-1}). O nível de água deionizada foi mantido constante por meio de reposições diárias, bem como a aeração da solução nutritiva.

Ao final de um período de crescimento de 48 dias desde aplicação de ^{32}P , as plantas foram coletadas e separadas em sistema radicular, folhas velhas e novas, ramos velhos (incluindo o porta-enxerto) e novos, pétalas (incluindo flores e botões florais se presentes) e frutos para análise da atividade de ^{32}P . O emprego do termo ‘velha’, foi referente ao todo tecido vegetal presente na PA anteriormente à aplicação do ^{32}P . Ao mesmo tempo, a denominação de ‘nova’, correspondeu ao material vegetal produzido na PA após a adição do radioisótopo na solução nutritiva. O mesmo procedimento não foi realizado para o sistema radicular, a qual não pôde ser separado em ‘parte nova’ ou ‘parte velha’.

Tabela 1. Regimes de crescimento com variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva, para plantas jovens laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre a tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’.

Copa/porta-enxerto e pré-tratamentos de P	Tratamentos gerados após aplicação de ^{32}P ⁽¹⁾
‘Pêra’/‘Cleópatra’ em Deficiência de P	‘Pêra’/‘Cleópatra’ em Deficiência de P (Cl-DD)
	‘Pêra’/‘Cleópatra’ em Suficiência de P (Cl-DS)
‘Pêra’/‘Cleópatra’ em Suficiência de P	‘Pêra’/‘Cleópatra’ em Deficiência de P (Cl-SD)
	‘Pêra’/‘Cleópatra’ em Suficiência de P (Cl-SS)
‘Pêra’/‘Cravo’ em Deficiência de P	‘Pêra’/‘Cravo’ em Deficiência P (Cr-DD)
	‘Pêra’/‘Cravo’ em Suficiência P (Cr-DS)
‘Pêra’/‘Cravo’ em Suficiência de P	‘Pêra’/‘Cravo’ em Deficiência P (Cr-SD)
	‘Pêra’/‘Cravo’ Suficiência de P (Cr-SS)

⁽¹⁾ Cada tratamento foi composto por três repetições. Cl: tangerina ‘Cleópatra’. Cr: limão ‘Cravo’. DD: deficiência-deficiência; DS: deficiência-suficiência; SD: suficiência-deficiência; SS: suficiência-suficiência.

Após a lavagem em água deionizada por várias vezes, o material vegetal foi acondicionado em sacos de papel e imediatamente colocado para secar em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C durante 72 h. Após essa etapa, as diferentes partes foram pesadas para a obtenção da massa seca (MS), imediatamente moídas e acondicionadas em frascos de vidros hermeticamente fechados. A etapa seguinte consistiu da digestão nítrico-perclórica, seguindo os procedimentos descritos em Bataglia et al. (1983), como apresentado no item 4.2.4. Parte do extrato (exatamente 20 mL) obtido da digestão total foi transferido para frascos de cintilação e utilizados para a medida da atividade do ^{32}P por efeito

Cerenkov em contador de cintilação líquida, determinando-se a atividade específica em desintegrações por minuto por unidade de P (dpm mg^{-1}). A partir da análise de ^{32}P nas diferentes partes da planta, foi calculada a porcentagem de P na planta proveniente da solução nutritiva (%Pppsn), utilizando-se a seguinte relação:

$$\%P_{\text{ppsn}} = [(\text{dpm mg}^{-1} \text{ P no material vegetal})/(\text{dpm mg}^{-1} \text{ P no material vegetal})]*100$$

A partir desses resultados nas diferentes partes das plantas, foi determinada a absorção, a remobilização (em relação às partes novas) e a partição do P (^{32}P) nas plantas jovens de laranja.

A quantificação do teor de P total (Pt) no tecido vegetal foi realizada de acordo com Malavolta et al. (1997). A concentração de P no tecido vegetal foi calculada com auxílio de uma curva padrão previamente estabelecida, e expressa em g kg^{-1} .

Além do acúmulo total de ^{32}P na planta inteira ou em diferentes partes (mg planta^{-1} de ^{32}P) e remobilização total (mg planta^{-1} de P), a abordagem destes parâmetros também foi dada em termos relativos: acúmulo relativo (mg g MS^{-1} de ^{32}P) e remobilização relativa (mg grama MS^{-1} de P na parte nova). Esta metodologia foi importante porque forneceu uma idéia de ‘abundância’ do P (^{32}P) na MS, indicando a capacidade de aquisição do nutriente por unidade de MS já presente na planta (partes velhas) e/ou que está sendo produzida (formação de tecidos novos), bem como a dependência do P remobilizado por cada unidade de MS formada na parte nova (remobilização relativa). É importante ressaltar que a expressão dos resultados de remobilização neste estudo foram dados em relação à parte nova, ou seja, o termo P remobilizado representou a participação do P previamente contido na planta em relação à quantidade total ou relativa do nutriente acumulado nos tecidos jovens.

Embora o presente trabalho, não tenha sido desenvolvido com objetivo principal de estudar os efeitos dos PE e da disponibilidade de P na solução nutritiva sobre o crescimento vegetativo de plantas jovens de laranja, considerações foram feitas sobre a produção e distribuição de MS nas plantas, uma vez que estes resultados apresentam relação direta com o acúmulo, a partição e consequentemente a remobilização de P (^{32}P).

6.2.3. Análises dos Resultados

As médias dos tratamentos foram comparadas entre si por meio do uso do desvio-padrão, tendo-se três repetições para cada tratamento.

6.3. Resultados

6.3.1. Acúmulo de massa seca em plantas jovens de larajaneira ‘Pêra’ cultivadas em solução nutritiva

No final do experimento, pouca diferença foi notada entre os tratamentos de P sobre o acúmulo total de MS, sendo mais evidente o efeito dos PE (Figura 1a). Em valores médios, as plantas sobre ‘Cravo’ produziram 1,7 vez mais MS do que aquelas sobre ‘Cleópatra’. Para ambos os PE, quando os tratamentos de P foram comparados, observou-se a mesma tendência na produção de MS total, sendo o tratamento DS aquele de maior valor, com acréscimos de 10,1-15,0% em relação aos demais.

Ao avaliar o acúmulo de MS na parte aérea (PA) (Figura 1b) e no sistema radicular (Figura 1c), efeitos mais pronunciados da disponibilidade de P foram observados para este último parâmetro. O maior crescimento radicular foi constatado para as plantas cultivadas durante o pré-tratamento com baixa disponibilidade do nutriente (DD e DS). O acúmulo de MS nas raízes das plantas de ‘Pêra’/‘Cravo’ foi 30,3% superior em relação à ‘Pêra’/‘Cleópatra’. Observaram-se na PA valores semelhantes de MS na parte velha (folhas velhas + ramos velhos + tronco) entre os tratamentos de P dentro de cada PE. Considerando que após a poda de uniformização/estímulo às brotações, o ganho de MS nestas partes foi pequeno, os dados confirmaram a condição de uniformidade das plantas no início do estudo de absorção, partição e remobilização de P (^{32}P). Em valores percentuais, a fração de MS nas partes velhas correspondeu à 47-58% da MS total.

As diferenças no vigor de crescimento das brotações na PA foram observadas (Figura 1b). Para ambas as combinações copa/porta-enxerto, o menor acúmulo de MS na parte nova foi observado para o tratamento DD, enquanto o máximo ocorreu para o DS. Isto demonstrou que as plantas, quando ressupridas com o nutriente, investiram em novos fluxos crescimento. A participação de folhas novas e ramos novos no acúmulo de MS total ao final do experimento, representou na média dos tratamentos de P à 9,5 e 16,2%, para as plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’ e ‘Pêra’/‘Cravo’, respectivamente.

A relação raiz/parte aérea (R/PA) foi 25% e 50% mais elevada para os tratamentos CI-DD e Cr-DD quando os mesmos foram comparados com CI-SS e Cr-SS (Figura 1d). Exceto para o tratamento DD, as plantas sobre tangerina ‘Cleópatra’ mostraram mais elevada R/PA do que ‘Pêra’/‘Cravo’, com diferenças entre 46,7-66,7%.

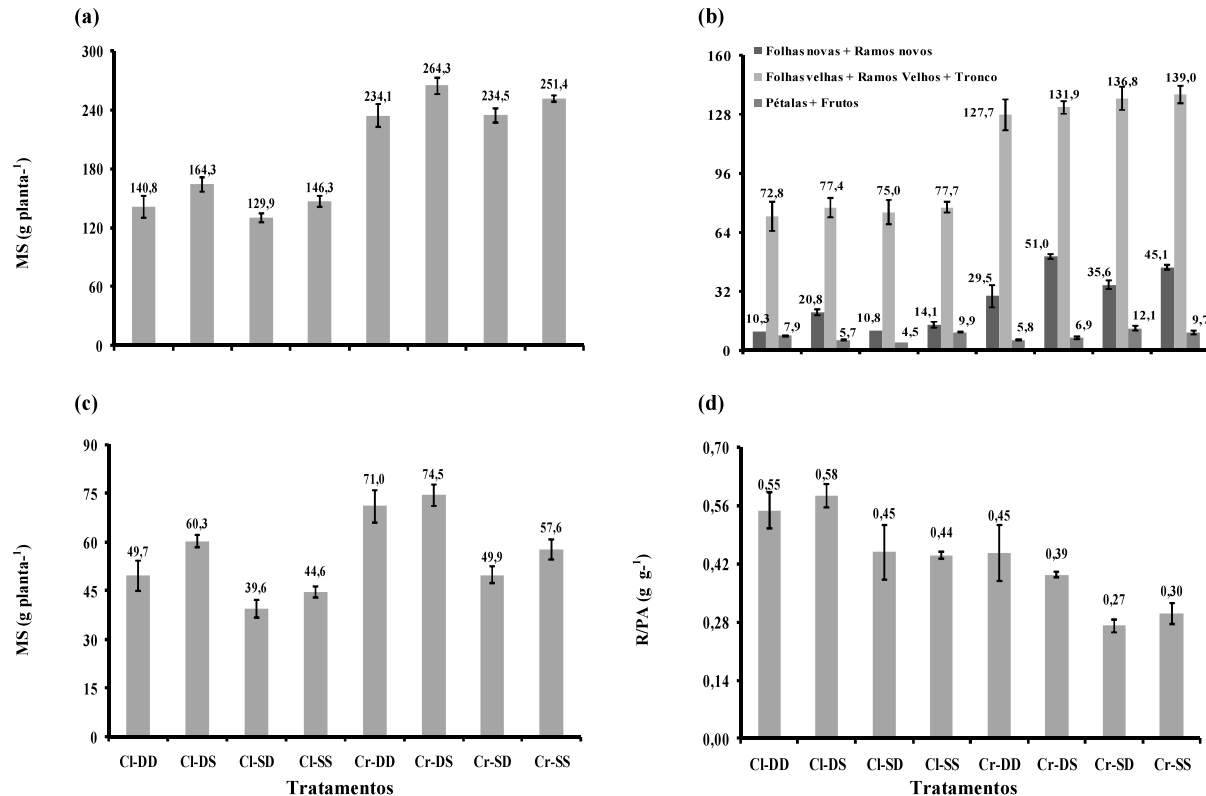


Figura 1. Produção de massa seca total (a), de componentes da parte aérea (b), do sistema radicular (c), e relação raiz/parte aérea (R/PA) de plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, cultivadas em variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva. Barras verticais indicam o erro-padrão da média (n = 3).

6.3.2. Estado nutricional por fósforo, absorção e destino do nutriente em plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’

Em todas as partes das plantas, os menores teores foram determinados naquelas continuamente cultivadas em condições de deficiência (Figura 2). Exceto para as pétalas dos tratamentos DS, SD e SS (Figura 2e), teores mais baixos de P foram encontrados para ‘Pêra’/‘Cravo’. Este resultado foi provavelmente devido ao fator diluição, uma vez que acumularam maior quantidade de MS do que as plantas ‘Pêra’/‘Cleópatra’.

A alteração da concentração de P da solução nutritiva de suficiência para deficiência (SD), seguindo-se o cultivo por 48 dias, apresentou a tendência de reduzir os toeres de P no tecido vegetal em relação ao SS. O decréscimo do teor de P nas folhas velhas, ramos velhos, tronco e raiz nas plantas do SD em relação ao SS, foi dado em função da mobilização interna de P para os novos fluxos de

crescimento. Em termos absolutos, as raízes das plantas ‘Pêra’/‘Cravo’ tiveram o maior decréscimo no teor do nutriente (queda estimada de $0,73 \text{ mg kg}^{-1}$), fornecendo indícios de ter sido importante fonte do P destinado para as partes novas. Nas folhas velhas e no tronco, o decréscimo correspondeu à $0,13\text{-}0,15 \text{ mg kg}^{-1}$. Nas plantas sobre ‘Cleópatra’, as partes velhas apresentaram reduções nos teores de P que variaram entre $0,23$ a $0,32 \text{ mg kg}^{-1}$ de P. O ressuprimento de P na solução nutritiva elevou os teores do elemento no tecido vegetal. Por exemplo, nas folhas velhas tais acréscimos corresponderam à 58 e 60% para ‘Pêra’/‘Cleópatra’ e ‘Pêra’/‘Cravo’, respectivamente.

Independente do PE, as plantas cultivadas na maior disponibilidade de P durante todo o período experimental acumularam maior quantidade do elemento (Figuras 3a e 3b), sendo 123,1 à 184,9% superior ao regime de crescimento DD (Figura 3a). As plantas enxertadas sobre ‘Cravo’ apresentaram valores de P acumulado na ordem de 1,3 à 1,7 acima dos observados em ‘Pêra’/‘Cleópatra’ (Figura 3a). Na análise da distribuição do P nas plantas, maiores quantidades (mg planta^{-1} de P) foram observados na parte velha (folhas velhas + ramos velhos + tronco) e raiz (Figuras 3b).

O acúmulo de P nas várias partes das plantas seguiu o padrão de produção de MS, o que foi confirmado por correlações significativas entre estas duas variáveis (folha nova: $r = 0,99$; $P < 0,0001$; $n = 24$; folha velha: $r = 0,82$; $P = 0,001$; $n = 24$; ramos novos: $r = 0,85$; $P = 0,001$; $n = 24$; pétalas: $r = 0,98$; $P < 0,001$; $n = 24$; frutos: $r = 0,98$; $P < 0,001$; $n = 24$).

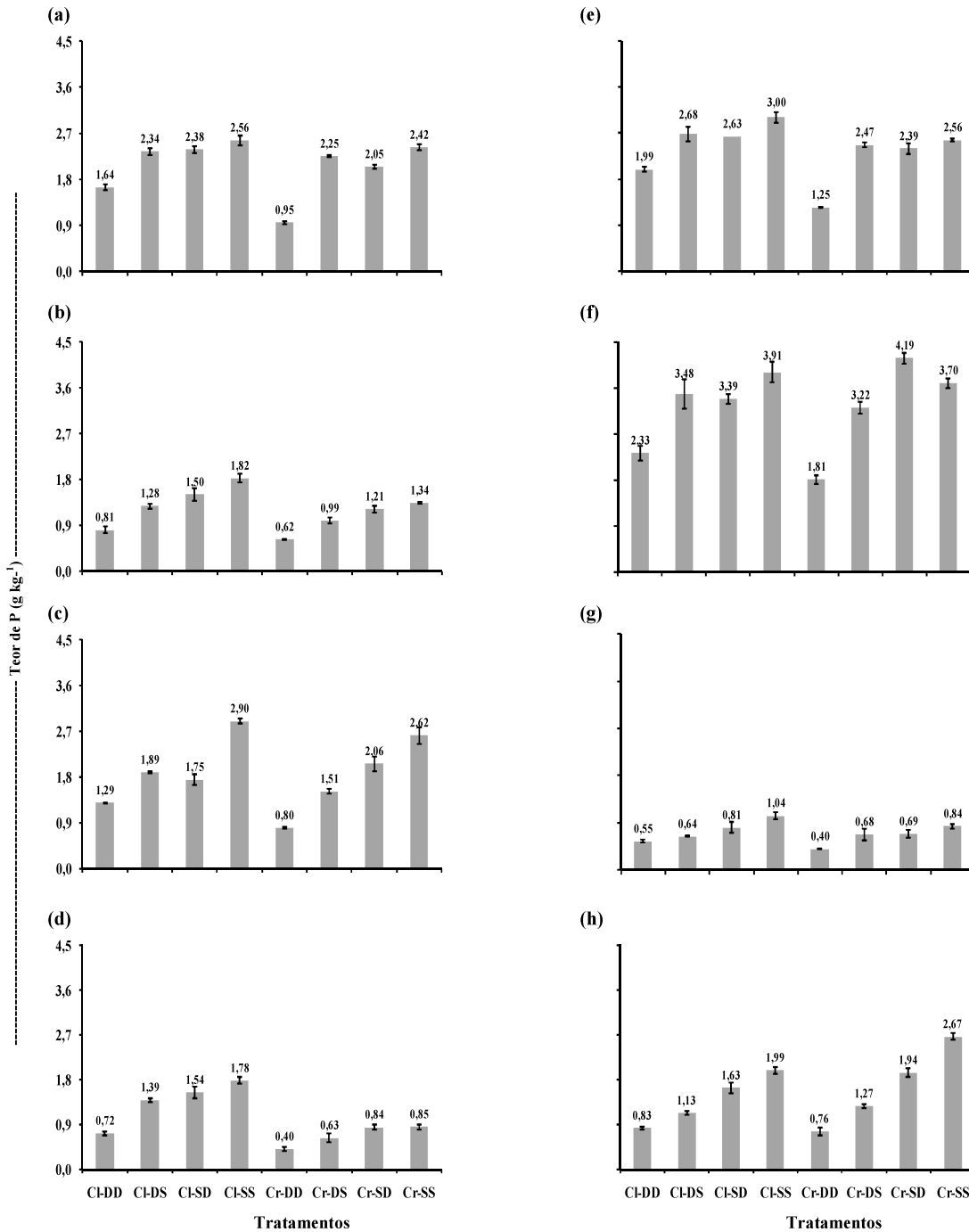


Figura 2. Teor de P em folhas novas (a), folhas velhas (b), ramos novos (c), ramos velhos (d), pétalas (e), frutos (f), tronco (g) e raiz (h) de plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, crescidas em variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva. As barras verticais indicam o erro padrão da média ($n = 3$).

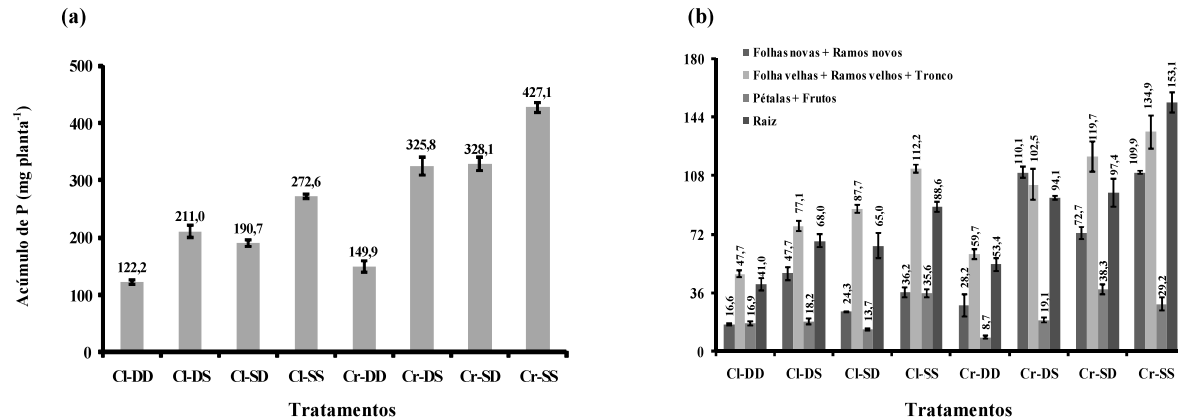


Figura 3. Acúmulo total (a) e em diferentes partes (b) de P nas plantas jovens de laranja ‘Pêra’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, crescidas em variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n = 3).

6.3.3. Acúmulo total e relativo de fósforo (³²P) em plantas jovens de laranja ‘Pêra’ em função do porta-enxerto e do estado nutricional

O acúmulo total (mg planta⁻¹ de ³²P) e relativo de ³²P (mg g MS⁻¹ de ³²P) na laranja foi influenciado pelo PE e tratamento de P (Figura 4a e 4b). Em ambas as combinações, as plantas cultivadas em baixa disponibilidade e em seguida ressupridas com P (Cl-DS ou Cr-DS), apresentaram maior acúmulo de ³²P em relação àquelas que permaneceram em suficiência durante todo o período experimental (Cl-SS ou Cr-SS). O regime de crescimento DS incrementou em 61,8-85,3% e 54,0-58,7% o acúmulo total e relativo de ³²P, respectivamente, em comparação ao SS. Nas plantas dos tratamentos DS e SS, o acúmulo de ³²P total esteve em concordância com a produção final de MS, conforme demonstrado pela correlação entre eles (r = 0,90; P < 0,0001; n = 12).

Observou-se que nas plantas ‘Pêra’/‘Cravo’ o acúmulo total de ³²P foi 118,4% e 150,2% maior nos tratamentos DS e SS, respectivamente, em comparação aos mesmos regimes de crescimento da ‘Pêra’/‘Cleópatra’ (Figura 4a). Os valores de ³²P relativo em Cl-DS e Cl-SS corresponderam à 73,2% e 71,1% daqueles determinados em Cr-DS e Cr-SS (Figura 4b).

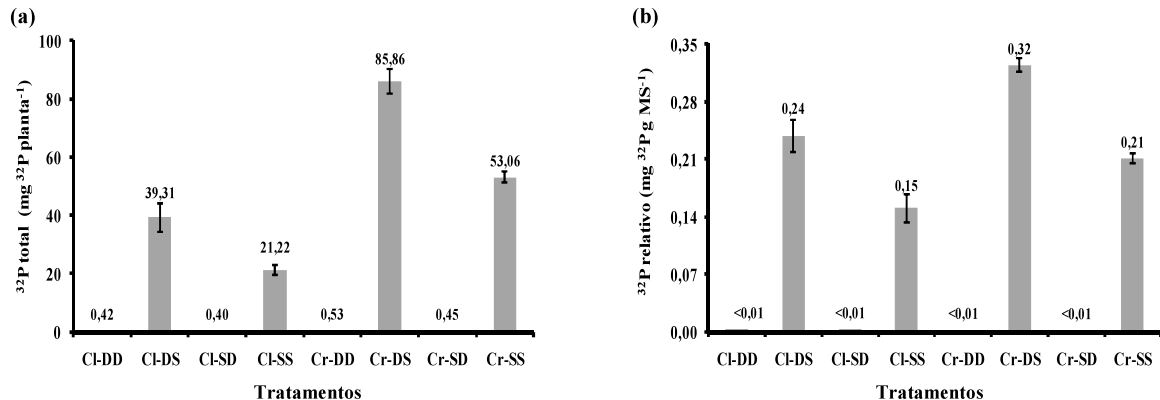


Figura 4. Acúmulo total (a) e relativo de ^{32}P (b) em plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, crescidas em variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n = 3).

O acúmulo total de ^{32}P em diferentes partes da planta esteve em conformidade com o ocorrido para a planta inteira, com maiores valores observados para ‘Pêra’/‘Cravo’ (Figura 5a). Na combinação ‘Pêra’/‘Cleópatra’, o maior acúmulo total de ^{32}P ocorreu na raiz, seguido pela parte velha (folhas velhas + ramos velhos + tronco), e por fim, as partes novas. Já nas plantas de ‘Pêra’/‘Cravo’, foi observado maior acúmulo total de ^{32}P nas folhas novas (Figura 5a). A partição do ^{32}P na planta seguiu a tendência determinada para o acúmulo total (Figura 5b). O sistema radicular se destacou com maiores valores percentuais nos tratamentos CI-DD, CI-SS, Cr-DD e Cr-SS. Para os demais, o destino do ^{32}P para as raízes foi equivalente ao da parte velha. As estruturas reprodutivas corresponderam ao menor destino total de ^{32}P , devido ao menor acúmulo de MS (Figura 5b).

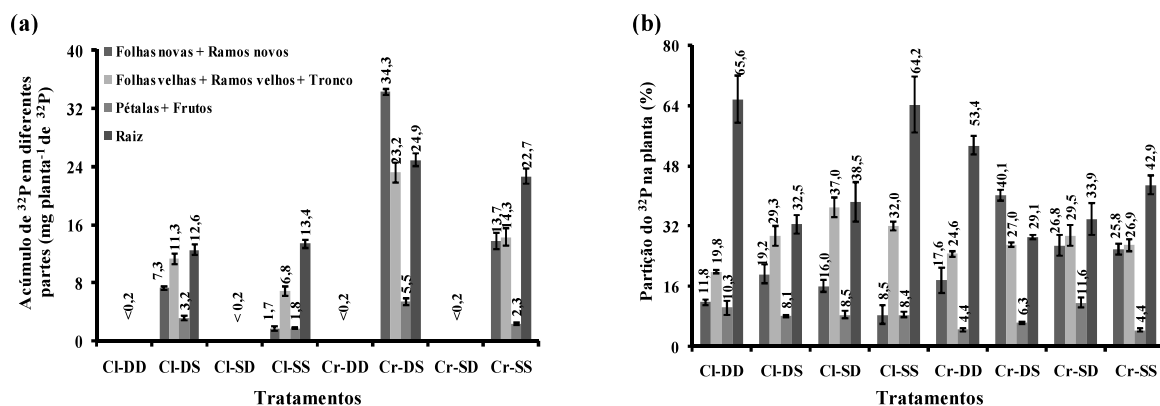


Figura 5. Acúmulo em diferentes partes (a), e partição de ^{32}P (b) em plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, crescidas em variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n = 3).

Foi observada maior alocação do ^{32}P para os tecidos novos das plantas (folhas novas, ramos novos e frutos) em detrimento às partes velhas (tronco, folhas velhas e ramos velhos) (Figura 6a). A alocação preferencial de ^{32}P relativo para a parte nova esteve entre 97,7-400,0% e 233,3-566,7% superior nos tratamentos de P avaliados, para as plantas enxertadas sobre ‘Cleópatra’ e ‘Cravo’, respectivamente. O acúmulo relativo de ^{32}P nas folhas novas + ramos novos, pétalas + frutos apresentou o mesmo padrão determinado para a planta inteira, quanto à influência dos PE e da disponibilidade de P na solução nutritiva (Figura 6b). Entretanto, para a parte velha, o efeito dos tratamentos de P ocorreu em menor magnitude, e não foi detectado efeito do PE (Figura 6c).

Exceto para o tratamento Cr-SS, quando as plantas foram conduzidas em condições de suficiência após a adição de ^{32}P , foi constatado o destino preferencial do ^{32}P para as partes reprodutivas (flores + frutos) em relação à folhas + ramos novos (Figura 6b), sobretudo após as plantas sofrerem período de deficiência do nutriente. Entre as partes velhas, o tronco representou a menor importância para o destino do ^{32}P , enquanto folhas velhas e ramos velhos tiveram valores semelhantes de ^{32}P relativo (Figura 6c).

Em relação ao sistema radicular, maiores valores de ^{32}P relativo foram encontrados para as plantas ‘Pêra’/‘Cravo’ (Figura 6d). Entretanto, diferente do ocorrido na PA, o tratamento DS não proporcionou maiores valores de ^{32}P relativo em comparação ao SS, indicando que, quando a planta possui concentração do nutriente na PA em maiores níveis, alocação preferencial da fração recém absorvida permaneceu no sistema radicular (Figura 6d).

A absorção diária estimada de ^{32}P para ‘Pêra’/‘Cravo’ foi 133,3-147,8% superior ao determinado para ‘Pêra’/‘Cleópatra’ (Figura 7a). O maior crescimento radicular das laranjeiras sobre ‘Cravo’ contribuiu para a maior aquisição de ^{32}P , dada a maior superfície de raízes disponível. Entretanto, mudanças nas propriedades do sistema radicular destas plantas também ocorreram, uma vez que variação na eficiência de absorção de ^{32}P (EAP) foi detectada entre as duas combinações, sendo ‘Pêra’/‘Cravo’ mais eficiente (Figura 7b). A EAP destas plantas foi 88,5-93,8% mais elevada do que ‘Pêra’/‘Cleópatra’. Além disso, a mais elevada EAP foi constatada no tratamento DS, a qual foi 27,1% e 23,7% superior ao SS, para ‘Pêra’/‘Cleópatra’ e ‘Pêra’/‘Cravo’, respectivamente (Figura 7b).

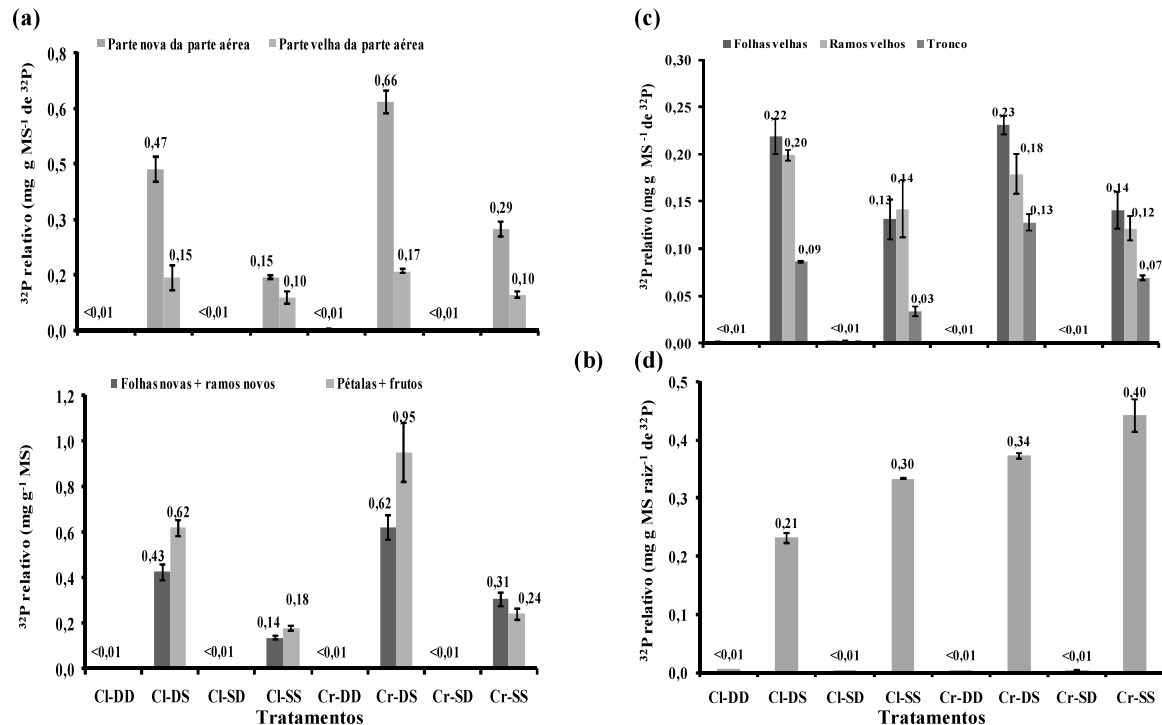


Figura 6. Valores de ³²P relativo na parte nova ou velha da parte aérea (a), ³²P relativo na parte vegetativa (folhas novas + ramos novos) e reprodutiva (pétalas + frutos) (b), ³²P relativo na parte velha (folhas velhas, ramos velhos e tronco) (c), e por fim ³²P relativo nas raízes (d), em plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, crescidas em variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n = 3).

A eficiência de suprimento de P à parte aérea (ESP, mg ³²P na parte aérea g MS de raiz⁻¹) foi dependente do PE e do tratamento de P (Figura 7c). O limão ‘Cravo’ foi mais eficiente em atender a demanda da copa pelo nutriente para cada unidade de MS do sistema radicular, e apresentou ESP 104,0% e 113,3% superior à tangerina ‘Cleópatra’ para os tratamentos DS e SS, respectivamente. Entretanto, para ambas as combinações, o regime de crescimento DS aumentou a ESP em 54,1-61,0% em comparação ao SS (Figura 7c).

A relação entre ³²P relativo na PA e na raiz informou o destino preferencial do nutriente na planta. Quando conduzidas no regime SS o ³²P relativo na PA correspondeu à 40% dos determinados nas raízes. Entretanto, após passarem por estresse e serem ressupridas com P, o ³²P por unidade de massa seca foi aproximadamente equivalente entre PA e raiz, indicando aumento relativo no transporte de P (Figura 7d). Para os tratamentos DS e SD, a relação entre ³²P na PA com ³²P na raiz, maiores

valores foram encontrados para ‘Pêra’/‘Cleópatra’, o que significa que menor ESP por este PE não esteve relacionado à acúmulo preferencial do elemento no sistema radicular.

6.3.4. Remobilização de fósforo em plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ com diferente estado nutricional

Ocorreu remobilização do nutriente previamente acumulado em folhas velhas, ramos velhos, tronco e raiz, para os novos fluxos de crescimento da PA (ramos novos, folhas novas, pétalas e frutos). A remobilização interna total de P (mg P planta^{-1}), exceto para o tratamento DD, foi dada em maior quantidade para a ‘Pêra’/‘Cravo’ (Figura 8a). Por exemplo, no tratamento SS, as plantas ‘Pêra’/‘Cravo’ apresentaram remobilização 80,1% maior ao detectado para ‘Pêra’/‘Cleópatra’.

As maiores diferenças na quantidade total remobilizada entre os tratamentos de P foram constatadas para a comparação entre DD e SS. Este último foi 104,6% e 234,4% superior para a ‘Pêra’/‘Cleópatra’ e ‘Pêra’/limão ‘Cravo’, respectivamente. A quantidade total remobilizada foi relacionada ao acúmulo de MS nas partes novas ao final do experimento ($r = 0,83$; $P = 0,001$; $n = 24$). Além disso, a remobilização foi dependente do estado nutricional por P da planta, como demonstrado pela correlação positiva entre o teor foliar de P das folhas velhas nas plantas dos tratamentos DD e SS com a quantidade remobilizada para a PA ($r = 0,45$; $P = 0,03$; $n = 12$).

Quando a quantidade de P remobilizada foi analisada para folhas novas, ramos novos, pétalas e frutos, foi observada a mesma tendência da planta inteira (Figuras 9a, 9d, 10a e 10d), sendo normalmente encontrada maior remobilização (participação do P previamente contido na planta em relação ao P total acumulado em tecidos jovens) para ‘Pêra’/‘Cravo’. Dentre as estruturas, as folhas novas corresponderam aos maiores valores absolutos de remobilização, devido ao maior acúmulo de MS, caracterizando-se como o principal dreno. A quantidade remobilizada para esta parte correspondeu à 15,26-36,86 e 26,57-85,58 mg planta^{-1} de P para as plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’ e ‘Pêra’/‘Cravo’, respectivamente.

Em termos de remobilização relativa ($\text{mg de P grama MS parte nova}^{-1}$ de P), os tratamentos SD e SS continuaram mostrando maiores valores quando comparados àqueles com pré-tratamento de deficiência (DD e DS), tanto para a média de toda a parte nova (Figura 8b), como para as diferentes partes avaliadas (Figuras 9b, 9e, 10b e 10e). Entretanto, ao contrário do ocorrido para a remobilização total, nas plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’ foi detectado remobilização relativa mais elevada (Figuras 8b, 9b, 9e, 10b, 10e). Estes dados refletiram maior dependência do P previamente armazenado para atender a demanda do elemento em cada nova estrutura que estava sendo formada na ‘Pêra’/‘Cleópatra’. As

diferenças foram mais acentuadas na comparação realizada no regime de crescimento DS, do que aquela obtida para a condição SS. Portanto, mesmo que as plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’ encontrem teores adequados de P na solução do solo no momento da emissão dos fluxos de crescimento, por serem mais dependentes das reservas internas, seria importante que estivessem suficientemente nutridas, de modo que pudesse ocorrer remobilização em níveis adequados. Desta maneira, poderia ser afirmado que nas plantas sobre ‘Cravo’ houve maior contribuição da absorção radicular para o atendimento da nova demanda por P.

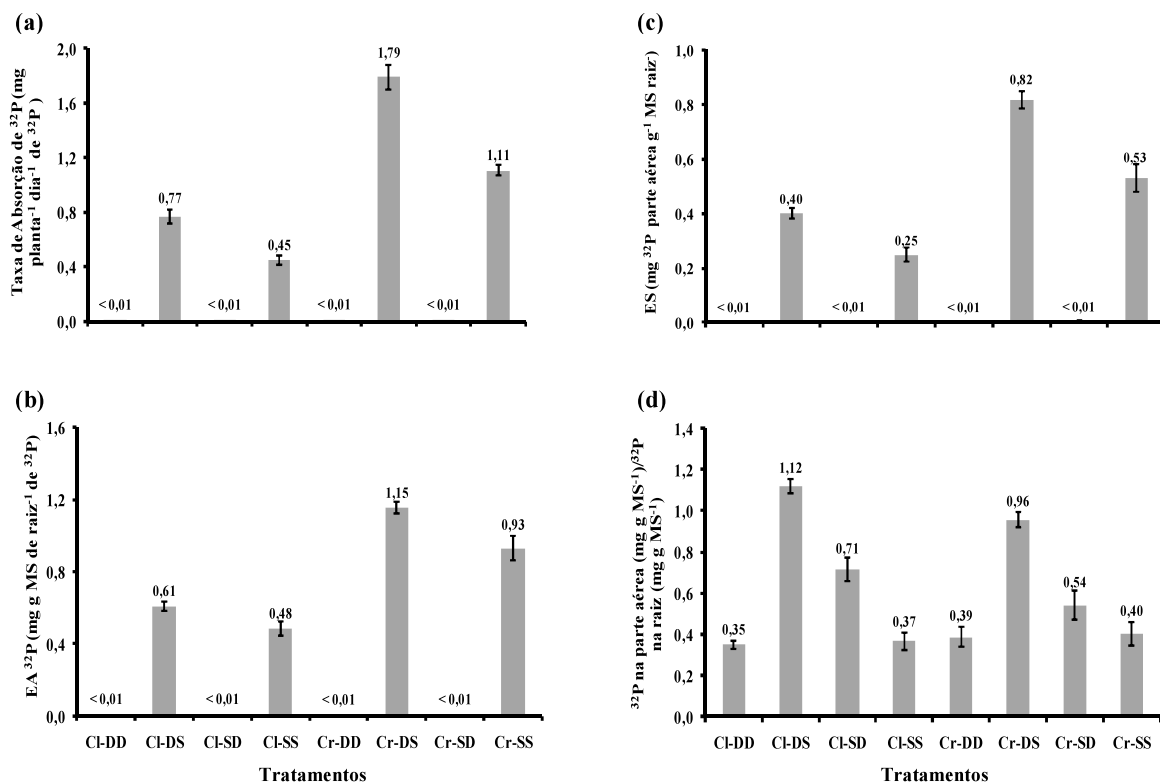


Figura 7. Eficiência de absorção de ^{32}P (a), absorção diária estimada de ^{32}P (b), eficiência de suprimento de ^{32}P à parte aérea (c), e relação entre ^{32}P relativo PA com ^{32}P relativo na raiz (d) em plantas jovens de laranjeira ‘Pêra’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, crescidas em variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n = 3).

As plantas que foram mantidas em condições adequadas do nutriente (tratamento SS) apresentaram as mais elevadas taxas de remobilização relativa (Figuras 8b, 9b, 9e, 10b, 10e). Estes resultados são indicativos que a remobilização foi dependente do estoque do nutriente na planta, e provavelmente um processo com menor custo energético do que aquisição de nutrientes através das

raízes. Certamente, estas plantas após um longo período acumularam P em seu tecido, sobretudo na forma de P inorgânico vacuolar (forma de reserva), que se encontrava disponível para o transporte em direção às partes novas com maior demanda e atividade metabólica.

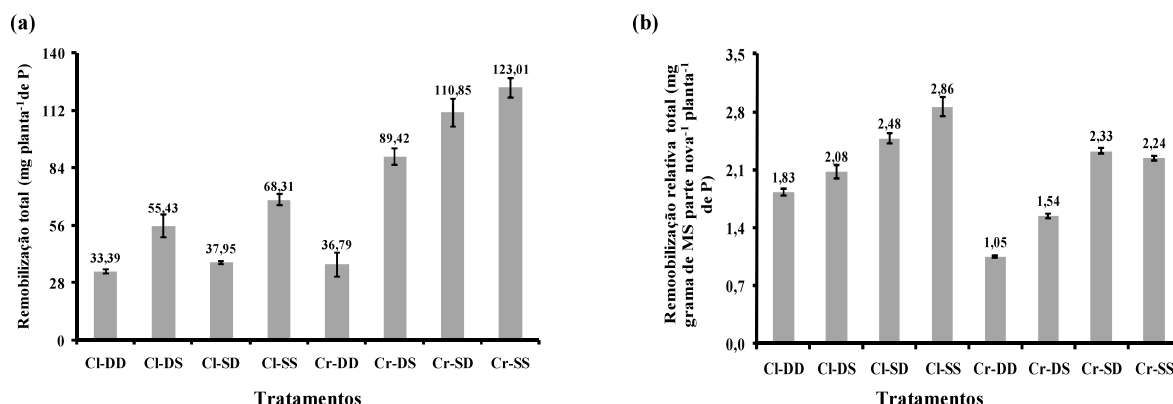


Figura 8. Remobilização total (a), relativa de P (b) para as partes novas da parte aérea de plantas jovens de laranjeira ‘Pera’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, crescidas em variada disponibilidade de fósforo na solução nutritiva. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n = 3).

Quando considerados os tratamentos suficiência-deficiência (CI-SD, Cr-SD) ou deficiência-deficiência (CI-DD, Cr-DD), observa-se que o P contido nos novos fluxos de crescimento, seriam 99,5% do P proveniente de frações do nutriente previamente contido nas plantas (8c, 9c, 9f, 10c e 3f). Verificou-se que a participação do P remobilizado daquele contido nos novos fluxos foi mais elevada para as plantas enxertadas sobre tangerina ‘Cleópatra’ (Figuras 8c, 9c, 9f, 10c, 10f). Além disso, as diferenças foram mais acentuadas quando as plantas foram crescidas em condição de deficiência por P.

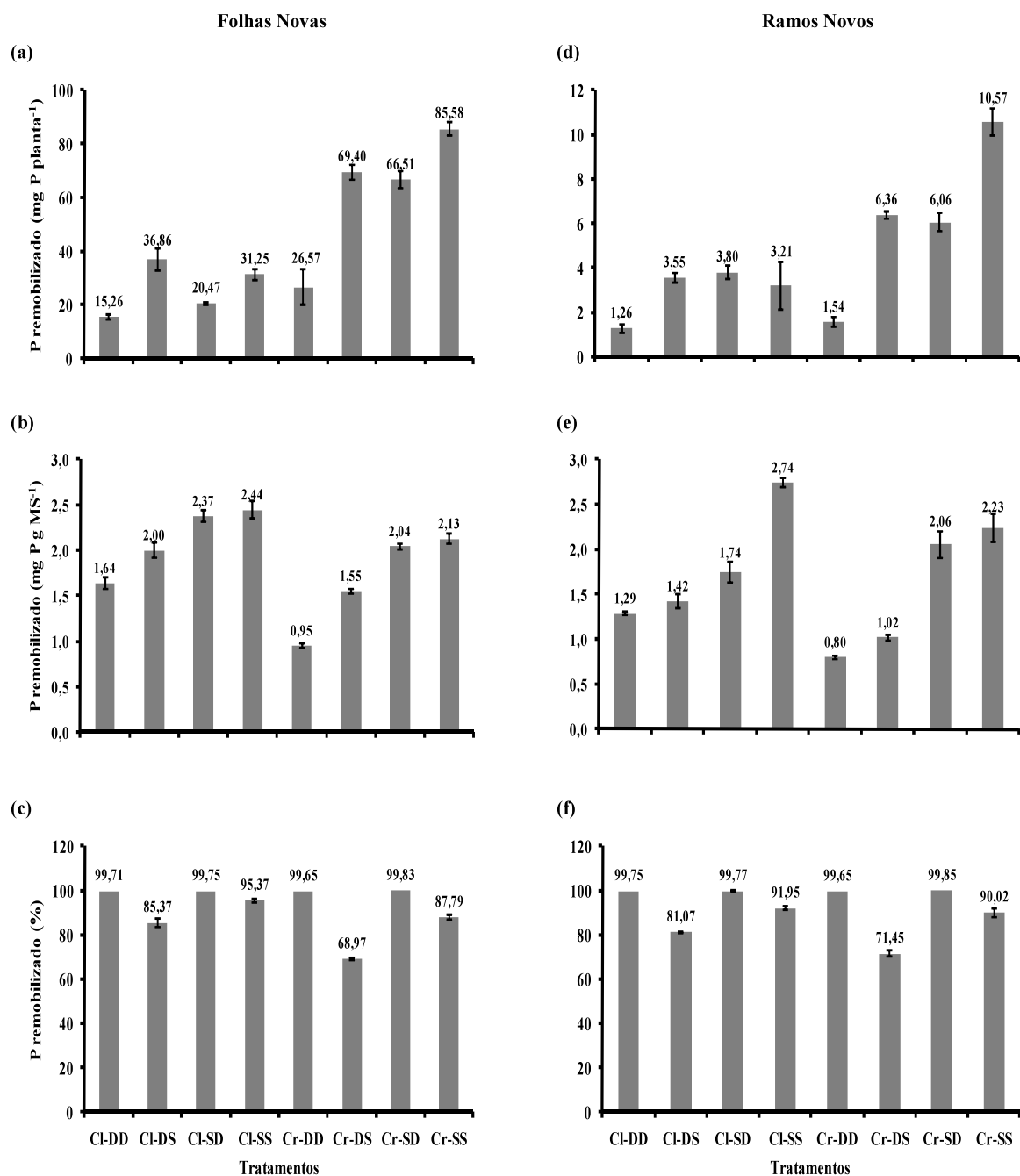


Figura 9. Remobilização total (a,d) e participação do fósforo remobilizado (b, c, e,f) em folhas novas e ramos novos de plantas jovens de laranjeira ‘Pera’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, que foram desenvolvidos após a marcação da solução nutritiva com ³²P. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=3).

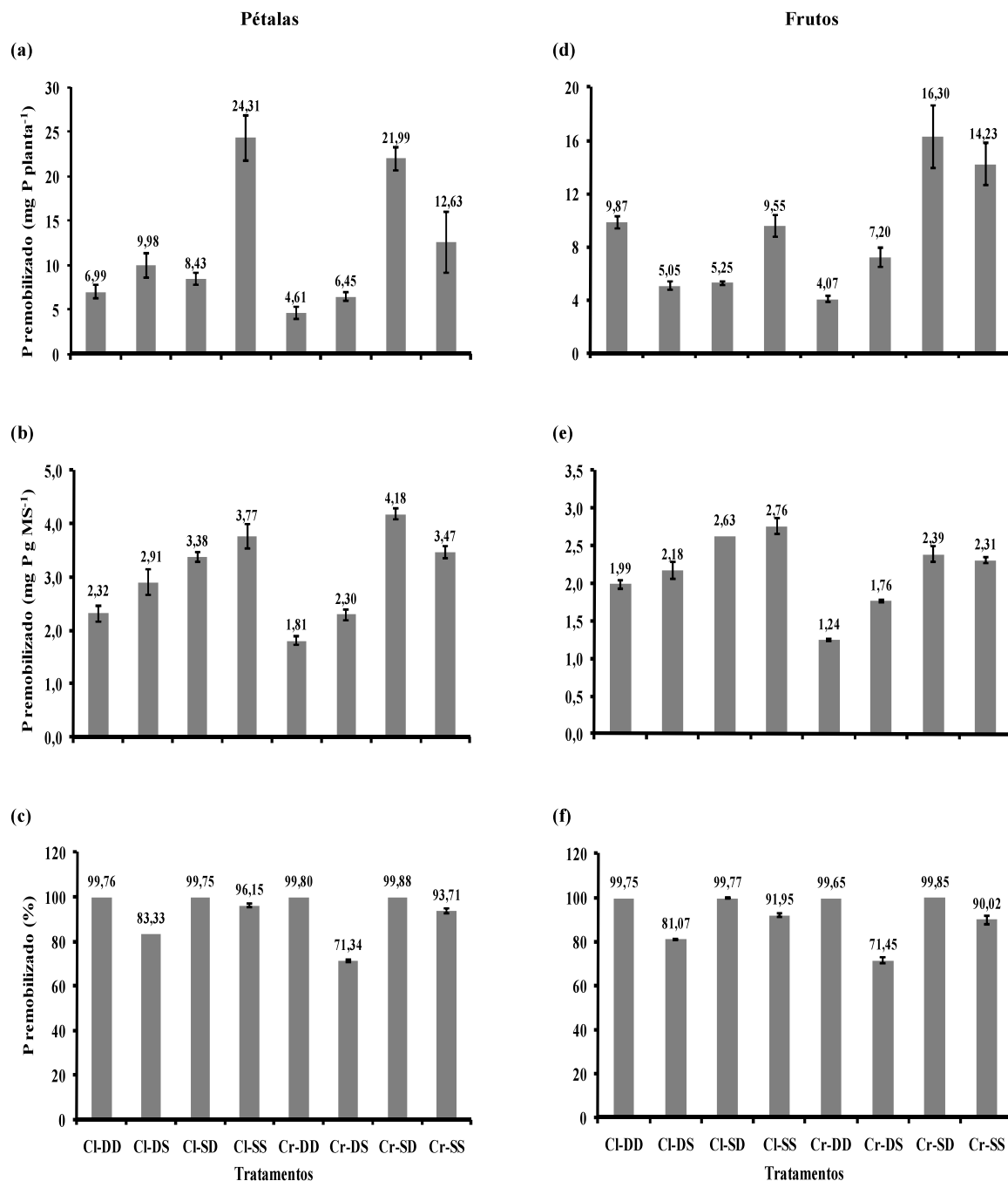


Figura 10. Remobilização total (a,d) e participação do fósforo remobilizado (b, c, e,f) em pétalas e frutos de plantas jovens de laranjeira ‘Pera’ enxertada sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’, que foram desenvolvidos após a marcação da solução nutritiva com ³²P. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n =3).

6.4. Discussão dos Resultados

6.4.1. Disponibilidade de fósforo e porta-enxertos: efeito na absorção de ^{32}P

As plantas apresentam mecanismos adaptativos para superarem as condições de deficiência de P no solo, os quais estão relacionados ao aumento da disponibilidade do P do meio externo, à eficiência de absorção e de utilização interna (Liu et al., 1998). Existe a indução de genes, cujos produtos promovem a reciclagem intracelular do P_i , a mobilização e aquisição extracelular (Abel et al., 2002). O incremento da taxa de absorção de P_i em condições de deficiência é uma conhecida resposta dos vegetais (Cogliatti & Clarkson, 1983; Schachtman et al., 1998; Mimura, 2001; Abel et al., 2002; Karthikeyan et al., 2002). Semelhante constatação também foi detectada no presente trabalho. O pré-tratamento de P, no qual se procedeu-se o cultivo em baixa disponibilidade de P, e em seguida houve o ressuprimento (tratamento DS), estimulou a absorção e o acúmulo de ^{32}P nas laranjeiras, quando foram comparadas àquelas continuamente tratadas com a maior disponibilidade de P (tratamento SS). Plantas de milho e soja após terem sido crescidas em condições variadas de disponibilidade de P na solução nutritiva, observou-se correlação negativa entre a concentração de P na PA e o valor de influxo máximo (I_{max}), indicando que a capacidade de absorção do sistema radicular foi regulada pelo estado nutricional por P (Jungk et al., 1990). Os autores ainda relataram que o aumento na eficiência de absorção das raízes de plantas estressadas não foi devido a mudanças da constante de afinidade (K_m). Assumindo que o K_m define a característica de uma proteína transportadora, quando mudanças neste parâmetros não são observadas, isto significa que não houve alteração no tipo de transportador. Os incrementos nas taxas de absorção radicular têm sido atribuídos à elevação do número de transportadores de alta afinidade na membrana plasmática (Muchhal & Raghothama, 1999; Karthikeyan et al., 2002). A presença deste tipo de transportador é essencial para a aquisição do nutriente, uma vez que os seus teores normalmente encontrados na solução do solo são extremamente baixos ($1\text{-}10\ \mu\text{mol L}^{-1}$) (Raghothama, 1999).

As plantas apresentam dois sistemas básicos de respostas à variação da disponibilidade de nutrientes no meio. Um depende do estado nutricional da planta como um todo (ou especificamente da PA), enquanto que o segundo, resulta de variações no suprimento ao sistema radicular, que por sua vez, transmite informações à parte aérea sobre alterações na disponibilidade do nutriente (Forde, 2002). Ambos os mecanismos devem estar presentes nas plantas de laranjeira, com o PE atuando na percepção do estresse e na transmissão de sinais à PA, e esta por sua vez, regulando a demanda pelo nutriente. Ambos os PE mostraram sensibilidade à menor disponibilidade do nutriente na solução nutritiva, uma

vez que após a imposição do estresse, seguindo-se o ressuprimento do nutriente, houve maior eficiência na absorção de P e na sua translocação para a PA. A deficiência por P aumentou a absorção e o transporte do nutriente para a PA de plantas de cevada cultivadas em solução nutritiva (Drew & Saker, 1984). A existência de sinais à longa distância que regulam as respostas à deficiência por P tem sido inferida a partir de experimentos com raízes subdivididas. Nestes tipos de estudo, as raízes de plantas deficientes em P são subdivididas, sendo uma parte exposta num meio com alto P, enquanto a outra é deixada em baixa disponibilidade do nutriente P. As respostas ao meio deficiente em P têm sido sistematicamente reprimidas nas partes das raízes expostas à um baixo P, o que tem conduzido para a proposta que é o estado nutricional por P na PA é responsável pelo controle das repostas nas raízes (Franco-Zorilla et al., 2004). Recentemente, utilizando plantas de *Arabidopsis* e tabaco, foi confirmada a participação do microRNA na comunicação do estado nutricional por P entre raízes e PA (Lin et al., 2008). De acordo com os autores, a alocação e reciclagem de P_i reflete o estado nutricional por P em diferentes tecidos. Deste modo, na condição de reduzido transporte de P das raízes para a PA durante o início da deficiência por P, ocorre indução a produção de microRNA (miR399s), que é transportado via floema para o sistema radicular onde atuará na ativação do processo de absorção de P na região da rizosfera e subsequente distribuição na planta.

Os distintos resultados encontrados neste estudo quanto ao acúmulo de ^{32}P nas plantas foram definidas pela demanda da PA pelo nutriente, a qual é o principal fator regulador da absorção de nutrientes pelas plantas (Rubio et al., 2004). Além da regulação do processo de absorção do ion para a manutenção da homeostase celular em tecidos já existentes, a demanda por P foi definida pelas necessidades em atender MS que está sendo incorporada nas plantas. O maior crescimento da PA e consequentemente da área foliar disponível para a transpiração, e assim do movimento de água ao longo do xilema, a princípio poderia ser proposto, como um fator determinante para a maior absorção do nutriente pelas plantas. Entretanto, é bem definido que o processo metabólico de aquisição de íons e o passivo de absorção de água são independentes (Tanner & Beevers, 2001). Além disso, a associação deste processo com o suprimento de nutriente à PA é mais importante para outros elementos, como o Ca ou mesmo moléculas neutras, sendo muito baixa ou praticamente inexistente para P (Marschner, 1995). Entretanto, uma vez no interior da planta, a taxa de transporte do P das raízes à PA pelos vasos do xilema ocorre por fluxo de massa através da corrente transpiratória (Almeida et al., 1999).

As diferenças encontradas para os PE quanto à absorção e atendimento da demanda por P pela parte aérea é resultado de um somatório de fatores. Os resultados do nosso trabalho demonstraram que

em termos de acúmulo total de ^{32}P , os maiores valores determinados para as plantas sobre limão ‘Cravo’ foram definidos pela maior produção de MS total destas plantas. A PA das plantas de limão ‘Cravo’ foi mais vigorosa (maior acúmulo de MS) em todos os tratamentos de P. Deste modo, a maior quantidade de MS na PA elevou a demanda pelo nutriente, fazendo com que as taxas de absorção do sistema radicular fossem maiores para essas plantas, dado ao fator regulatório da PA. Em nosso trabalho tal suposição foi confirmada por meio da correlação significativa entre o acúmulo de ^{32}P nas plantas e a MS da parte aérea das plantas provenientes dos tratamentos DS e SS ($r = 0,81$; $P = 0,001$; $n = 12$). Ainda, quando este acúmulo é corrigido para a produção total de MS, obtendo-se o ^{32}P relativo, a mesma tendência foi observada em diferentes partes das plantas, confirmando a maior capacidade de aquisição de P (^{32}P) pelas plantas enxertadas sobre limão ‘Cravo’.

Quando o sistema radicular dos dois porta-enxertos é comparado, tanto o maior crescimento absoluto (acúmulo de MS) como a eficiência de absorção de P (EAP) contribuíram para maior aquisição de ^{32}P na combinação laranjeira ‘Pêra’/limão ‘Cravo’. Isto foi confirmado pelas correlações significativas obtidas para o total de ^{32}P acumulado (mg planta^{-1} de ^{32}P) com MS de raízes ($r = 0,95$; $P < 0,001$; $n = 12$) e com a EAP ($r = 0,91$; $P < 0,001$; $n = 12$). A influência do PE no conteúdo mineral da parte aérea das plantas tem sido atribuída às características físicas do sistema radicular, como o crescimento lateral e vertical, o que altera a absorção de água e de nutrientes (Ruiz et al., 1997). Entretanto, estas diferenças tornam-se muito mais complexas quando as plantas são submetidas à condições de estresse nutricional, quando a eficiência de aquisição de nutrientes é o produto de propriedades morfológicas, fisiológicas e bioquímicas do sistema radicular (Marschner, 1998). As alterações no sistema radicular em plantas sob condições de deficiência por P foram apresentadas anteriormente neste trabalho (item 4.4.3).

6.4.2. Destino do ^{32}P absorvido da solução nutritiva e remobilização interna de fósforo

Ao ser analisado o destino do P (^{32}P) absorvido da solução nutritiva na PA, acentuada diferença foi observada no P alocado entre as partes novas e velhas, ocorrendo alocação preferencial para a primeira, com diferenças mais acentuadas após um período de deficiência pelo nutriente, seguindo-se o ressuprimento (Tratamento DS). Segundo Rauch & Bucher (2002), a maior parte do nutriente absorvido pelas raízes é transportado no xilema para folhas novas. O acúmulo de P nas regiões de crescimento é suportado pelo fato que o elemento é extremamente móvel no interior da planta, e que estas regiões apresentam elevado requerimento (Floc’h & Penot, 1978).

O estresse por P intensifica a competição entre raiz e PA pelo P endógeno e por aquele recentemente absorvido quando o suprimento é restabelecido (Cogliatti & Clarkson, 1983). No presente estudo, a imposição do estresse por P conduziu a incrementos no acúmulo relativo de ^{32}P na PA das laranjeiras em relação ao sistema radicular $[(\text{mg g MS PA}^{-1} \text{ de } ^{32}\text{P})/(\text{mg g}^{-1} \text{ MS raiz}^{-1} \text{ de } ^{32}\text{P})]$ após o ressuprimento do nutriente (Figura 6d). A maior proporção ocupada pelas partes novas em relação à MS total da PA das plantas provenientes do tratamento DS, somada à alocação preferencial do nutriente nestas partes, contribuíram para o maior acúmulo relativo do P. Em plantas de aveia com 22 dias de idade cultivadas em solução nutritiva, aproximadamente 80% do ^{32}P absorvido pela raiz seminal foi translocado para a PA (Clarkson et al., 1978). Segundo os autores, a análise da composição mineral das plantas de aveia demonstrou que a concentração de P na PA foi reduzida em maior magnitude do que o ocorrido nas raízes, o que acarretou em dominância da taxa de transporte para a PA sobre a retenção de P nas raízes.

Apesar da alocação preferencial do ^{32}P absorvido nas partes novas, isto não significou baixa dependência do P remobilizado internamente das partes mais velhas. Mesmo com o adequado e constante suprimento de P às plantas (tratamento SS), a participação da porção remobilizada do nutriente para o total acumulado nas partes novas foi alta, com valores atingindo 95,8 e 88,4% para as combinações ‘Pêra’/‘Cleópatra’ e laranja ‘Pêra’/‘Cravo’, respectivamente. As plantas com insuficiente suprimento de P na solução nutritiva (tratamento DD) tiveram aproximadamente 99,7% de todo o P contido nas partes novas proveniente das frações previamente acumulado nas plantas. Contudo, após o crescimento em condições de deficiência contínua, mesmo com alta contribuição da remobilização, os teores do nutriente nas partes novas estiveram abaixo daqueles encontrados nas plantas que foram ressupridas (tratamento DS), que permaneceram em suficiência (tratamento SS) ou mesmo aquelas, que após um período de suficiência, foram submetidas à deficiência (tratamento DS). Em plantas deficientes, o restrito suprimento de Pi pelas raízes à PA através do xilema é compensado por incremento na mobilização do Pi estocado, que é direcionado para tecidos novos na PA e no sistema radicular, o que envolve tanto a depleção do Pi armazenado como a quebra do P orgânico (Rauch & Bucher, 2002). O efeito do estado nutricional (normal ou deficiente) de plantas de café cultivadas em condições de solução nutritiva também foi verificado sobre a absorção e distribuição de nitrogênio. Em plantas deficientes, o nutriente absorvido da solução nutritiva foi preferencialmente transportado para órgãos em crescimento numa proporção maior do que aquelas bem nutridas (Lima Filho & Malavolta, 2003).

A eficiente remobilização de nutrientes minerais se torna um processo fundamental durante o período de interrupção na aquisição de nutrientes pelas raízes (Marschner, 1998). As plantas submetidas ao estresse por P após período de suficiência (tratamento SD) demonstram decréscimos no teor do nutriente na ordem de 10% a 27% nas partes velhas em relação às plantas do tratamento SS, indicando a transferência da fração previamente acumulada. Verificou-se para plantas jovens *Picea sitchensis*, que para os 50% do P remobilizado da parte velha para os novos fluxos de crescimento, 15% foi proveniente de tecidos lenhosos e 35% das folhas, refletindo a maior importância relativa das folhas (Proe & Millard, 1995). A redução no conteúdo de P em folhas maduras de várias espécies arbóreas refletiu a remobilização do nutriente, com decréscimos variando entre 54% e 63% (Fife et al., 2008). Folhas de plantas de pinus em estágio de senescência, que estavam sendo cultivadas em solo deficiente em P, apresentaram reduções de 75% a 87% nos teores do nutriente (Helmisaari, 1992).

A quantidade total remobilizada de P (mg planta^{-1} de P) nas laranjeiras foi positivamente relacionada à demanda por P dos novos fluxos de crescimento da PA (acúmulo de MS) e às reservas de P no interior das plantas. A força do dreno atua como o controle primário sobre a eficiência no qual N e P são remobilizados para suportar o novo crescimento (Nambiar & Fife, 1991). Durante o período de crescimento da PA (ramos e folhas) no início da primavera e durante o verão, a redução na concentração de nutrientes móveis, como o P, em folhas maduras de pinus foi atribuída ao transporte para novos fluxos de crescimento (Helmisaari, 1992). A queda na concentração de nutrientes N, K e P em folhas de *Eucalyptus globulus* com um ano de idade, foi coincidente com o período de máximo crescimento das plantas. As maiores quantidades remobilizadas foram determinadas para as folhas com maior acúmulo de nutrientes (Saur et al., 2000). Os autores concluíram que as quantias iniciais de nutrientes nas folhas e o crescimento das árvores foram os fatores chave em determinar a natureza e a quantidade de nutrientes remobilizados. A quantidade remobilizada se correlaciona fortemente com o conteúdo total do nutriente presente imediatamente antes do início da remobilização, e que esta, é uma relação aplicável para todas as espécies crescendo em áreas cultivadas (Fife et al., 2008). A taxa de remobilização é largamente governada por efeitos sazonais sobre o requerimento de nutrientes pelo crescimento da parte aérea. A quantidade de P remobilizada por unidade de massa de ramos ao longo de uma estação de crescimento foi diretamente correlacionada com o total do nutriente acumulado nos novos tecidos em crescimento durante a mesma estação (Milla et al., 2005).

A quase totalidade do P contido nos novos fluxos de crescimento (>99,7%) das laranjeiras cultivadas com reduzido suprimento de P ao sistema radicular, após a marcação da solução com ^{32}P , foi

proveniente de reservas internas. Em plantas arbóreas da região do Mediterrâneo, o atraso entre crescimento e remobilização foi explicado pelo suprimento de nutrientes pelo solo, o qual tendo disponibilidade suficiente em associação com absorção elevada pelas raízes, proveu importante quantidade de nutriente requerido pelo crescimento. A remobilização de P ocorreu em maior magnitude quando o suprimento do nutriente pelo solo foi escasso (Milla et al., 2005). Quando o P se torna limitante, o P previamente contido na planta, especialmente em partes menos ativas metabolicamente, é remobilizados para os tecidos mais novos e mais ativos metabolicamente (Panigrahy et al., 2009).

Os resultados mais ilustrativos do efeito do estado nutricional de P sobre a remobilização do nutriente, foram observados mediante a comparação dos tratamentos DS e SS. Os resultados demonstram menor participação do P remobilizado (valores em %) do P total acumulado nos novos fluxos de crescimento para as plantas pertencentes ao tratamento DS. Estas diferenças podem ser relacionadas com a maior capacidade de absorção de P pelo sistema radicular das plantas provenientes do tratamento DS e/ou maior disponibilidade de P para remobilização das plantas que continuamente cresceram no regime de suficiência (tratamento SS), o que permitiu acúmulo do nutriente em maior magnitude no tecido vegetal. Outro aspecto importante a ser notado, é que para todas as partes novas avaliadas, a porcentagem de P remobilizado do total acumulado foi mais elevada para as plantas de ‘Pêra’/‘Cleópatra’. Considerando que o P armazenado na parte velha das plantas foi maior para ‘Pêra’/‘Cravo’, a menor contribuição do P remobilizado para esta combinação copa/porta-enxerto, foi relacionada à maior capacidade do seu sistema radicular em adquirir P. Isto parece ser consistente, porque as plantas sobre limão ‘Cravo’ acumularam maior quantidade de ^{32}P por cada unidade de MS produzida na parte nova, mesmo após terem acumulado quantias mais elevadas de MS, o que poderia provocar o efeito diluição sobre o teor do nutriente no tecido vegetal.

6.5. Conclusões

O estado nutricional por P foi determinante na taxa de absorção e acúmulo de P (^{32}P), os quais foram estimulados naquelas plantas deficientes no nutriente, e que foram ressupridas. O ^{32}P recém absorvido foi alocado principalmente nas partes novas, com preferência para as estruturas reprodutivas sobre as vegetativas. O P mostrou-se extremamente móvel no floema de plantas cítricas, apresentando taxas elevada participação do P previamente contido na planta em relação ao total acumulado nas partes jovens. Esta proporção foi dependente das reservas internas e da demanda dos novos fluxos de crescimento, sendo mais elevada nos tratamentos suficientes em P, e para a combinação

‘Pêra’/‘Cleópatra’. Nessa combinação, as plantas foram mais dependentes das reservas internas de P, possivelmente pela menor capacidade de absorção do seu sistema radicular e consequentemente em atender a demanda dos novos fluxos de crescimento pelo nutriente.

6.6. Referências Bibliográficas

- ABEL, S.; TICCONI, C.A.; DELATORRE, C.A. Phosphate sensing in higher plants. **Physiologia Plantarum**, v. 115, p. 1-8, 2002.
- ALMEIDA, J.P.F.; LUSCHER, A.; FREHNER, M.; OBERSON, A.; NOSBERGER, J. Partitioning of P and the activity of root acid phosphatase in white clover (*Trifolium repens* L.) are modified by increased atmospheric CO₂ and P fertilization. **Plant and Soil**, v. 210, p. 159-166, 1999.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: IAC, 1983. Boletim técnico n.78.
- CARVAJAL, M.; COOKE, D.T.; CLARKSON, D.T. Response of wheat plants to nutrient deprivation may involve the regulation of water-channel function. **Planta**, v. 199, p. 372-381, 1996.
- CLARKSON, D.T.; SANDERSON, J.; SCATTERGOOD, C.B. Influence of phosphate-stress on phosphate absorption and translocation by various parts of the root system of *Hordeum vulgare* L. (Barley). **Planta**, v. 139, p. 47-53, 1978.
- COGLIATTI, D.H.; CLARKSON, D.T. Physiological changes in, and phosphate uptake by potato plants during development of, and recovery from phosphate deficiency. **Physiologia Plantarum**, v. 58, p. 287-294, 1983.
- CRAFTS-BRANDNER, S.J. Significance of leaf phosphorus remobilization in yield production in soybean. **Crop Science**, v. 32, p. 420-424.
- DREW, M.C.; SAKER, L.R. Uptake and long distance transport of phosphate, potassium and chloride in relation to internal ion concentration in barley: evidence of non-allosteric regulation. **Planta**, v. 160, p. 500-507, 1984.
- FAYE, I.; DIOUF, O.; GUISSÉ, A.; SÈNE, M.; DIALLO, N. Characterizing root responses to low phosphorus in Pearl Millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.]. **Agronomy Journal**, v. 98, 1187-1198, 2006.
- FIFE, D.N.; NAMBIAR, K.S.; SAUR, E. Retranslocation of foliar nutrients in evergreen tree species planted in a Mediterranean environment. **Tree Physiology**, v. 28, p. 187-196, 2008.

- FLOCH, J.; PENOT, M. Changes in ^{32}P -phosphorus compounds during translocation in *Laminaria digitata* (L.) Lamouroux. **Planta**, v. 143, p. 101-107, 1978.
- FORDE, B.G. The role of long-distance signaling in plant response to nitrate and other nutrients. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 39-43, 2002.
- FRANCO-ZORILLA, J.M.; GONZALEZ, E.; BUSTOS, R.; LINHARES, F.; LEVYA, A.; PAZ-ARES, J. The transcriptional control of plant response to phosphate limitation. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 285-293, 2004.
- GROOT, C.C.; MARCELIS, L.F.M.; BOOGAARD, R.; KAISER, W.M.; LAMBERS, H. Interaction of nitrogen and phosphorus nutrition in determining growth. **Plant and Soil**, v. 248, p. 257-268, 2003.
- HAMMOND, J.P.; BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J. Genetic responses to phosphorus deficiency. **Annals of Botany**, v. 94, p. 323-332, 2004.
- HELAL, H.M. Varietal differences in root phosphatase activity as related to the utilization of organic phosphates. **Plant and Soil**, v. 123, p. 161-163, 1990.
- HELMISAARI, H. Nutrient retranslocation within the foliage of *Pinus sylvestris*. **Tree Physiology**, v. 10, p. 45-58, 1992.
- HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. **Plant and Soil**, v. 237, p. 173-195, 2001.
- JESCHKE, W.D.; KIRKBY, E.A.; PEUKE, A.D.; PATE, J.S.; HARTUNG, W. Effects of P deficiency on assimilation and transport of nitrate and phosphate in intact plants of castor bean (*Ricinus communis* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 48, p. 75-91, 1997.
- JUNGK, A.; ASHER, C.J.; EDWARDS, D.G.; MEYER, D. Influence of phosphate status on phosphate uptake kinetics of maize (*Zea mays*) and soybean (*Glycine max*). **Plant and Soil**, v. 124, p. 175-182, 1990.
- KARTHIKEYAN, A.S.; VARADAJAN, D.K.; MUKATIRA, U.T.; D'URZO, M.P.; DAMSZ, B.; RAGHOTHAMA, K.G. Regulated expression of *Arabidopsis* phosphate transporters. **Plant Physiology**, v. 130, p. 221-233, 1998.
- LEE, R.B. Selectivity and kinetics of ion uptake by barley plants following nutrient deficiency. **Annals of Botany**, v. 50, p. 429-449, 1982.

- LIMA FILHO, O.F.; MALAVOLTA, E. Studies on mineral nutrition of coffee plant (*Coffea arabica* L. cv. Catuai Vermelho). LXIV. Remobilization and re-utilization of nitrogen and potassium by normal and deficient plants. **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, p. 481-490, 2003.
- LIN, S.; CHIANG, S.; LIN, W.; CHEN, J.; TSENG, C.; WU, P.; CHIOU, T. Regulatory network of MicroRNA399 and PHO2 by systemic signaling. **Plant Physiology**, v. 147, p. 732-746, 2008.
- LIU, C.; MUCHHAL, U.S.; UTHAPPA, M.; KONONOWICZ, A.K.; RAGHOTHAMA, K.G. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissue by phosphorus. **Plant Physiology**, v. 116, p. 91-99, 1998.
- LOPEZ-BUCIO, J.; NIETO-JACOBO, M.F.; RODRIGUEZ, V.R.; EXTRELLA, L.H. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. **Plant Science**, v. 160, p. 1-13, 2000.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 314 p. 1997.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.
- MARSCHNER, H. Role of root growth, arbuscular mycorrhiza, and root exudates for the efficiency in nutrient acquisition. **Field Crops Research**, v. 56, p. 203-207, 1998.
- MILLA, R.; CASTRO-DÍEZ, P.; MAESTRO-MARTÍNEZ, M.; MONTSERRAT-MARTÍ, G. Relationships between phenology and the remobilization of nitrogen, phosphorus and potassium in branches of eight Mediterranean evergreens. **New Phytologist**, v. 168, p. 167-178, 2005.
- MIMURA, T. Physiological control of phosphate uptake and phosphate homeostasis in plant cells. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 28, p. 653-658, 2001.
- MISSION, J.; RAGHOTHAMA, K.G.; JAIN, A.; JOUHET, J.; BLOCK, M.A.; BLIGNY, R.; ORTET, P.; CREFF, A.; SOMERVILLE, S.; ROLLAND, N.; DOUMAS, P.; NARCY, P.; HERRERA-ESTRELLA, L.; NUSSAUME, L.; THIBAUD, M. A genome-wide transcriptional analysis using *Arabidopsis thaliana* Affymetrix gene chips determined plant responses to phosphate deprivation. **Proceeding of the National Academic Science**, v. 102, p. 11934-11939, 2005.
- MUCHHAL, U.S.; RAGHOTHAMA, K.G. Transcriptional regulation of plant phosphate transporters. **Proceeding of the National Academic Science**, v. 96, p. 5868-5872, 1999.
- NAMBIAR, E.K.; FIFE, D.N. Nutrient retranslocation in temperate conifers. **Tree Physiology**, v. 9, p. 185-207, 1991.

- OSTURK, L.; EKER, S.; TORUN, B.; CAKMAK, I. Variation in phosphorus efficiency among 73 bread and durum wheat genotypes grown in phosphorus-deficient calcareous soil. **Plant and Soil**, v. 269, p. 69-80, 2005.
- PANIGRAHY, M.; RAO, D.N.; SARLA, N. Molecular mechanisms in response to phosphate starvation rice. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 389-397, 2009.
- PIATEK, K.B.; ALLEN, H.L. Site preparation effects on foliar N and P use, retranslocation, and transfer to litter in 15-years old *Pinus taeda*. **Forest Ecology and Management**, v. 129, p. 143-152, 2000.
- PROE, M.F.; MILLARD, P. Effect of P supply upon seasonal growth and internal cycling of P in Sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.) seedlings. **Plant and Soil**, v. 168-169, p. 313-317, 1995.
- RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate acquisition. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 665-693, 1999.
- RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate transport and signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 3, p. 182-187, 2000.
- RAUSCH, C.; BUCHER, M. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. **Planta**, v. 216, p. 23-37, 2002.
- REINBOTT, T.M.; BLEVINS, D.G. Phosphorus nutritional effects on root hydraulic conductance, xylem water flow and flux of magnesium and calcium in squash plants. **Plant and Soil**, v. 209, p. 263-273, 1999.
- RUBIO, G.; SORGONA, A.; LYNCH, J.P. Spatial mapping of phosphorus influx in bean root systems using digital autoradiography. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 2269-2280, 2004.
- RUIZ, J.M.; BELAKBIR, A.; LÓPEZ-CANTARERO, I.; ROMERO, L. Leaf-macronutrient content and yield in grafted melon plants. A model to evaluate the influence of rootstock genotype. **Scientia Horticulturae**, v. 71, p. 227-234, 1997.
- SALIFU, K.F.; TIMMER, V.R. Nutrient retranslocation response of *Picea mariana* seedlings to nitrogen supply. **Soil Science Society of American Journal**, v. 65, p. 905-913, 2001.
- SARRUGE, J.R. Soluções Nutritivas. **Summa Phytopatologica**, v.1, p. 231-233, 1975.
- SAUR, E.; NAMBIAR, E.K.S.; FIFE, D.N. Foliar nutrient retranslocation in *Eucalyptus globules*. **Tree Physiology**, v. 20, p. 1105-1112, 2000.
- SCHACHTMAN, D.P.; REID, R.L.; AYLING, S.M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant Physiology**, v. 119, p. 447-453, 1998.

- SCHAFER, G.; BASTIANEL, M.; DORNELLES, A.L.C. Porta-enxertos utilizados na citricultura. **Ciência Rural**, v. 31, p. 723-733, 2001.
- TANNER, W.; BEEVES, H. Transpiration, a prerequisite for long-distance transport of minerals on plants? **Proceedings of the National Academic of Science**, v. 98, p. 9443-9447, 2001.
- USUDA, H. Phosphate deficiency in maize. V. mobilization of nitrogen and phosphorus within shoots of young plants and its relationship to senescence. **Plant and Cell Physiology**, v. 36, p. 1041-1049, 1995.
- VANCE, C.P.; UHDE-STONE, C.; ALLAN, D.L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytologist**, v. 157, p. 423-447, 2003.

7. IS PHOSPHITE A SOURCE OF PHOSPHORUS FOR CITRUS ROOTSTOCKS?

Abstract

There is a growing use of phosphite (Phi; PO_3), a reduced form of phosphorus (P), as a compound for nutritional management of several crops, but its nutritional efficiency as a source of P has not been compared to phosphate (Pi; PO_4) for citrus rootstocks. To clarify the potential nutritional value of Phi as a source of P, we carried out a greenhouse conditions study using citrus rootstock seedlings of Carrizo Citrange and Smooth Flat Seville growing in aerated hydroponic or sterilized native sandy soil. There were four P-treatments: No P (control); 0.5 mmol L^{-1} Pi; 0.25 mmol L^{-1} Pi + 0.25 mmol L^{-1} Phi and 0.5 mmol L^{-1} Phi. Leaf net gas exchange and chlorophyll fluorescence were measured after 80 days of treatment., the plants were harvested, separated into leaves, stems and roots and growth parameters were evaluated at 83 days of P treatments. The water soluble form of P in leaf and root tissue was analyzed for P- PO_3 and P- PO_4 using capillary electrophoresis. The No P treatment reduced plant growth, net assimilation of CO_2 (A_{CO_2}), maximum quantum yield of dark-acclimated leaves (Fv/Fm) and quantum yield (Y) of both rootstocks relative to the 0.5 mmol L^{-1} Pi treatment and had the lowest total P and P- PO_4 concentrations in leaves and roots. Plant growth was also reduced in 0.25 mmol L^{-1} Pi + 0.25 mmol L^{-1} Phi treatment. Although 0.5 mmol L^{-1} Phi increased the total P or P- PO_4 concentration above the No P treatment, this did not translate into increased plant growth. In fact, the 0.5 mmol L^{-1} Phi treatment had a remarkable inhibitory effect on root growth. Net gas exchange, phosphorus and nitrogen use efficiency also were reduced by 0.5 mmol L^{-1} Phi. Thus, Phi could not replace Pi as a source of P for healthy plants cultivated in growth media with a low potential of Phi oxidation to Pi.

Key-words: phosphorus source; phosphate; root growth; photosynthesis.

O FOSFITO É UMA FONTE DE FÓSFORO PARA PORTA-ENXERTOS CÍTRICOS?

Resumo

Atualmente existe crescente uso de fosfito (Phi ; PO_3), uma reduzida forma de fósforo (P), como um composto para o manejo nutricional de várias culturas. Entretanto, a eficiência nutricional de Phi , como fonte de P não tem sido comparada com o fosfato (Pi ; PO_4) para porta-enxertos cítricos (PE). Desta maneira, para ampliar o conhecimento sobre a eficiência desta molécula no suprimento de P, foi conduzido um experimento em condições de casa-de-vegetação. Os PE citrange ‘Carrizo’ e ‘Smooth Flat Seville’ foram cultivado em hidroponia ou cultura de areia e combinados com quatro tratamentos de P: Controle (sem o fornecimento de P), $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de Pi ; $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$ de Pi + $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$ de Phi e $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de Phi . A taxa de assimilação de CO_2 e a fluorescência da clorofila foram medidas após 80 dias de tratamento. Aos 83 dias as plantas foram coletadas e separadas em folhas, caule e raiz para a determinação do crescimento. Na ausência de P na solução nutritiva houve redução do crescimento das plantas, na assimilação de CO_2 , na eficiência fotoquímica e na concentração de P total ou P-PO_4 nas folhas dos PE em relação às plantas tratadas com $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de Pi . Reduções no crescimento dos PE foram detectadas mesmo quando metade da quantidade total de P na solução nutritiva foi fornecida como Phi . Embora o tratamento $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de Phi elevou a concentração de P total e PO_4 nas folhas em relação ao controle, isto não resultou em ganhos de crescimento pelas plantas, comprometendo fortemente o crescimento radicular. A assimilação de CO_2 e a eficiência de utilização de nitrogênio e fósforo foram comprometidas pelo fornecimento de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de Phi . Desta maneira, o Phi não foi capaz de fornecer P para PE livres de doenças e cultivados em ambiente com baixo potencial de oxidação de Phi para Pi .

Palavras-chaves: fonte de fósforo; fosfato; crescimento radicular; fotossíntese.

7.1. Introduction

Phosphorus is known to occur in at least seven oxidation states. Any P species with an oxidation state lower than (+5) is termed 'reduced phosphorus'. Although, it is assumed that P in natural systems occurs exclusively in the +5 oxidation state as orthophosphate, polyphosphates, organophosphates, and particulate phosphates, this assumption has not been explicitly proven (Morton and Edwards, 2005). The reduced form phosphite (+3; Phi) differs from phosphate (+5; Pi) because in Phi, an oxygen atom is replaced by a non-acidic hydrogen that bounds to the P atom (Bozzo et al., 2004). This substitution results in major differences in which these two compounds behave in living organisms (MacDonald et al., 2001). Some Phi formulation products can be good fungicides to combat *Phytophthora* root rot on many crops (Guest and Grant, 1991; Barret et al., 2003) and thereby to reduce consequent crop loss in many agricultural commodities including pineapple, avocado, green pepper (Pegg et al., 1985; Rohrbach and Schenck, 1985; Förster et al., 1998), and citrus (Orbovic et al., 2008). However, the claim regarding the potential of Phi as a fertilizer source of P is controversial (Singh et al., 2003). Consequently, the effects of Phi on plant growth and quality in relation to Pi supply, merit further study especially for crops with a high probability of phosphite application (Thao and Yamakawa, 2009). It is unclear whether the positive effects attributed to Phi are due to its own direct effects, its fungicidal properties or to the oxidative conversion of Phi to Pi and subsequent use of Pi by plants (Macdonald et al., 2001). A series of US patents describe formulations containing Phi as suitable fertilizers for plants and many current Phi products are widely marketed as 'superior P fertilizer' for either soil or foliar applications (Thao et al., 2008a). However, such claims are not supported with sufficient data and the P nutritional value of Phi needs to be evaluated relative to Pi.

Many studies have shown negative effects of Phi on plant growth and metabolism of many species (Carswell et al., 1996, 1997; Foster et al., 1998; Wells et al., 2000; Ticconi et al., 2001; Singh et al., 2003; Lee et al., 2005; Thao et al., 2008a, 2008b). Negative effects of Phi can include suppression of plant responses to Pi starvation including reduced acid phosphatase in the Pi- starved cells of *Brassica napus* (Carswell et al., 1997), accumulation of anthocyanins in the leaves, reduced root hair formation and activation of phosphate starvation-inducible nucleolytic enzymes in roots of *Arabidopsis* (Ticconi et al., 2001). However, some positive effects of Phi also have been described in citrus plants. Foliar sprays of Phi during winter and bloom have been used to increase flowering in citrus, perhaps as a stress response, and to increase subsequent orange juice soluble solids and fruit yield (Albrigo, 1999). In California, the use of two applications of K-phosphite significantly increased

the number of commercially valuable large-size fruit, total soluble solids (TSS) and TSS to acidity ratio of juice compared to non-sprayed control fruit (Lovatt, 1999). The mechanism by which fruit size was increased was explained by improved phosphorus nutrition. In a more recent study, Orbovic et al. (2008) concluded that citrus growers could apply Phi to soil or to leaves as multiple sprays, either alone or in combination with Pi, because of its dual action as an antifungal agent and as an indirect source of P. The positive effects of Phi were attributed to the potential oxidation of Phi to Pi in sandy soil.

Phi efficiency as a fertilizer source of Pi has rarely been tested against Pi (MacDonald et al., 2001) and has been evaluated under conditions of potential for oxidation Phi to Pi (Orbovic et al., 2008). Moreover, potential effects of Phi on photosynthesis and plant nutrient utilization efficiency have not been studied. Since citrus rootstocks have differential tolerance to P-deficiency (Rabe and Lovatt, 1986; Graham et al., 1997), they could use Phi more or less efficiently to meet P demand. The objectives of this study were to determine the effects of Pi and Phi availability on growth, mineral nutrition, nutrient utilization efficiency and photosynthetic characteristics of citrus seedlings. We tested the hypothesis that Phi alone or in combination with Pi could supply some P to seedlings of two contrasting citrus rootstocks, Carrizo citrange and Smooth Flat Seville, and that responses of each rootstock to Phi supply in hydroponic and sand culture would differ.

7.2. Material and Methods

7.2.1. Plant material and growth conditions

Plants were grown in either hydroponic solution or fine sand culture in an unshaded greenhouse, under natural photoperiod with average day/night temperatures of 36 °C/21 °C, maximum photosynthetically active radiation of 1200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and relative humidity from 40% to 100%, from May to August, 2009. Uniform three-mo-old seedlings of Carrizo citrange [CC, *Citrus sinensis* (L.) Osb. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] and Smooth Flat Seville (SFS, *Citrus* spp., hybrid of uncertain origin) rootstocks were purchased from a local nursery. As rootstocks, CC typically produces large high yielding trees that have intermediate tolerance to *Phytophthora* root rot whereas SFS produces intermediate sized trees that have a high tolerance to *Phytophthora* (Castle et al., 2006). Seedlings were bare-rooted, and either set into black undrained 0.55 L pots containing ¼ strength modified nutrient solution (Sarruge, 1975; Furlani et al., 1999) without phosphorus (= basic nutrient solution, BNS) or planted in identical well-drained pots filled with sandy soil (described below) and regularly irrigated with the BNS. The BNS contained, in mmol L^{-1} , 13.0 N (11.0% as NH_4^+), 5.0 Ca, 3.0 K, 1.25 Mg, 1.25

S and, in $\mu\text{mol L}^{-1}$, 41.60 B, 46.70 Fe, 8.20 Mn, 3.50 Zn, 1.0 Cu, 1.25 Mo. In the hydroponic system, the solution surface was covered with a slotted polystyrene disk to exclude light and to support plants. Each pot contained 0.4 L of the BNS and was equipped with a small tube extending to the bottom through which the medium was continuously aerated with gently bubbling air. One week after transplant, three additional solutions with different phosphorus composition were added to the BNS to establish the following treatments: P_0 = No P (BNS or control); 0.5 mmol L^{-1} Pi (phosphate, $P\text{-PO}_4$); 0.25 mmol L^{-1} Pi + 0.25 mmol L^{-1} Phi (phosphite, $P\text{-PO}_3$) and 0.5 mmol L^{-1} Phi. The total P concentration in the nutrient solution of the P_{Pi} was based on previous experiments (unpublished data), in which 0.5 mmol L^{-1} Pi was sufficient to support adequate citrus growth (Bataglia et al., 2008). This concentration was totally or partially replaced by Phi to investigate its nutritional value. Technical grade KH_2PO_4 and KH_2PO_3 were used as Pi and Phi sources, respectively. The volume of nutrient solution in the hydroponic pots was kept constant by replacing water losses daily with deionized water. Solutions were replaced every seven days and pH was adjusted to 5.8-6.0 using 0.1 mol L^{-1} KOH.

The sand culture used a native Candler sand soil, hyperthermic, uncoated Typic Quartzipsamments, sand = 970 g kg^{-1} , pH = 5.8, OM <1%, with Mehlich extractable P < 10.0 mg kg^{-1} . The sand was collected from area under native vegetation adjacent to a nearby citrus grove from the 0.1-0.25 m depth. The soil was steamed in metal containers for 8 h to kill any microorganisms that could interact with Phi and influence plant responses. The sterilized sand was air dried, sieved, and weighted into 0.600 kg portions to fill each pot. Pots were thoroughly irrigated and after transplanting, plants were fertigated with the BNS without P for one week. The same four nutrient solution treatments used in the hydroponic culture were applied in excess 3-4 times per week. Throughout the experiment, the volume of solution applied ranged from 40-65 mL for each application. Every 15-20 days, deionized water was applied to leaching and to avoid any salt accumulation in the root zone. Nutrient concentration, volume and frequency of fertigation were based on weekly N demand of similar citrus seedlings (35-45 mg per plant per week; Orbovic et al., 2008). At the beginning of the P treatments (May 7, 2009), shoot tips were marked with a loose wire loop in order to evaluate new stem and new leaf growth. The experiment was set up in a randomized complete block design with 2 citrus rootstocks x 4 P-treatments x 2 growth media with six replicate plants and was conducted for 83 days.

The growth media management used in these experiments was selected to minimize Phi oxidation to phosphate (hydroponic and sterilized sand media) and the fertigated native sand media was intended to allow normal soil-root and soil-phosphorus interactions involved in P acquisition.

7.2.2. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and SPAD readings

Net assimilation of CO₂ (A_{CO_2}), leaf transpiration rate (E_{lf}), stomatal conductance (g_s), internal CO₂ concentration (C_i) and photosynthetic water use efficiency ($WUE = A_{CO_2} E_{lf}^{-1}$) were measured using fully expanded leaves developed after 79-80 days of P treatments. Net gas exchange was measured on a single leaf of each plant with a portable photosynthesis system (LI6200; LI-COR Inc. Lincoln, NB, USA) using a 0.25-L cuvette. Chlorophyll fluorescence characteristics were measured with a pulse modulated fluorometer (model OSI-F1, Optic-Sciences, Hudson, NH, USA) using the same leaves. Fluorescence was measured in light-exposed and also in dark-adapted leaves that had been covered with light exclusion clips for a minimum 20 min. Maximum quantum efficiency of photosystem II (F_v/F_m) was determined as $F_v/F_m = (F_m - F_o) / F_m$; where F_m and F_o were maximum and minimum fluorescence of dark-adapted leaves, respectively. Quantum yield (Y) was measured as $Y = (F'm - F') / F'm$ where $F'm$ and F' were the maximal and steady-state fluorescence yield in the light, respectively. This parameter measures the proportion of the light absorbed by chlorophyll associated with the photochemistry in photosystem II (Pérez-Pérez et al., 2007). Leaf greenness was evaluated as a chlorophyll index on same leaves used for gas exchange and fluorescence using a SPAD-502 (Minolta Corp., Ramsey, NJ, USA) after 81 days of P treatments. For each plant, 3 to 4 SPAD measurements were made on the same leaf and the average was calculated.

7.2.3. Growth parameters

Plants were harvested after 83 days of P treatments and separated into leaves and stems, before and after phosphorus treatments (old and new), woody roots (>3.0 mm in diameter) and fibrous roots (<3.0 mm in diameter). Total leaf area (cm²) per plant was measured using a portable leaf area meter (LI-3000; LI-COR). Fibrous roots were spread out on a two centimeter grid pattern for measurement of root length (m plant⁻¹) using the line intercept method (Tennant, 1975). These roots represented an estimate of young thin root fraction that was probably responsible for water and nutrient absorption (Korner and Renhardt, 1987). The specific root length of fibrous roots (m g⁻¹) was calculated for each plant.

Tissues were rinsed with deionized water, oven-dried at 60 °C for at least 72 h, weighed for dry weight (DW) determination, ground to a fine powder using mortar and pestle, and stored in glass vials.

7.2.4. Phosphate and phosphite extraction and quantification by capillary electrophoresis (CE)

Dried and ground new leaves (expanded after starting phosphorus treatments) and fibrous roots were weighted (0.06-0.12 g) into 60 mL centrifuge tube and extracted with 6-8 mL of ultrapure water

by hand shaking every 10 min at room temperature for 2 h. The suspensions were centrifuged at 10,800 rpm for 15 min at 15 °C. The supernatant was collected and filtered through a 0.45 µm nylon syringe filter. The filtrate was placed in 3 mL disposable vials for immediate analyses in capillary electrophoresis (GPA 100, Groton Biosystem, Boxborough, MA) with a conductivity detector. A standard calibration curve containing both Pi and Phi was developed from dilutions of a stock solution of KH₂PO₄ and KH₂PO₃, respectively. The anions in the plant extracts were identified and quantified using the previous prepared standard curve.

7.2.5. Phosphorus and nitrogen total concentration

Total phosphorus (Pt) concentration in new leaves and root tissues (g kg⁻¹) and total nitrogen in new leaves (N, g kg⁻¹) were determined by Inductively Coupled Argon Plasma Emission Spectrophotometer (6500 Series ThermoScientific, Waltham, MA, USA) and Total N Analyzer (LECO Truspec, St. Joseph, MI, USA), respectively, in a commercial laboratory (WatersAg, Camilla, GA, USA). Total amounts of nutrients accumulated in new leaves and roots (content) were calculated by concentration x DW as well as the nutrient utilization efficiency index: NUE = (new leaves or total root DW in g)²/(N or P content, mg) as proposed by Siddiqi and Glass (1981). This index of evaluating nutrient utilization efficiency takes into account absolute biomass increase (as g²), which is an important parameter to quantify responses of plants to nutrients sources and/or rates (Siddiqi and Glass, 1981; Good et al., 2004).

7.2.6. Statistical analysis

Data were analyzed using a three-way analysis of variance (ANOVA; SAS version 9.1; SAS Institute, Cary, NC). For significant three-way interactions, analysis of rootstocks x P-treatments were run within each growth media experiment. If no significant three-way interaction was observed, the statistic analysis was performed using averaged values for growth media. The rootstock effects were compared using the F test and Duncan's multiple range test was used to compare P treatments at $p < 0.05$. Linear correlation was used to describe relationships between selected variables.

7.3. Results

7.3.1. Plant growth

The effects of P-treatments on plant growth parameters of both rootstocks were independent of the growth media as there were no three-way interactions. Overall, hydroponically-grown roots were thinner (10.10 m g⁻¹ vs 6.73 m g⁻¹; $P < 0.05$) and had lower root/shoot dry weight ratio (0.48 vs 0.57;

$P < 0.05$) than sand-grown plants, respectively. Since rootstock growth responses to P-treatments were similar in both hydroponic and sand culture, this permitted analyses of growth values averaged across the two media to determine the effects of Pi or Phi application on rootstocks.

After 83 days of differential P supply, plant growth was greatest in the high Pi treatment (0.5 mmol L^{-1} Pi) as measured by woody root (WR) DW, total root length (TRL), total plant (TP) DW, new leaf number (NLN) and total leaf area (TLA) (Table 1). Plant DW and TRL of Phi decreased more than 50% compared to the Pi treatment. Decreases in plant growth also occurred when half of the P in the nutrient solution was supplied as Phi (0.25 mmol L^{-1} Pi + 0.25 mmol L^{-1} Phi treatment). For example, Pi+Phi reduced TPDW and TRL in 22% and 35%, respectively, compared to the Pi treated plants. It is noteworthy that reduced growth effects by Phi occurred similarly in both rootstocks.

Phosphorus deficiency (No P) reduced WRDW but increased fibrous root (FR) DW up to 20% compared to other treatments. This increased TRL, specific fibrous root length (SFRL) and root to shoot (R/S) DW ratio (Table 1). Overall, the effect of P status on biomass allocation was characterized by a negative correlation between Pt concentration in the leaves with R/S ratio ($r = -0.48$; $P < 0.0001$; $n = 96$). Growth responses the Pi+Phi treatment generally were intermediate between the Pi and Phi treatments as the Phi treatment had the lowest root growth. The No P treatment also decreased NLN and TLA of both rootstocks similarly to that observed for TPDW. TPDW was positively correlated with NLN ($r = 0.93$; $P < 0.0001$; $n = 96$), with TLA ($r = 0.93$; $P < 0.0001$; $n = 96$) and total root DW ($r = 0.81$; $P < 0.0001$; $n = 96$).

The lack of significant interaction between P-treatments and citrus rootstocks for TPDW and root growth (Table 1) indicated that the growth of these rootstocks responded in a similar way to P deficiency even though CC had greater WRDW, TRL and SFRL than SFS. However, SFS produced more TLA and TLDW than CC (data not shown) because SFS has entire citrus like leaves whereas CC has smaller thinner trifoliate leaves. There was no difference in pattern of biomass partitioning between rootstocks as both had similar R/S ratio.

7.3.2. Phosphorus nutrition

There were significant three-way interactions among rootstocks x P-treatments x growth media for Pt concentration, Pt accumulated, P-PO_4 and P-PO_3 concentration and content in the leaves and roots. The analysis of variance within each media revealed that No P leaves of both rootstocks were, of course, P deficient ($<0.9 \text{ g kg}^{-1}$) (Rabe and Lovatt, 1986; Bataglia et al. 2008) and roots had $<0.8 \text{ g kg}^{-1}$ P. The Phi treatment of CC reduced Pt concentrations of plants in both growth media compared to Pi.

However, the Phi treatments in SFS had higher concentration of foliar Pt in hydroponic media compared to Pi (Table 2). Accumulation of Pt in the new leaves was lowest in the No P and Phi treatments and highest in Pi plants (Table 2). Although Pt concentration in Phi leaves was increased above the deficient levels, this must have been concentrating effect as the higher Pt did not translate into improved plant growth. There was a negative correlation between foliar Pt and TPDW in Phi plants (Figure 1a) even though Pt accumulation in leaves increased with TPDW (Figure 1b).

Similar to Pt, the lowest values of soluble phosphate ($P-PO_4$) in leaves and roots were found in No P plants ($< 0.5 \text{ g kg}^{-1}$) whereas the highest $P-PO_4$ occurred in those that received 0.5 mmol L^{-1} Pi ($> 1.3 \text{ g kg}^{-1}$; Table 3). Overall, there were highly significant correlations between $P-PO_4$ and Pt concentrations in leaves ($r = 0.78$; $P < 0.0001$; $n = 96$) and roots ($r = 0.86$; $P < 0.0001$; $n = 96$). Furthermore, $P-PO_4$ concentrations in plant tissue within all treatments were higher for SFS than CC with exception of Pi in sand media.

Phi caused significant decreases of $P-PO_4$ concentrations in leaves and roots of the CC compared to the SFS regardless of substrate. The soluble phosphite ($P-PO_3$) in the vegetative tissues was determined by the Phi concentration in nutrient solution but concentrations of $P-PO_3$ were much smaller than $P-PO_4$ (Table 3). Increases in $P-PO_3$ in leaves were less than those observed for roots, where up to three times more $P-PO_3$ were found in SFS roots in sand than in leaves. Hydroponic SFS roots also had higher $P-PO_3$ concentrations than hydroponic CC roots. The addition of Phi increased $P-PO_4$ concentration in the leaf tissue above that of the No P treatment, but the total amount of $P-PO_4$ accumulated in roots and leaves was not different from the No P treatment (data not shown).

7.3.3. Net gas exchanges, photosynthetic water use efficiency, chlorophyll fluorescence and SPAD readings

After 80 days of P treatments, A_{CO_2} and g_s were decreased by about 50% by both the No P or the Phi compared to the Pi treated plants (Table 4). The Phi treatment had the lowest E_{lf} . Leaf WUE was reduced in No P plants of both rootstocks. WUE was greatest in the Pi treatment of CC and there was no difference among P-treatments for SFS. There were higher values of C_i in the No P and Phi treatments and for SFS leaves than in CC leaves (Table 4). Overall, A_{CO_2} rates were strongly correlated with total plant growth as largest plants had the highest A_{CO_2} (Figure 1c). A_{CO_2} was positively correlated with Pt concentration in the leaves when data from No P and Pi were plotted together. However, increased Pt did not enhance A_{CO_2} when the No P and Phi were combined (Figure 1d).

Table 1. Growth of Carrizo citrange (CC) and Smooth Flat Seville (SFS) citrus rootstock seedlings after 83 days of phosphate (Pi) and/or phosphite (Phi) treatments grown hydroponic and sand media treatments combined.

P-treatments/rootstocks	TPDW	WRDW	FRDW	TRL	SFRL	R/S ratio	NLN		TLA	
							CC	SFS	CC	SFS
mmol L ⁻¹	-----	g plant ⁻¹	-----	m plant ⁻¹	m g ⁻¹		----- leaves plant ⁻¹ -----		----- cm ² plant ⁻¹ -----	
No P	1.98 c	0.38 b	0.57 a	5.10 a	10.90 a	0.80 a	9.3 cA	5.8cB	73.6 cA	82.2 cA
0.5 Pi	4.49 a	0.65 a	0.47 b	4.20 b	7.51 b	0.47 b	18.8 aA	16.8 aB	165.2 aB	285.7 aA
0.25 Pi + 0.25 Phi	3.51 b	0.59 a	0.41 b	2.74 c	6.80 b	0.48 b	15.6 bA	13.6 bB	128.9 bB	209.3 bA
0.5 Phi	1.57 c	0.28 c	0.22 c	1.74 d	8.52 b	0.40 b	6.6 cA	4.4 cB	51.4 cB	62.9 cA
CC	2.80 a	0.51 a	0.41 a	3.80 a	9.46 a	0.54 a				
SFS	2.97 a	0.43 b	0.43 a	3.10 b	7.38 b	0.51 a				

Bold font represents data without significant interactions between P-treatments and citrus rootstocks. P-treatment comparison: means followed by different small letters in the columns (n = 96 or 48) are different by the Duncan's multiple test ($P < 0.05$). Rootstocks comparison: means followed by different capital letters in the lines (n = 24, comparison within each P treatment) or small letter in the columns (n= 96, comparison across P-treatments average) are different by the F test ($P < 0.05$). Legend: TSDW: total shoot dry weight; WRDW: woody root dry weight; FRDW: fibrous root dry weight; TRL: total root length; SFRL: specific fibrous root length; R/S: root to shoot ratio; NLN: new leaf number; TLA: total leaf area.

Table 2. Concentration and accumulation of total P in leaves and roots of Carrizo citrange (CC) and Smooth Flat Seville (SFS) citrus rootstock seedlings after 83 days of phosphate (Pi) and/or phosphite (Phi) treatments grown in hydroponic or sand media.

Media	P-treatments/ rootstocks	Total P					
		Leaves		Root		Leaves	
		CC	SFS	CC	SFS	CC	SFS
	mmol L ⁻¹	----- g kg ⁻¹ -----				----- mg plant ⁻¹ -----	
Hydroponic	No P	0.71 cA	0.67 cA	0.62 cA	0.79 bA	0.22 bA	0.27 bA
	0.5 Pi	2.36 aA	2.14 bA	3.82 aA	4.60 aA	2.43 aB	5.21 aA
	0.25 Pi + 0.25 Phi	2.34 aA	1.86 bB	4.19 aA	4.66 aA	2.51 aA	3.70 aA
	0.5 Phi	1.58 bB	2.91 aA	2.96 bB	5.02 aA	0.36 bB	0.54 bA
	CC						2.65 b
	SFS						3.33 a
Sand	No P	0.94 dA	0.90 cA	0.75 b		0.37 c	0.60 c
	0.5 Pi	2.70 aA	2.00 aB	1.40 a		3.05 a	1.81 a
	0.25 Pi + 0.25 Phi	1.77 bA	1.95 aA	1.40 a		1.05 b	1.26 b
	0.5 Phi	1.35 cA	1.64 bA	1.37 a		0.51 c	0.72 c
	CC			1.12 b		1.06 b	1.08 a
	SFS			1.32 a		1.41 a	1.12 a

Bold font represents data without significant interactions between P-treatments and citrus rootstocks. P-treatment comparison: means followed by different small letters in the columns (n = 96 or 48) are different by the Duncan's multiple test ($P < 0.05$). Rootstocks comparison: means followed by different capital letters in the lines (n = 24, comparison within each P-treatment) or small letter in the columns (n= 96, comparison across P-treatments average) are different by the F test ($P < 0.05$).

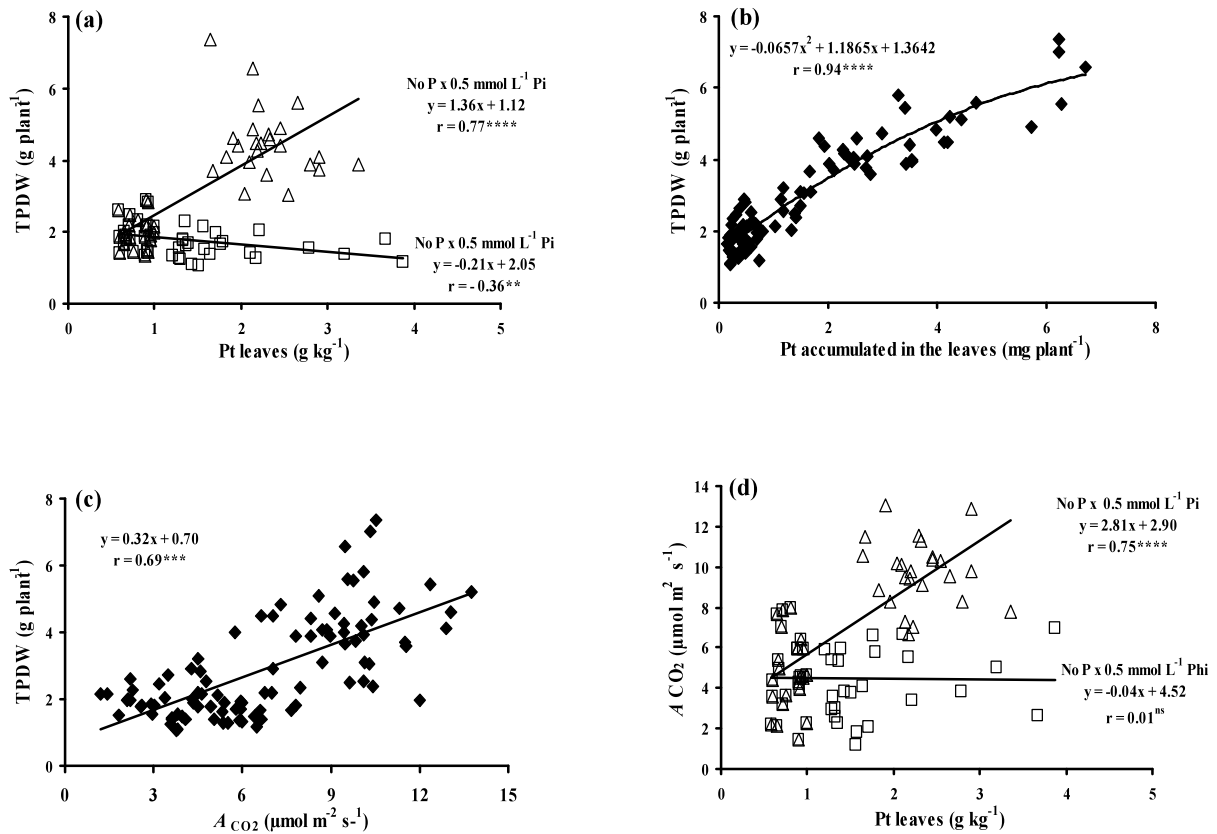


Fig. 1 a.) Relationship between total plant dry weight (TPDW) and total P (Pt) in the leaves from either No P plus 0.5 mmol L⁻¹ Pi (triangles, n = 48) or No P plus 0.5 mmol L⁻¹ Phi treated plants (squares, n = 48) in CC and SFS citrus rootstock seedlings combined or b.) between TPDW and total P accumulated in the leaves across all treatments (n = 96). c.) Correlation between TPDW and net assimilation of CO₂ (A_{CO_2}) across all treatments (n = 96), and d.) relationship between net assimilation of CO₂ (A_{CO_2}) and Pt in the leaves from either No P plus 0.5 mmol L⁻¹ Pi (triangles, n = 48) or No P plus 0.5 mmol L⁻¹ Phi treated plants (squares, n = 48) in CC and SFS citrus rootstock seedlings combined. ns: not significant ($P > 0.05$); ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$.

Phi decreased maximum quantum yield of dark-acclimated leaves (F_v/F_m) and quantum yield (Y) of CC compared to other P-treatments (Table 4). F_v/F_m and Y were lower for plants with No P suggesting an impaired photosystem II apparatus, and SFS had consistently lower F_v/F_m and Y values than CC in the No P and Pi treatments. The No P and Phi treatments lowered the leaf greenness index (SPAD) up to 18.0% below that of the Pi treatment. Overall, SPAD values were correlated with foliar Pt ($r = 0.49$; $P < 0.0001$; n = 96), TPDW ($r = 0.47$; $P < 0.0001$; n = 96) and A_{CO_2} ($r = 0.53$; $P < 0.0001$; n = 96).

7.3.4. Phosphorus use efficiency

Phosphorus utilization efficiency for biomass production (PUE) was reduced by 53-85% in Phi leaves compared to Pi leaves (Table 5). PUE was the lowest in roots ($< 0.3 \text{ g}^2 \text{ mg}^{-1}$) of plants supplied with Phi but root PUE exceeded $1 \text{ g}^2 \text{ mg}^{-1}$ in the No P treatment. Although SFS tended to have higher PUE in leaves than CC, CC had higher PUE in roots. The Phi treatment reduced the photosynthetic phosphorus use efficiency (PPUE) for A_{CO_2} 50.0 and 60.0% compared to Pi. Although all levels of leaf N were above the sufficiency range (26 g kg^{-1} , Bataglia et al., 2008), concentrations of nitrogen in leaves were highest in No P plants and N was decreased by Pi (Table 6). Leaf N values were lower for the SFS than CC plants except in the 0.5 mmol L^{-1} Phi. Nonetheless, total N accumulated by SFS seedlings was greater because of the greater dry weight of the larger SFS leaves than of CC leaves. Moreover, SFS had higher nitrogen utilization for biomass production (NUE) than CC in the two Pi treatments. NUE and photosynthetic nitrogen use efficiency (PNUE) were reduced in No P and Phi treated plants for both rootstocks.

Table 3. Concentration and accumulation of water soluble phosphate (P-PO₄) and phosphite (P-PO₃) in leaves and roots of Carrizo citrange (CC) and Smooth Flat Seville (SFS) citrus rootstocks seedlings after 83 days of phosphate (Pi) and/or phosphite (Phi) treatments grown in hydroponic or sand media.

Media	P-treatments/ rootstocks	P-PO ₄				P-PO ₃			
		Leaves		Root		Leaves		Root	
		CC	SFS	CC	SFS	CC/SFS		CC/SFS	
	mmol L ⁻¹	g kg ⁻¹							
Hydroponic	No P	0.24 dB	0.47 bA	0.20 cB	0.28 cA	nd		nd	
	0.5 Pi	1.33 aA	1.48 aA	1.52 aB	3.01 aA	nd		nd	
	0.25 Pi + 0.25 Phi	0.90 bB	1.34 aA	1.56 aA	1.98 bA	0.19 a		0.18 b	
	0.5 Phi	0.44 cB	1.48 aA	0.74 bB	2.00 bA	0.24 a		0.50 a	
	CC					0.20 a		0.34 b	
	SFS					0.23 a		0.53 a	
Sand	No P	0.30 cB	0.54 cA	0.35 c		nd	nd	nd	SFS
	0.5 Pi	1.90 aA	1.29 aB	0.81 a		nd	nd	nd	nd
	0.25 Pi + 0.25 Phi	0.71 aB	1.19 aA	0.48 b		0.16 bB	0.23 aA	0.30 bA	0.27 bA
	0.5 Phi	0.73 aB	0.90 bA	0.51 b		0.30 aA	0.21 aB	0.48 aB	0.83 aA
	CC			1.05 a					
	SFS			1.08 a					

Bold font represents data without significant interactions between P-treatments and citrus rootstocks. P-treatments comparison: means followed by different small letters in the columns (n = 96 or 48) are different by the Duncan's multiple test ($P < 0.05$). Rootstocks comparison: means followed by different capital letters in the lines (n = 24, comparison within each P-treatment) or small letter in the column (n = 96, comparison across P-treatments average) are different by the F test ($P < 0.05$). nd: not determined.

Table 4. Effects of 80 days of phosphate (Pi) and/or phosphite (Phi) treatments on net assimilation of CO₂ (A_{CO_2}), stomatal conductance (g_s), intercellular CO₂ concentration (C_i), leaf transpiration (E_{lf}), photosynthetic water use efficiency ($WUE = A_{CO_2} E_{leaf}^{-1}$), maximum quantum yield of dark-acclimated leaves (F_v/F_m) and quantum yield (Y) of leaves Carrizo citrange (CC) and Smooth Flat Seville (SFS) citrus rootstocks seedlings grown in hydroponic or sand media combined.

P-treatments/ rootstocks	A_{CO_2}	g_s	C_i	E_{lf}	WUE		F_v/F_m		Y		SPAD
	CC/SFS				CC	SFS	CC	SFS	CC	SFS	CC/SFS
	mmol L ⁻¹	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	$\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	ppm	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{h}^{-1}$	----	$\mu\text{mol mmol}^{-1}$	----	CC	SFS	CC/SFS
No P	4.89 c	0.04 b	197.4 a	1.6 ab	3.49 bA	3.16 bA	0.72 cA	0.59 bB	0.53 bA	0.39 cB	60.3 b
0.5 Pi	9.80 a	0.07 a	137.1 c	2.0 a	5.13 aA	4.37 aB	0.83 aA	0.80 aB	0.70 aA	0.67 aB	71.5 a
0.25 Pi + 0.25 Phi	8.19 b	0.06 a	146.8 bc	2.0 a	4.00 bA	4.32 aA	0.81 aA	0.79 aA	0.66 aA	0.64 abA	69.8 a
0.5 Phi	4.37 c	0.04 b	173.6 ab	1.2 b	3.49 bB	4.55 aA	0.77 bA	0.76 aA	0.53 bA	0.57 bA	58.6 b
CC	7.04 a	0.051 a	151.9 b	1.8 a							69.1 a
SFS	6.57 a	0.053 a	175.6 a	1.7 a							61.1 b

Bold font represents data without significant interactions between P-treatments and citrus rootstocks. P-treatments comparison: means followed by different small letters in the columns (n = 96 or 48) are different by the Duncan's multiple test ($P < 0.05$). Rootstocks comparison: means followed by different capital letters in the lines (n = 24, comparison within each P treatment) or small letter in the columns (n = 96, comparison across P-treatments average) are different by the F test ($P < 0.05$).

Table 5. Phosphorus utilization efficiency (PUE) of leaves and roots and photosynthetic phosphorus use efficiency (PPUE) of Carrizo citrange (CC) and Smooth Flat Seville (SFS) citrus rootstocks seedlings after 83 days of phosphate (Pi) and/or phosphite (Phi) treatments in hydroponic and sand media treatments combined.

P-treatments/ rootstocks	PUE				PPUE	
	Leaves		Roots			
	CC	SFS	CC	SFS	CC	SFS
mmol L ⁻¹	g ² mg ⁻¹				μmol CO ₂ s ⁻¹ mg ⁻¹ P	
No P	0.44 aA	0.55 bA	1.40 aA	1.05 aB	0.10 aA	0.06 aB
0.5 Pi	0.40 aB	1.03 aA	0.70 bA	0.59 bB	0.06 bA	0.05 aA
0.25 Pi + 0.25 Phi	0.36 aB	0.71 bA	0.53 bA	0.39 bcB	0.05 bA	0.06 aA
0.5 Phi	0.19 bA	0.15 cA	0.29 bA	0.24 cA	0.03 cA	0.02 bA

Means followed by different small letters in the columns (n = 48) and capital letters in the lines (n = 24) are different by the Duncan's multiple range test and F test ($P < 0.05$), respectively.

Table 6. Nitrogen concentration, accumulation, utilization efficiency (NUE) of leaves and photosynthetic nitrogen use efficiency (PNUE) of Carrizo citrange (CC) and Smooth Flat Seville (SFS) citrus rootstocks seedlings after 83 days of phosphate (Pi) and/or phosphite (Phi) treatments in hydroponic and sand media treatments combined.

P-treatments/rootstocks	Leaf N		NUE		PNUE	
	CC	SFS	CC	SFS	CC	SFS
mmol L ⁻¹	g kg ⁻¹		mg plant ⁻¹		μmol CO ₂ s ⁻¹ g ⁻¹ N	
No P	43.3 aA	34.4 aB	15.08 cA	14.12 cA	0.009 cA	0.012 cA
0.5 Pi	35.8 bA	26.7 cB	35.81 aB	53.42 aA	0.028 aB	0.084 aA
0.25 Pi + 0.25 Phi	37.5 bA	28.7 bcB	26.70 bA	32.89bA	0.021bB	0.056 bA
0.5 Phi	30.1 cA	31.5 abA	8.14 cA	8.71 cA	0.009 cA	0.009 cA

Means followed by different small letters in the columns (n = 48) and capital letters in the lines (n = 24) are different by the Duncan's multiple range test and F test ($P < 0.05$), respectively.

7.4. Discussion

7.4.1. Growth and nutrition of citrus rootstocks under sources and rates of P

Since the growth and physiological responses to P-treatments were similar in both hydroponic and sand culture, as indicated by no significant three-way interaction, we could not support our original hypothesis that responses of each citrus rootstock to Phi supply to the roots would vary with growth media. This may have been related to the fact that the sand used in the experiment was autoclaved before the seedlings were transplanted, what negated any potential role of soil bacteria in Phi oxidation to Pi during the 83 days period. The fertigation application every other day was also favorable to maintain a constant elevated concentration of nutrients in the soil solution contributing to the high nutrient uptake rate by the plants. Thus, both hydroponic and sterilized sand media likely minimized oxidation of Phi to Pi and maximized plant-Phi interactions at root system level.

The limited growth under P deficiency was probably the result of decreased energetic plant metabolism, biosynthesis of nucleic acids and phospholipids along with down-regulation of P dependent enzymes (Marschner, 1995; Rauch and Bucher, 2002; Morcuende et al., 2007). Shoot growth was more affected by low P than root growth as R/S ratio increased (Syvertsen and Graham, 1999). Phosphorus deficient plants also increased fibrous root length, which is beneficial for P acquisition beyond existing nutrient depletion zones in the soil (Wissuwa, 2003; Lynch and Ho, 2005) even though this response persisted in hydroponic culture. However, hydroponically grown plants allocated less growth to roots than to shoots (lower R/S ratio) than sand grown plants apparently due to higher facility to acquire water and nutrients since any P depletion zones were absent in hydroponic culture. Despite the benefits increased root growth for P acquisition under P deficiency, plant productivity can be decreased by increased growth allocation to roots (Lynch and Ho, 2005). This idea was supported by a negative correlation between TPDW and R/S ratio ($r = -0.51$; $P < 0.0001$; $n = 96$) determined for citrus rootstocks.

The use of Phi as a fertilizer could only be feasible if Phi supported growth efficiency as well as Pi. However, even when Phi was mixed with phosphate in the Pi + Phi treatment, plant growth was reduced compared to Pi. Furthermore, there was a remarkable reduction on root development in the Phi supplied plants of both rootstock varieties compared to other P treatments. The lower nutritional value of Phi for meeting P requirements of plants has also been described in hydroponically-grown green pepper and tomato plants (Förster et al., 1998), potted

alfalfa grown in P-deficient soil (Wells et al., 2000), seedlings of *Brassica nigra* (Carswell et al., 1996), tomato (Varadarajan et al., 2002) and *Arabidopsis* (Ticconi et al., 2001). Phi also reduced growth cell suspension of oilseed rape (*Brassica napus*) (Singh et al., 2003), *Ulva lactuca* culture (Lee et al., 2005), plants of spinach (*Spinacia oleracea*) (Thao et al., 2008a) and komatsuna (*Brassica rapa*) (Thao et al., 2008b) relative to Pi. Thus, Phi cannot replace Pi as a source of P for citrus, when both are applied either separately or together. The inhibition of *Arabidopsis* growth by Phi was considered a consequence of competitive inhibition of Pi assimilation and an inability of the plants to readily utilize Phi via oxidation to Pi (Ticconi et al., 2001). Therefore, although both Pi and Phi may be translocatable, Phi was not converted into Pi in plants so Phi was unable to enter P biochemical pathways (Varadarajan et al., 2003). Phi reduced root growth and leaf N below that of No P plants so there was evidence of phytotoxic effects of Phi and negative interactions of Phi with Pi and nitrogen. This may be related to the stress-induced increase in citrus flowering following winter applications of Phi (Albrigo, 1999).

The deleterious effects of Phi has been shown to be more pronounced in Pi stressed plants than in plants with sufficient Pi (Carswell et al., 1996; Ticconi et al., 2001; Thao et al., 2008a). This was supported here where plant growth was lower with Phi than with Pi + Phi which may have been due to either a reduced Phi availability and uptake or its ability to interfere with biochemical reactions in the presence of Pi (Varadarajan et al., 2003). Consequently, P-deficient citrus plants might be more susceptible to possible damage caused by Phi than P sufficient plants.

There is a structural similarity between Pi and Phi that allow both forms of P to be taken up via membrane Pi transporters (Varadarajan et al., 2003) as citrus rootstocks accumulated P-PO₃ in their roots proportionally to Phi supply in the nutrient solution. However, the increased total P concentration of leaves from the Phi treatment resulted from reduced plant growth (Figure 1a). Moreover, Phi plants had fewer roots, even with improved P nutrition from a lack of growth dilution. In addition, total P was not accumulated in leaves of Phi treated plants (Table 3) similar to effects of Phi on leaf P concentration and accumulation in spinach (Thao et al., 2008a). There were increases in soluble P-PO₄ concentrations above that in No P plants in leaves and roots of seedlings that received Phi which was also reported in sweet orange seedlings after foliar or soil application of Phi (Orbovic et al., 2008). These could have resulted after oxidation of

incorporated Phi to Pi or due to competition between P sources for assimilation in the plant tissue, leading to an increase of free Pi concentration (Schroetter et al., 2006; Thao et al., 2008a). SFS had higher PUE and NUE in the leaves compared to CC, but CC had higher PUE in roots which contributed to its more vigorous root growth than SFS (Table 1). These results confirmed the variation among citrus rootstocks varieties with regard to nutrient utilization efficiency. The PUE in root and leaf tissue was greatly reduced for plants treated with Phi relative to Pi which suggested that these Phi plants were either not able to use Phi or were not normally using the fraction of Pi present in the leaves or roots for growth. The same pattern that occurred for NUE might be explained by a strong interaction that exists between P and N metabolism in plants (Rufty et al., 1990; Groot et al., 2003). Thus, the lower nutrient utilization efficiency in Phi treated plants might have been due to the lower nutritional value of Phi impairing whole plant metabolism including Pi and N assimilation, and/or due to a direct phytotoxic effect of Phi.

7.4.2. Photosynthetic apparatus

Although P deficiency is well known to limit the photosynthetic process, the limited carbon assimilation in phosphate starved plants depends on the extent of nutrient deficiency in the leaves as well the capability of plant metabolism to cope with low internal Pi supply (Kondracka and Rychter, 1997). There was a negative effect of No P treatment on A_{CO_2} and g_s but C_i was not reduced. As in P-stressed *Pinus radiata* plants (Bown et al., 2009), the photosynthetic limitation was not explained by a decrease in g_s as C_i was increased. The restricted A_{CO_2} was more limited by direct effects of low P on biochemical processes than by stomatal limitations. In P deficient soybean plants, this non-stomatal limitation was related to a reduction in the active site of RuBP-Case or to a decrease in the rate of RuBP-regeneration (Freedman et al., 1990). In Pi-deficient No P or Phi plants, carbon sink strength from reduced growth undoubtedly resulted in lower carbohydrate demand on the source leaves leading to a negative feedback control of photosynthesis (Syvertsen et al., 2003).

Although the total A_{CO_2} was reduced in P deficient No P plants, these plants tended to use leaf tissue P more efficiently to support photosynthetic process as supported by a high PPUE (more gain of CO_2 per unit of P). PPUE was not accompanied by increases in the Pt as demonstrated by the negative correlation between these two variables ($r = -0.36$; $P = 0.0003$; $n = 96$). The well-nourished Pi plants may have maintained part of their total P stored in the vacuole, and therefore, this P did not participate directly in the reactions involved with A_{CO_2}

resulting in decreased PPUE. There was a curvilinear relationship between Pt in the leaves of *Eucalyptus grandis* seedlings and A_{CO_2} with less proportional increases in assimilation rates at higher Pt contents (Kirschbaum & Tompkins, 1990). Thus, the higher A_{CO_2} in Pi leaves was consequence of higher concentration of P expressed on a leaf area basis (mg cm^{-2} , data not shown).

Even though the Pt concentration in the leaves increased in the Phi treatment, this increase was not reflected in improved A_{CO_2} compared to No P plants (Figure 1c). The Pt concentration in citrus leaves appeared not to have been the main limitation for A_{CO_2} in that case. Since part of the total P in plant supplied with Phi remained as P in the reduced form, it likely disturbed the Pi functions during the photosynthetic process. Differences in the symmetry between Pi and Phi molecules have reported to be a probable cause of the inability of Phi to replace Pi in plant metabolism (McDonald et al., 2001). In our study, the plants supplied with only Phi developed chlorotic and necrotic spots with misshapen new leaves. Reduced chlorophyll content (estimated from SPAD readings) in the Phi plants, probably also contributed to reduced A_{CO_2} since there was a positive correlation between SPAD readings and A_{CO_2} .

The lower photosynthetic nitrogen use efficiency (PNUE) in No P and Phi treatments leaves in relation to Pi leaves also could have contributed to the reduced A_{CO_2} . In spite of the relatively high N concentration in all leaves, the reduced PNUE might have been related to changes in nitrogen metabolism at low Pi. More than half of leaf N can be incorporated into the photosynthetic apparatus as chloroplast constituents such as Rubisco or chlorophyll (Evans & Terashima, 1987). The reduced SPAD reading for the No P and Phi treatments in both rootstocks, confirm a decrease in leaf chlorophyll despite the high total N. Low Pi in young tobacco plants (*Nicotiana tabacum* [L.]) resulted in increased NO_3^- and amino acids in the root and shoot as well as a decrease in the amounts of ^{15}N incorporated into shoot protein (Rufty et al., 1990).

In our study, the lower photosynthetic efficiency of photosystem II in No P plants was confirmed by reduced values of F_v/F_m and Y at the end of experiment in the leaves of both rootstocks. However, our results differed from those obtained with common beans grown with low Pi in the nutrient solution, where plants with lower A_{CO_2} did not show any reduction of F_v/F_m (Lima et al., 1999). The relation between A_{CO_2} and photosystem II depends on the P deficiency level and the photosynthetic mechanisms used by the plants to cope with low P stress.

Even though Phi promoted an increase on Fv/Fm and Y compared to the No P treatment, chlorophyll fluorescence was still below that in Pi leaves. However, the higher values of Fv/Fm and Y in Phi treated plants were not translated into increased A_{CO_2} . Nonetheless, the process of electrons transport (PSII operating efficiency) in Phi treated plants appeared not to be as limiting to A_{CO_2} as in the No P plants that may have been less able to generate and consume ATP and NADPH to support PSII (Baker, 2008). There was no significant correlation between A_{CO_2} with either Fv/Fm ($r = 0.17$; $P < 0.28$; $n = 48$) or Y ($r = 0.10$; $P < 0.49$; $n = 48$) when data were pooled from No P plus Phi plants. In contrast, there were significant correlations between A_{CO_2} and Fv/Fm ($r = 0.66$; $P < 0.0001$; $n = 48$) and Y ($r = 0.67$; $P < 0.0001$; $n = 48$) using data pooled from No P plus Pi plants.

7.5. Conclusions

To determine the relative efficiency of Phi in relation to Pi as a source of P, these two potential sources of P were applied at about equal rates and in combination in aerated solution and sand culture with a low potential for oxidation of Phi to Pi. There was no nutritional value for Phi as a source of P to support growth or physiological responses of CC and SFS citrus rootstock seedlings even though there were increases in the concentration of total P in leaf and root tissues compared to No P plants. Phi reduced root growth and leaf N below that of No P plants so there was evidence of phytotoxic effects of Phi and negative interactions of Phi with Pi and nitrogen. Although Phi increased leaf chlorophyll fluorescence characteristics above No P leaves, Phi treated plants had similarly low total plant growth, A_{CO_2} and leaf chlorophyll as No P plants relative to Pi treated plants. Thus, Phi cannot be recommended to manage P nutrition. Although there may be a fungicidal use of Phi, the deleterious effects of Phi on plant nutrition should be avoided when there is no need to use this compound to control fungal diseases like *Phytophthora* spp.

7.6. Literature Cited

ALBRIGO, L.G. Effects of foliar applications of urea or Nutriphite on flowering and yields of Valencia orange trees. **Proceedings Florida State Horticultural Society**, v. 112, p. 1–4, 1999.

- BAKER, N.R. Chlorophyll Fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review Plant Biology**, v. 59, p. 89–113, 2008.
- BARRET, S.R.; SHEARER, B.L.; HARDY, G.E.S.J. Efficacy of phosphite applied after inoculation on the colonization of *Banksia brownii* stems by *Phytophthora cinnamomi*. **Australian Journal of Plant Pathology**, v. 32, p. 1–7, 2003.
- BATAGLIA, O.C.; FURLANI, P.R.; FERRAREZI, R.S.; MEDINA, C.L. **Padrão nutricional de mudas de citros**. Araraquara: Vivecitrus/Complant, 2008. Boletim técnico.
- BOWN, H.; WATT, M.S.; MASON, E.G.; CLINTON, P.W.; WHITEHEAD, D. The influence of nitrogen and phosphorus supply and genotype on mesophyll conductance limitations to photosynthesis in *Pinus radiata*. **Tree Physiology**, v. 29, p. 857-869, 2009.
- BOZZO, G.; SINGH, V.; PLAXTON, W. Phosphate or phosphite addition promotes proteolytic turnover of phosphate-starvation inducible tomato purple acid phosphatase isoenzymes. **FEBS Letters**, v. 573, p. 51-51, 2004.
- CASTLE, W.S.; BOWMAN, K.; GRAHAM, J.H.; TUCKER, D.P.H. Florida citrus rootstock selection guide. UF/IFAS, SP248. University of Florida, Gainesville, 2006.
- CARSWELL, C.; GRANT, B. R.; THEODOROU, M. E.; HARRIS, J.; NIERE, J. O.; PLAXTON, W.C. The fungicide phosphonate disrupts the phosphate-starvation response in *Brassica nigra* seedlings. **Plant Physiology**, v. 110, p. 105-110, 1996.
- CARSWELL, C.; GRANT, B. R.; THEODOROU, M. E.; PLAXTON, W.C. Carswell, C., B. R. Grant, M. E. Theodorou, W. C. Plaxton. Disruption of the phosphate-starvation response of oilseed rape suspension cells by the fungicide phosphonate. **Planta**, v. 203, p. 67-74, 1997.
- EVANS, J.R.; TERASHIMA. Effects of nitrogen nutrition on electron transport components and photosynthesis in spinach. **Australian Journal Plant Physiology**, v. 14, p. 59-68, 1987.
- FORSTER, H.; ADASKAVEG, J.E.; KIM, D.H.; STANGHELLINI, M.E. Effect of phosphite on tomato and pepper plants and on susceptibility of peppers to *Phytophthora* root and crown rot in hydroponic culture. **Plant Disease**, v. 82, p. 1165–1170, 1998.
- FREDEEN, A.L.; RAAB, T.K.; RAO, I.M.; TERRY, N. Effects of phosphorus nutrition on photosynthesis in *Glycine max* (L.) Merr. **Planta**, v. 181, p. 399-405, 1990.
- FURLANI, P.R.; SILVEIRA, L.C.P.; BOLONHEZI, D.; FAQUIN, V. **Cultivo hidropônico de plantas**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1999. Boletim Técnico n. 180.

- GOOD, A.G.; SHRAWAT, A.K.; MUENCH, D.G. Can less yield more? Is reducing nutrient input into environment compatible with maintaining crop production? **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 597-604, 2004.
- GRAHAM, J.H.; DUNCAN, L.W.; EISSENSTAT, D.M. Carbohydrate allocation patterns in genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency. **New Phytologist**, v. 135, p. 335-343, 1997.
- GROOT, C.C.; MARCELIS, L.F.M.; BOOGAARD, R.; KAISER, W.M.; LAMBERS, H. Interaction of nitrogen and phosphorus nutrition in determining growth. **Plant and Soil**, v. 248, p. 257-268, 2003.
- GUEST, D.; GRANT, B. The complex action of phosphonates as antifungal agents. **Biology Revenues**, v. 66, p. 159–187, 1991.
- KIRACHBAUM, M.U.F.; TOMPKINS, D. Photosynthetic responses to phosphorus nutrition in *Eucalyptus grandis* seedlings. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 527-535, 1990.
- KONDRACKA, A.; RYCHTER, A.M. The role of Pi recycling processes during photosynthesis in phosphate-deficient bean plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 48, p. 1461-1468, 1997.
- KORNER, CH.; RENHARDT, U. Dry matter portioning and root/length area ratios in herbaceous perennial plants with diverse altitudinal distribution. **Oecologia**, v. 74, p. 411-418, 1987.
- LEE, T.M.; TSAI, P.F.; SHYU, Y.T.; SHEU, F. The effects of phosphite on phosphate starvation responses of *Ulva lactuca* (Ulvales, Chlorophyta). **Journal of Phycology**, v. 41, p. 975–982, 2005.
- LIMA, J.D.; MOSQUIM, P.R.; DA MATTA, F.M. Leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in *Phaseolus vulgaris* as affected by nitrogen and phosphorus deficiency. **Photosynthetica**, v. 37, p. 113-121, 1999.
- LOVATT, C.J. Timing citrus and avocado foliar nutrient applications to increase fruit set and size. **HortTechnology**, v. 9, p. 607–612, 1999.
- LYNCH, J.; HO, M.D. Rhizoeconomics: Carbon costs of phosphorus acquisition. **Plant and Soil**, v. 269, p. 45-56, 2005.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.

- McDONALD, A. E.; GRANT, G. R.; PLAXTON, W. C. Phosphite (Phosphorous Acid): Its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, p. 1505– 1519, 2001.
- MORCUENDE, R.; RAJENDRA, B.; GIBON, Y.; ZHENG, W.; PANT, B.D.; BLASING, O.; USADEL, B.; CZECHOWSKI, T.; UDVARDI, M.K.; STITT, M.; SCHEIBLE, W.R. Genome-wide reprogramming of metabolism and regulatory networks of Arabidopsis in response to phosphorus. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 85-112, 2007.
- MORTON, S.C.; EDWARDS, M. Reduced phosphorus compounds in the environment. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 35, p. 333-364, 2005.
- ORBOVIC, V.; SYRVETSEN, J.P.; BRIGHT, D.; VAN CLIEF, D.L.; GRAHAM, J.H. Growth of Citrus seedlings and their susceptibility to Phytophthora root rot are affected by PO₃ and PO₄ sources of phosphorus. **Journal of Plant Nutrition**, v. 31, p. 774 – 787, 2008.
- PEGG, K.G.; WHILEY, A.W.; SARANAH, J.B.; GLASS, R.J. Control of Phytophthora root rot of avocado with phosphorus acid. **Australian Journal of Plant Pathology**, v. 14, p. 25– 29, 1985.
- PÉREZ-PÉREZ, J.G.; SYVERTSEN, J.P.; BOTÍA, P.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. Leaf water relations and net gas exchange responses of salinized Carrizo citrange seedlings during drought stress and recovery. **Annals of Botany**, v. 100, p. 335-345, 2007.
- RABE, E.; LOVATT, C.J. Relative phosphorus dependency of citrus rootstocks is reflected in leaf nitrogen metabolism. **Journal of America Society for Horticultural Science**, v. 111, p. 922-926 1986
- RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate acquisition. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, 665–693, 1999.
- RAUSCH, C.; BUCHER, M. Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. **Planta**, v. 216, p. 23-37, 2002.
- ROHRBACH, K.G.; SCHENCK, S. Control of pineapple heart rot caused by *Phytophthora parasitica* and *P. cinnamoni*, with metalaxyl, fosetyl-Al and phosphorous acid. **Plant Disease**, v. 69, p. 320–323, 1985.
- RUFTY Jr., T. W.; MACKOWN, C.T.; ISRAEL, D.W. Phosphorus Stress Effects on Assimilation of Nitrate. **Plant Physiology**, v. 94, p. 328-333, 1990.
- SARRUGE, J.R. Soluções Nutritivas. **Summa Phytopatologica**, v.1, p. 231-233, 1975.

- SCHROETTER, S.; ANGELES-WEDLER, D.; KREUZIG, R.; SCHNUG, E. Effects of phosphite on phosphorus supply and growth of corn (*Zea mays*). **Landbauforschu Volk.**, v. 56, p. 87-99, 2006.
- SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 4, p. 289-302, 1981.
- SINGH, V.K.; WOOD, S.M.; KNOWLES, V.L.; PLAXTON, W.C. Phosphite accelerates programmed cell death in phosphate-starved oilseed rape (*Brassica napus*) suspension cell culture. **Planta**, v. 218, p. 233–239, 2003.
- SYVERTSEN, J.P.; GONI, C.G.; OTERO, A. Fruit Load and Canopy Shading Affect Leaf Photosynthesis and Carbohydrate Status in ‘Spring’ Navel Orange Trees. **Tree Physiology**, v. 23, p. 899-906, 2003.
- SYVERTSEN, J.M.; GRAHAM, J.H. Phosphorus supply and arbuscular mycorrhizas increase growth and net gas exchange response of two Citrus spp. grown at elevated [CO₂]. **Plant and Soil**. V. 208, p. 209-219, 1999.
- TENNANT, D. A Test of a Modified Line Intersect Method of Estimating Root Length. **Journal of Ecology**, v. 63, p. 995-1001, 1975.
- THAO, H. T.B.; YAMAKAWA, T.; MYINT, A.K.; SARR, P.S. Effects of phosphite, a reduced form of phosphate, on the growth and phosphorus nutrition of spinach (*Spinacia oleracea* L.). **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 54, p. 761-768, 2008a.
- THAO, H. T.B.; YAMAKAWA, T.; SHIBATA, K.; SARR, S.; MYINT, A.K. Growth response of komatsuna (*Brassica rapa* var. *peruviridis*) to root and foliar applications of phosphite. **Plant and Soil**, v. 308, p. 1-10, 2008b.
- THAO, H.T.B.; YAMAKAWA, T. Phosphite (phosphorous acid): fungicide, fertilizer or bio-stimulator? **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 55, p. 228-234, 2009.
- TICCONI, C.A.; DELATORRE, C.A.; ABEL, S. Attenuation of phosphate starvation responses by phosphite in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 127, p. 963-972, 2001.
- VARADARAJAN, D.K.; KARTHIKEYAN, A.S.; MATILDA, P.D.; RAGHOTHAMA, K.G. Phosphite, an analog of phosphate, suppresses the coordinated expression of genes under phosphate starvation. **Plant Physiology**, v. 129, p. 1232–1240, 2002.

- WELLS, K.L.; DOLLARHIDE, J.E.; MUNDEL Jr, R.E. Effect of phosphite phosphorus on alfalfa growth. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 31, p. 2707 — 2715, 2000.
- WISSUWA, M. How do plants achieve tolerance to phosphorus deficiency? Small causes with big effects. **Plant Physiology**, v. 133, p. 1947-1958, 2003.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento deste trabalho foi originado de questionamentos sobre a resposta diferencial ao suprimento de P por laranjeiras enxertas sobre tangerina ‘Cleópatra’ ou limão ‘Cravo’. Estaria este fato relacionado à eficiência de absorção de P do solo pelo sistema radicular de cada porta-enxerto? Embora não tenham sido avaliadas as várias características relacionadas à definição da eficiência de absorção de P, este índice foi obtido de forma indireta, e apresentou consistência ao longo dos três primeiros estudos realizados. A planta exclusiva de porta-enxerto limão ‘Cravo’ apresentou sistema radicular mais eficiente para absorção de P do que a tangerina ‘Cleópatra’. Entretanto, outra questão poderia surgir: esta eficiência seria mantida após o processo de enxertia? Os resultados dos experimentos demonstraram que sim, tanto para o cultivo em solo, como em solução nutritiva, com o cálculo baseado no uso de ^{32}P . Além disso, outro fator importante que pode contribuir para maior exploração do solo é o crescimento absoluto do sistema radicular. Este parâmetro também foi consistente ao longo dos três estudos, com maior crescimento para o porta-enxerto limão ‘Cravo’ ou plantas enxertadas sobre o mesmo.

No experimento conduzido em condições de solo, foi documentado que as plantas sobre tangerina ‘Cleópatra’ apresentaram maior atividade da fosfatase ácida nas folhas. Considerando o papel desta enzima na quebra de P orgânico e reciclagem do nutriente para os novos fluxos de crescimento, poderia ser hipotizado que a atividade mais elevada desta enzima estaria relacionada com a necessidade de maior remobilização do nutriente para outras partes, dada a menor capacidade do sistema radicular em atender a demanda atual do nutriente. Esta hipótese foi confirmada com os dados de remobilização de P obtidos no experimento com radioisótopo ^{32}P , o qual reafirmou maior dependência dos novos fluxos de crescimento pelas reservas internas de P.

Outro questionamento sobre a relação fósforo e plantas cítricas abordado, correspondeu à avaliação da formada reduzida de P (fosfito) em atender a demanda do nutriente pelas plantas. Neste contexto, foi demonstrado pelo último estudo, que o fosfito, quando utilizado em condições desfavoráveis para oxidação à fosfato não mostrou nenhum valor nutricional, não podendo ser empregado como fonte do nutriente.

CONCLUSÕES FINAIS

- Os citros apresentaram respostas positivas e consistentes ao suprimento de fósforo, que foi um elemento limitante ao desenvolvimento inicial destas plantas.
- Os porta-enxertos cítricos tiveram variabilidade em relação à eficiência de absorção e utilização de fósforo, com destaque para o limão ‘Cravo’, que foi o material genético mais eficiente.
- A distribuição mais homogênea do fertilizante no solo foi prática favorável para aplicação do fósforo, uma vez que incrementou a absorção do nutriente e o crescimento das plantas.
- Melhor desempenho de plantas de laranjeira cultivadas em solos deficientes por fósforo podem ser obtidos com o uso do porta-enxerto limão ‘Cravo’; por outro lado, plantas da combinação ‘Pêra’/tangerina ‘Cleópatra’ foram mais sensíveis à baixa disponibilidade de fósforo, exigindo maior suprimento do nutriente.
- A taxa e a eficiência de absorção de fósforo foram mais elevadas em plantas de ‘Pêra’/limão ‘Cravo’ e que sofreram um período de estresse nutricional pelo nutriente.
- O fósforo foi caracterizado como um elemento móvel em plantas cítricas, o que foi essencial para atender a demanda do nutriente pelos novos fluxos de crescimento da parte aérea.
- A participação da porção remobilizada do nutriente para o total acumulado nas partes novas foi mais elevada em plantas de ‘Pêra’/tangerina ‘Cleópatra’ e com estado nutricional suficiente por fósforo.
- O fosfito não substituiu o fosfato como fonte de nutriente para porta-enxertos cítricos, não sendo viável a sua recomendação para o manejo nutricional, uma vez que comprometeu o crescimento e o metabolismo destas plantas.