

**Acúmulo de prolina na laranjeira 'Pera'
sobre três porta-enxertos e sua interrelação
com as doses de N no solo**



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Tabuleiros Costeiros
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
175**

**Acúmulo de prolina na laranjeira
'Pera' sobre três porta-enxertos e sua
interrelação com as doses de N no solo**

*Luciana Marques de Carvalho
Eduarda de Oliveira Lopes Melo
Flávio Severo da Silva Filho
Lafayette Franco Sobral
Joézio Luiz dos Anjos
Ana Lúcia Borges
Hélio Wilson Lemos de Carvalho*

**Embrapa Tabuleiros Costeiros
Aracaju, SE
2022**

Embrapa Tabuleiros Costeiros
Av. Governador Paulo Barreto de Menezes, nº 3250,
CEP 49025-040, Aracaju, SE
Fone: (79) 4009-1300
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:
Embrapa Tabuleiros Costeiros

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Viviane Talamini

Secretário-Executivo
Ubiratan Piovezan

Membros
Aldomário Santo Negrisoli Júnior
Ana da Silva Lédo
Angela Puchnick Legat
Elio Cesar Guzzo
Fabio Enrique Torresan
Josué Francisco da Silva Junior
Julio Roberto Araujo de Amorim
Emiliano Fernandes Nassau Costa
Renata da Silva Bomfim Gomes

Supervisão editorial
Aline Gonçalves Moura

Normalização bibliográfica
Josete Cunha Melo

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Beatriz Ferreira da Cruz

Foto da capa
Tiago Muniz

1ª edição
Publicação digital - PDF (2022)

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Tabuleiros Costeiros

Acúmulo de prolina na laranja 'Pera' sobre três porta-enxertos e sua interrelação com as doses de N no solo / Luciana Marques de Carvalho... [et al.]. – Aracaju : Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2022.

34 p. : il. (Boletim de Pesquisa / Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1678-1961; 175).

1. Laranja. 2. Citrus. 3. Adubação. 4. Nitrogênio. 5. Prolina. I. Carvalho, Luciana Marques de. II. Melo, Eduarda de Oliveira Lopes. III. Silva Filho, Flávio Severo da. IV. Sobral, Lafayette Franco. V. Anjos, Joézio Luiz dos. VI. Borges, Ana Lúcia. VII. Carvalho, Hélio Wilson Lemos de. I. Série

CDD (21. ed.) 634.31

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	14
Conclusões.....	30
Agradecimentos.....	30
Referências	31

Acúmulo de prolina na laranjeira 'Pera' sobre três porta-enxertos e sua interrelação com as doses de N no solo

Luciana Marques de Carvalho¹

Eduarda de Oliveira Lopes Melo²

Flávio Severo da Silva Filho³

Lafayette Franco Sobral⁴

Joézio Luiz dos Anjos⁵

Ana Lúcia Borges⁶

Hélio Wilson Lemos de Carvalho⁷

Resumo – As folhas das laranjeiras apresentam altos teores de prolina, aminoácido reconhecido como marcador bioquímico de tolerância à seca. Com o objetivo de estudar as relações entre dose de nitrogênio (N) no solo e tolerância à seca da laranjeira 'Pera', quando enxertada nos porta-enxertos 'Cravo', 'Sunki Tropical' e 'San Diego', foram estabelecidos três experimentos simultâneos no polo citrícola da Bahia e Sergipe no delineamento de blocos ao acaso, com quatro doses de N no solo e cinco repetições. Nas folhas, foram determinados o teor relativo de água, de prolina e de clorofila, nas estações úmida e seca, de nitrogênio, anualmente, além das taxas fotossintéticas. Durante quatro safras consecutivas, registrou-se a produtividade dos pomares. Para a maioria dos anos e porta-enxertos, os teores de N e de prolina nas folhas aumentaram em função da dose de N no solo, em contraste com o teor de clorofila e as taxas fotossintéticas. A produtividade foi modificada

¹ Bióloga, doutora em Fitotecnia (Produção vegetal), pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

² Graduanda em Engenharia Agrônoma, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

³ Técnico em Alimentos, graduando de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

⁴ Engenheiro-agrônomo, PhD. em Ciência do solo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

⁵ Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciência do solo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

⁶ Engenheira-agrônoma, doutora em Fertilidade de Solos, pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

⁷ Engenheiro-agrônomo, mestre em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

pela dose de N apenas na quarta safra, exceto para plantas sobre 'San Diego'. Os resultados indicaram que sob precipitação regular e frequente, os três porta-enxertos induzem, às folhas da laranjeira 'Pera', aumentos crescentes no acúmulo de prolina em função das doses de N, mas sob chuvas escassas, o padrão de acúmulo de prolina foi alterado, o que variou com o porta-enxerto. A maior eficiência no uso da água e padrão de acúmulo de prolina proporcionado pelo porta-enxerto 'Sunki Tropical' sugerem sua alta tolerância à seca.

Palavras-chave: *Citrus sinensis*, tolerância à seca, remobilização do N, Tabuleiros Costeiros.

Proline accumulation in 'Pera' sweet orange grafted onto three rootstocks and its interrelation with nitrogen

Abstract – Sweet orange leaves have high levels of proline, an amino acid recognized as a biochemical marker of drought tolerance. In order to study the relationship between soil nitrogen (N) level and proline accumulation in leaves of 'Pera' sweet orange grafted on 'Rangpur', 'Sunki Tropical' and 'San Diego' rootstocks, three simultaneous experiments were installed in the citrus pole of Bahia and Sergipe in a randomized block design, with four doses of N in the soil and five replications. In the leaves, the contents of water, proline and chlorophyll, in the wet and dry season, of nitrogen content, annually, were determined, in addition to the photosynthetic rates. During four consecutive seasons, the fruit yield of the orchards was recorded. For most years and rootstocks, the leave contents of N and proline increased as a function of the N soil dose, in contrast to chlorophyll content and photosynthetic rates. Fruit yield was changed by N dose in the fourth crop, except for plants grafted on 'San Diego'. The results indicated that under regular and frequent rainfall, the three citrus rootstocks favor proline increases as a function of N doses, but under low rainfall, the pattern of proline accumulation was modified, which varied with the rootstock. The greater water-use efficiency and pattern of proline accumulation provided by the rootstock 'Sunki Tropical' suggest its high tolerance to drought.

Index terms: *Citrus sinensis*, drought tolerance, N remobilization, Coastal Tablelands.

Introdução

Os citros são espécies perenes, cultivadas em mais de 100 países, que requerem disponibilidade hídrica e aplicação de fertilizantes para alcançarem boa produtividade (Cantarella et al., 2003; Alva et al., 2006; Boaretto et al., 2013; Gimeno et al., 2014). Como tem um longo período produtivo, são frequentemente expostos a condições ambientais desfavoráveis, como altas temperaturas e escassez de umidade. Curtos períodos de depleção hídrica são requeridos para induzir a dormência requerida para o florescimento nos Trópicos, onde a temperatura do ar não é suficientemente baixa para estimular a floração. Entretanto, déficits hídricos por períodos mais prolongados impactam negativamente a produtividade (Campos et al., 2011).

A menor disponibilidade de umidade, particularmente na zona radicular, acarreta desequilíbrios metabólicos e implica na necessidade de regulação adicional visando melhor balanceamento entre a perda de água por transpiração e a produção fotossintética (Boscariol Camargo et al., 2007; Zaher Ara et al., 2016; Hussain et al., 2018; Miranda et al., 2021). Para minimizar a perda de água por transpiração, uma das primeiras respostas das laranjeiras é o fechamento estomático, que possibilita evitar redução do potencial hídrico (Miranda et al., 2021). Quando o potencial hídrico diminui, um dos principais mecanismos fisiológicos que favorece a manutenção do turgor necessário para manter a atividade fisiológica é o aumento da concentração de solutos - ajuste osmótico (Campos et al., 2011). Dentre esses solutos, destaca-se o aminoácido prolina, cujo acúmulo tem sido amplamente verificado entre os citros (Levy, 1983; Nolte et al., 1997; Rodríguez Gamir et al., 2010; Carvalho et al., 2013; Silva et al., 2019). Segundo Verslues e Sharma (2010), o acúmulo mais frequente desse aminoácido do que de outros se justifica em função das suas características químicas básicas: maior solubilidade em água do que demais aminoácidos e ter fracas cargas negativa e positiva, respectivamente, nos grupamentos carboxila e nitrogenado. Essas características justificam a prolina ser reconhecida como marcador bioquímico de tolerância à seca.

No Brasil, a maioria dos pomares cítricos se baseia na enxertia de uma copa de maior interesse econômico num porta-enxerto mais tolerante à seca. Por muitos anos, essa foi a principal estratégia utilizada para gerenciar o problema

da escassez hídrica (Boscariol Camargo et al., 2007). No sul de Sergipe e litoral norte da Bahia, área majoritariamente de Tabuleiros Costeiros, o cultivo de laranjeiras-doce, principalmente 'Pera' CNPMF D6 (*Citrus sinensis* L.), ocupa grande parte de uma região conhecida como Polo citrícola da Bahia e de Sergipe. De acordo com documentos oficiais (IBGE, 2020), a produtividade média desse polo é baixa ($12,2 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$), o que desestimula principalmente os pequenos produtores, que dependem da produção para o seu sustento, a investir nos pomares. A baixa produtividade verificada é, ao menos em parte, decorrente de decréscimos devidos aos períodos prolongados de déficit hídrico sazonal. Nesse polo, onde a maioria dos pomares é conduzida em sequeiro, em grande parte dos pomares não há água disponível no solo para irrigação, e o custo elevado com água e energia torna inviável essa prática. Diante disso, a principal estratégia utilizada para gerenciar o problema da escassez hídrica na citricultura local ainda tem sido a adoção de um porta-enxerto tolerante à seca (Silva et al., 2021). O limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck), ao qual é atribuído tolerância à seca, é um dos porta-enxertos mais utilizados nesse polo. Apesar de apresentar atributos desejáveis, é susceptível a algumas doenças importantes na citricultura, como o 'Declínio' e a 'Morte súbita dos citros' (Bassanezi et al., 2003). Portanto, a fundamentação da citricultura dos estados da Bahia e de Sergipe nesse único porta-enxerto coloca a produção de laranjeiras-doce desses estados em risco. Outros porta-enxertos, a exemplo da tangerineira 'Sunki Tropical' (*Citrus sunki*) e do citrandarin 'San Diego' (*Citrus sunki* x *Poncirus trifoliata* 'Swingle') vem sendo recomendados.

Estudos prévios demonstraram que níveis foliares adequados de nitrogênio podem reduzir efeitos negativos do déficit hídrico, por meio do aumento da disponibilidade de solutos orgânicos, como a prolina, e o aumento da atividade de algumas enzimas antioxidantes (Khammari et al., 2012; Gimeno et al., 2014; Ziogas et al., 2021). Além disso, Nolte et al. (1997) verificaram que a prolina, produzida nas folhas, pode ser translocada e acumulada em outros órgãos. A identificação de relações entre produção de frutos, teores foliares de nitrogênio e de prolina podem fornecer informações úteis para a otimização do manejo da adubação nitrogenada e o aumento da produtividade em pomares de laranjeira 'Pera' do polo citrícola da Bahia e de Sergipe. Diante disso, o objetivo desse estudo foi estudar as relações entre dose de nitrogênio no solo e acúmulo de prolina na laranjeira 'Pera' sobre os porta-enxertos 'Cravo', 'Sunki Tropical' e 'San Diego'.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido em propriedade privada (11° 29' 7" S, 37° 56' 4" W; 170 m de altitude), situada no município de Rio Real, maior produtor de laranjas-doces dos Tabuleiros Costeiros do litoral norte do estado da Bahia e município com maior área colhida (17.000 ha) do Brasil (IBGE, 2020). Segundo a classificação dada por Köppen, o clima local é do tipo "As", ou seja, quente e úmido, com verão seco. O solo da propriedade é um Argissolo Amarelo Eutrófico típico, textura arenosa / média, a moderado.

Nessa área, o registro da precipitação pluvial ao longo de 20 anos permitiu constatar que o período mais úmido do ano é de abril a agosto e o período mais seco de setembro a fevereiro (Figura 1A). O registro diário da precipitação permitiu calcular o acumulado em cada mês e ano, e estimar número de dias sem chuvas (Figura 1B) O menor volume de precipitação foi verificado no ano de 2018 (779,1 mm) e o maior em 2020 (1447,3 mm).

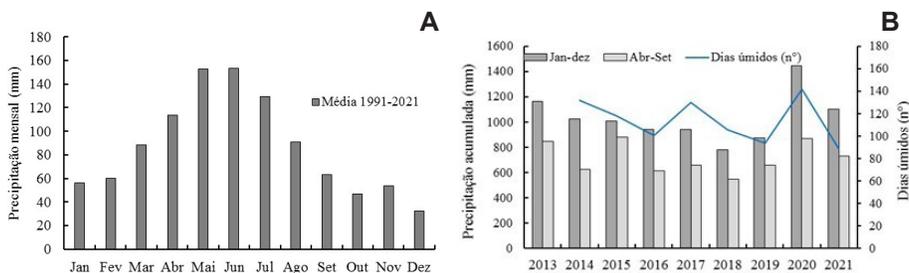


Figura 1. Médias mensais de precipitação ao longo de 20 anos (A), e precipitação acumulada de janeiro a dezembro e em particular no período úmido (abril a agosto) e número de dias úmidos por ano (B), de 2013 a 2021 em pomar comercial conduzido em propriedade privada. Rio Real/BA.

Na propriedade, o trabalho foi desenvolvido em pomar de laranjeiras-doce 'Pera' CNPMF-D6 (doravante denominado apenas 'Pera') enxertadas no limoeiro 'Cravo', citrandarin 'San Diego' e tangerineira 'Sunki Tropical', implantado em agosto de 2013. As combinações copa/ porta-enxerto foram cultivadas em faixas (Figura 2), a partir de mudas obtidas em viveiro telado, no espaçamento de 7 m, entre linhas, e 2 m, entre plantas da mesma linha (714 plantas·ha⁻¹), sem irrigação, sob cultivo convencional.

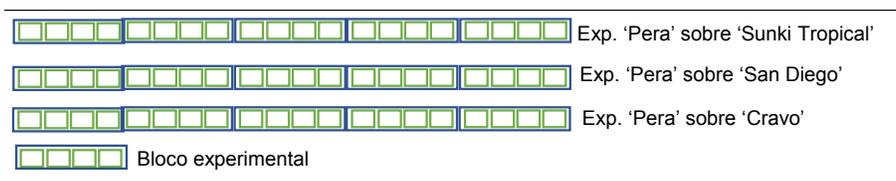


Figura 2. Desenho esquemático do estudo conduzido no município de Rio Real-BA, com representação dos experimentos de laranjeira 'Pera' sobre os porta-enxertos 'Cravo', 'Sunki Tropical' e 'San Diego', conduzidos simultaneamente em faixas de cultivo paralelas, com seus cinco blocos, constituídos por quatro unidades experimentais.

Adubação das plantas

No período de 2013 a 2016, o pomar foi adubado e manejado de forma homogênea pelo proprietário, como é tradicionalmente realizado pelos citricultores de médio a grande porte da região. Anualmente, foi depositado no solo sob a copa das árvores ureia (45% de N), como fonte de nitrogênio (N), superfosfato triplo (46% de P₂O₅), como fonte de fósforo, e cloreto de potássio (58 % de KCl), como fonte de potássio, além de micronutrientes fornecidos por meio de adubações foliares.

Em 2017, iniciou-se estudo relativo à adubação nitrogenada das laranjeiras com o estabelecimento de três experimentos simultâneos de doses de N no solo, conduzidos no delineamento de blocos casualizados, com quatro tratamentos (as doses de N) e cinco repetições (Figura 2). Os demais nutrientes foram fornecidos segundo recomendação para a cultura (Sobral et al., 2007), nas mesmas fontes citadas anteriormente. A fonte de N utilizada foi a ureia, por apresentar menor custo de N, ser a mais utilizada nos pomares da região e com base nos estudos de Mattos Júnior et al. (2003),

que não encontraram, nas laranjeiras, diferenças entre as respostas à ureia e ao nitrato de amônio. Cada um dos experimentos envolveu a laranjeira 'Pera' combinada com um porta-enxerto: laranjeira 'Pera'/ limoeiro 'Cravo' (experimento 1), laranjeira 'Pera'/ tangerineira 'Sunki Tropical' (experimento 2) e laranjeira 'Pera'/ citrandarin 'San Diego' (experimento 3). A parcela experimental foi representada por cinco plantas, sendo as três centrais consideradas úteis. Nas plantas, as avaliações dos efeitos dos tratamentos foram realizadas entre os anos de 2018 e 2021.

Tratamentos

Os tratamentos foram constituídos de quatro doses de N, aplicadas anualmente no solo sob a copa das árvores: (a) testemunha, sem adubação nitrogenada, (b) 50% da dose recomendada para laranjeira 'Pera' sobre 'Cravo' (Sobral et al., 2000), (c) 100% da dose recomendada, (d) 150% da dose recomendada. Como ainda não é disponível recomendação de adubação nitrogenada para árvores sobre os porta-enxertos 'Sunki Tropical' e 'San Diego' nas condições edafoclimáticas locais, utilizou-se, a princípio, as doses indicadas para 'Pera' sobre 'Cravo'. Entretanto, anualmente, essas doses foram ajustadas em função da idade das plantas, teor de N nas folhas e produção de frutos. A quantidade de ureia adicionada ao solo, em cada tratamento, foi fracionada em duas datas de aplicação, uma no início do período úmido (entre maio e junho) e outra no final (entre agosto e setembro), para minimizar as perdas por lixiviação (Sobral et al., 2000).

Avaliações

A tolerância das laranjeiras ao déficit hídrico foi estimada com base em parâmetros fotossintéticos, nos teores de prolina nas folhas, principalmente, e de clorofila. As avaliações foram realizadas entre 2018 e 2021, em períodos tradicionalmente secos (entre novembro e fevereiro) e, também, períodos usualmente mais úmidos (agosto a setembro), quando alguns dias sem chuva reduziram a disponibilidade de umidade das plantas.

Os parâmetros fotossintéticos mensurados incluíram as taxas de assimilação de dióxido de carbono, de transpiração, e de condutância estomática ao vapor de água, e eficiência fotossintética no uso da água, estimada a partir da razão entre taxa de assimilação fotossintética e taxa de transpiração. Essas

medições foram realizadas entre 9h00 e 11h00, de modo não destrutivo, em folhas totalmente expandidas do 3° ou 4°, de ramo terminal sem frutos, por meio de analisador de gases à infravermelho (modelo LCPro+, da ADC), com irradiância de 1000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$ de fótons, fornecida por fonte de luz LED.

Aprolina foi extraída a partir de discos foliares, removidos de folhas expandidas do 3° e 4° nó de ramos terminais (em consonância com procedimento adotado por Chen et al. 1964), sem frutos, preferencialmente do terço médio das plantas. Para isso, discos foliares foram removidos a partir de folhas do 3° ou 4° nó de ramos terminais (de acordo com parâmetro adotado por Chen et al., 1964), sem frutos, preferencialmente do terço médio das plantas (Carvalho et al., 2021), em agosto e em novembro de 2018 e de 2019, agosto de 2020, janeiro, fevereiro e setembro de 2021. O processo de extração seguiu o protocolo de Bates et al. (1973), com as adaptações propostas por Levy (1980) para folhas de laranjeiras. O teor de prolina nas folhas foi determinado por colorimetria baseada no uso do reagente ninidrina ácida e curva-padrão de prolina Bates et al. (1973).

O teor absoluto de clorofila *a*, *b* e total foi determinado nas folhas das laranjeiras em novembro de 2018, por espectrometria, de acordo com protocolo de Hiscox and Israelstam (1979) a partir de discos foliares obtidos nas mesmas folhas utilizadas na extração de prolina. Nos anos seguintes, estimou-se o teor relativo de clorofila, de forma não destrutiva, com o auxílio de um clorofilômetro portátil (modelo SPAD-5-2, da Minolta).

Nos dias dessas avaliações, o status hídrico das plantas foi estimado com base na determinação do teor relativo de água nas folhas pelo método gravimétrico proposto por Barrs e Weatherley (1962), amplamente utilizado (Shafqat et al., 2021; Souza et al., 2022). Este método se baseia na determinação da massa fresca, túrgida e seca de discos foliares. Nesses dias, o teor de umidade do solo foi determinado por método gravimétrico.

Com o objetivo de investigar possível relação entre o nitrogênio e a tolerância ao déficit hídrico, o teor de N nas folhas foi determinado anualmente, a partir de um mínimo de 12 folhas inteiras (3 de cada um dos quatro quadrantes das árvores), obtidas em agosto de 2018, novembro de 2019, novembro de 2020 e fevereiro de 2021. Para isso, as folhas foram coletadas a partir das três plantas da parcela útil, preferencialmente na altura média da copa das

árvores, de acordo com o padrão de amostragem sugerido por Raij et al. (1997): coleta da terceira e quarta folha sadias, desde que livres de danos mecânicos ou ataques de insetos, a partir de ramos com frutos de 2 a 4 cm de diâmetro, em posição terminal. No laboratório, realizou-se a limpeza das folhas com água corrente e posteriormente água deionizada, seguida por desidratação em estufa com ventilação forçada, modelo MA 035, a 60 °C e moagem em moinho do tipo *Wiley*. O N foi determinado pelo método de Kjeldhal (Silva, 2009). Para interpretação dos teores foliares, foram adotados como padrões os valores compilados por Sobral et al. (2000; 2007).

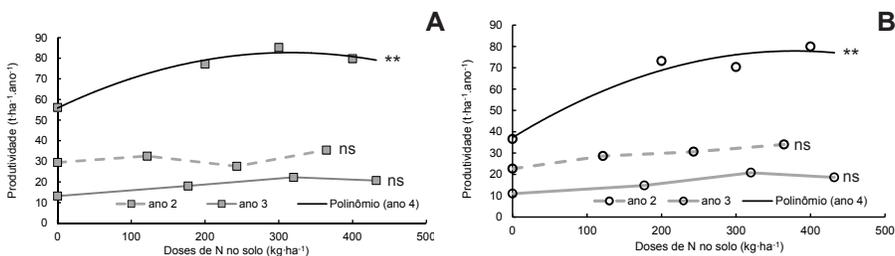
As laranjas 'Pera' foram colhidas três a quatro vezes por ano e tiveram seu peso registrado. Com a soma dessas colheitas obteve-se a produção de frutos de cada safra. Os dados de produção do primeiro ano de aplicação das doses de N, ou seja referente aos frutos colhidos em abril, agosto e dezembro de 2017, não foram considerados nesse estudo a fim de se evitar interferência da adubação anterior. A produção da segunda safra incluiu dados de quatro colheitas: maio e setembro de 2018 e janeiro e junho de 2019. A produção da terceira safra considerou as colheitas de frutos de setembro de 2019, fevereiro e julho de 2020. A produção da quarta safra incluiu as colheitas realizadas em janeiro e julho de 2021 e janeiro de 2022. Com base na produção total, ou seja, na soma de todas as colheitas daquela safra, e na área colhida estimou-se a produtividade em kg/ha⁻¹. Assim, a produtividade da laranjeira 'Pera' sobre 'Cravo', 'Sunki Tropical' e 'San Diego' foi estimada a partir dos dados de produção dos frutos colhidos entre maio de 2018 e maio de 2019 (2° safra), junho de 2019 e julho de 2020 (3° safra) e janeiro de 2021 e janeiro de 2022 (4° safra).

Todos os dados obtidos foram registrados em planilha Excel, submetidos à análise de variância e, aqueles significativos a 1% ou 5% pelo teste F, submetidos à análise de regressão, com o auxílio do programa computacional Sisvar (Ferreira, 2008). Embora os porta-enxertos não tenham sido estatisticamente comparados, desde que foram estudados em experimentos distintos, os dados obtidos foram representados nas mesmas tabelas e gráficos para facilitar comparação visual. Assim, a análise das linhas de tendência e equações de regressão, que possibilitaram melhor ajuste aos dados obtidos, permitiram fazer algumas estimativas. A análise do 'intercepto' (ponto onde a reta corta o eixo y do gráfico) possibilitou estimar o valor do

atributo quando não se adicionou ureia ao solo. No caso de melhor ajuste dos dados a modelo linear, foi possível estimar o incremento no atributo analisado proporcionado por cada 1 kg de N acrescido ao solo. E, no caso dos modelos quadráticos, foi possível estimar o ponto de máximo. Em complemento, análises de correlação lineares de Pearson entre o teor de prolina e o teor de N nas folhas e teor de prolina e produtividade na quarta safra foram feitas com auxílio do software computacional Excel.

Resultados e Discussão

Os dados do presente estudo corroboram dados de Quaggio et al. (1998), referentes a constatação de resposta da produtividade das plantas cítricas ao incremento da adubação nitrogenada. A produtividade da laranjeira 'Pera' sobre 'Cravo' (Figura 3A), 'Sunki Tropical' (Figura 3B) e 'San Diego' (Figura 3C) foi modificada pelas doses de N no solo apenas na quarta safra (frutos colhidos entre janeiro de 2021 e janeiro de 2022) posterior ao início da aplicação dos tratamentos de doses de N no solo (Figura 3D), confirmando dados anteriores de Cantarella et al. (2003). A superioridade da quarta safra, colhida a partir de árvores com 8-9 anos de idade, foi evidente (Figura 3A-C). O melhor desempenho foi favorecido pela maior disponibilidade de umidade durante o ano de 2020 (Figura 1B), quando a maioria desses frutos se desenvolveu.



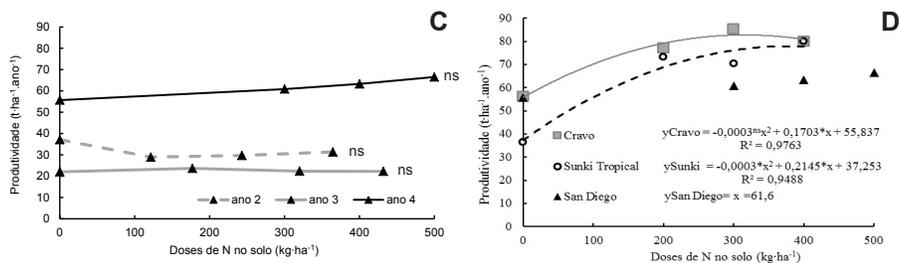


Figura 3. Produtividade da laranja 'Pera' sobre o limoeiro 'Cravo' (A; □), sobre a tangerineira 'Sunki Tropical' (B; ●) e sobre o citrandarin 'San Diego' (C; ▲), na segunda, terceira e quarta safras em função da dose de nitrogênio (N) aplicada no solo; e a produtividade da laranja 'Pera' sobre 'Cravo', 'Sunki Tropical' e 'San Diego' na quarta safra (D). Rio Real, Bahia (ns e ** indicam, respectivamente, não significativo ou significativo a 1% pelo teste F).

Vale ressaltar que o porta-enxerto 'Sunki Tropical' favoreceu a produtividade máxima de 75,59 t·ha⁻¹, associada a dose de 357,5 kg·ha⁻¹ de N no solo, enquanto o 'Cravo' possibilitou produtividade máxima de 80 t·ha⁻¹ num solo adubado com 283,83 kg·ha⁻¹. No caso das árvores sobre 'Cravo' e 'Sunki Tropical', particularmente, o maior acúmulo de N na parte aérea das plantas nesse período (Figura 4D) também contribuiu com a produtividade da quarta safra. Isto foi demonstrado pela alta correlação positiva entre o teor de N nas folhas e a produtividade na quarta safra para plantas sobre 'Cravo' (r = 0,98) e 'Sunki Tropical' (r = 0,99) (Figura 5A). Para as plantas sobre os três porta-enxertos, também foi constatada alta correlação positiva entre os teores de prolina nas folhas e a produtividade [Cravo (r = 0,79), Sunki Tropical (r = 0,94) e San Diego (r=0,95) (Figura 5B)], o que evidencia a forte relação entre esses atributos, com possível papel protetor da prolina.

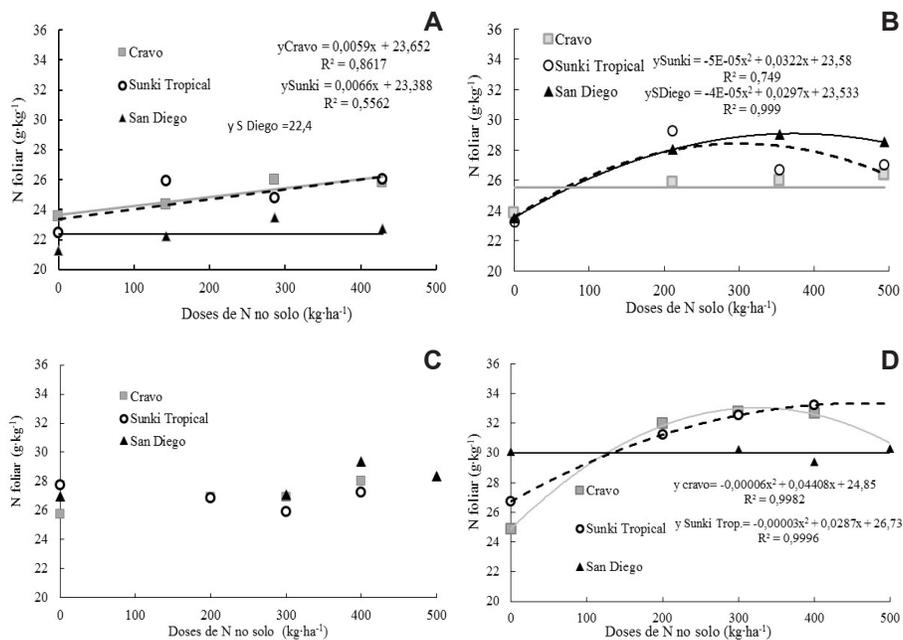


Figura 4. Teor de Nitrogênio nas folhas de laranja 'Pera CNPMF D6' sobre 'Cravo', 'Sunki Tropical' e 'San Diego' em função da dose de N aplicada no solo em agosto de 2018 (A), novembro de 2019 (B), novembro de 2020 (C) e fevereiro de 2021 (D). Rio Real, BA.

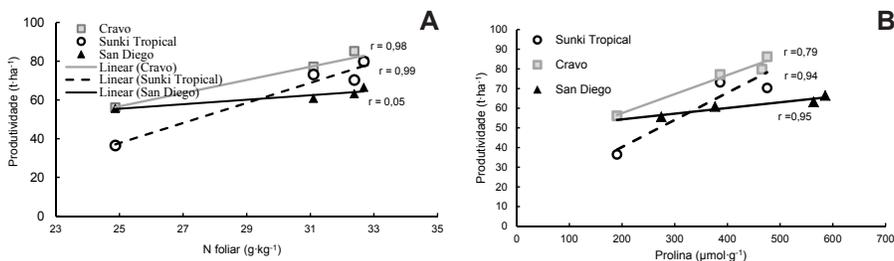


Figura 5. Correlação entre o teor de N nas folhas e a produtividade na quarta safra (A) e entre teor de prolina nas folhas e produtividade na quarta safra (B) da laranja 'Pera' enxertada no limoeiro 'Cravo', tangerineira 'Sunki Tropical' e citrandarin 'San Diego'. Janeiro de 2021 a Janeiro de 2022. Rio Real, Bahia (r indica o índice de correlação de Pearson).

Na quarta safra, o porta-enxerto 'San Diego', em contraste com os porta-enxertos 'Cravo' e 'Sunki Tropical', não proporcionou alteração significativa na produtividade em função das doses de N aplicadas no solo (Figura 3C). Quaggio et al. (1998) verificaram que a produtividade dos limoeiros não responde às doses de N quando os teores foliares de N são iguais ou superiores a $28 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Sobral et al. (2007) afirmaram que teores acima de $30 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ são excessivos para laranjeiras 'Pera' sobre 'Cravo'. Na literatura, não encontramos dados disponíveis sobre adubação dos citrandarins. No caso das plantas enxertadas no 'San Diego', dados do presente estudo, obtidos em 2021, durante período da quarta safra, revelaram menor amplitude de variação nos teores foliares de N entre as plantas não adubadas e aquelas que receberam maior dose de N ($29,40 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ - $30,28 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) do que nas plantas sobre 'Cravo' ($24,87 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ - $32,78 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) e 'Sunki Tropical' ($26,70 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ - $33,23 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$; Figura 4D). Apenas nas plantas sobre 'San Diego', verificou-se também, como já relatado, ausência de resposta estatística significativa à adição de N no solo na produtividade, que se manteve em torno de $61\text{-}65 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, independente de aumentos na adubação nitrogenada (Figura 3D). Neste ano de 2021, a baixa correlação ($r=0,05$), verificada entre o teor de N nas folhas e a produtividade das árvores sobre o 'San Diego', demonstrou para esse ano que esse porta enxerto não foi responsivo às doses de N no solo (Figura 5A). Entretanto, nesse mesmo ano verificou-se aumento no acúmulo de prolina em função das doses de N no solo (Figura 6F, G e H). Isso pode ser explicado, em parte, em função das diferenças na amostragem. Coleta de folhas a partir de ramos sem fruto, que constitui dreno forte, na determinação do teor de prolina, e a partir de ramos com frutos para teor de N nas folhas. Os dados também evidenciaram o importante papel da prolina nessas plantas como reserva de N para essas plantas.

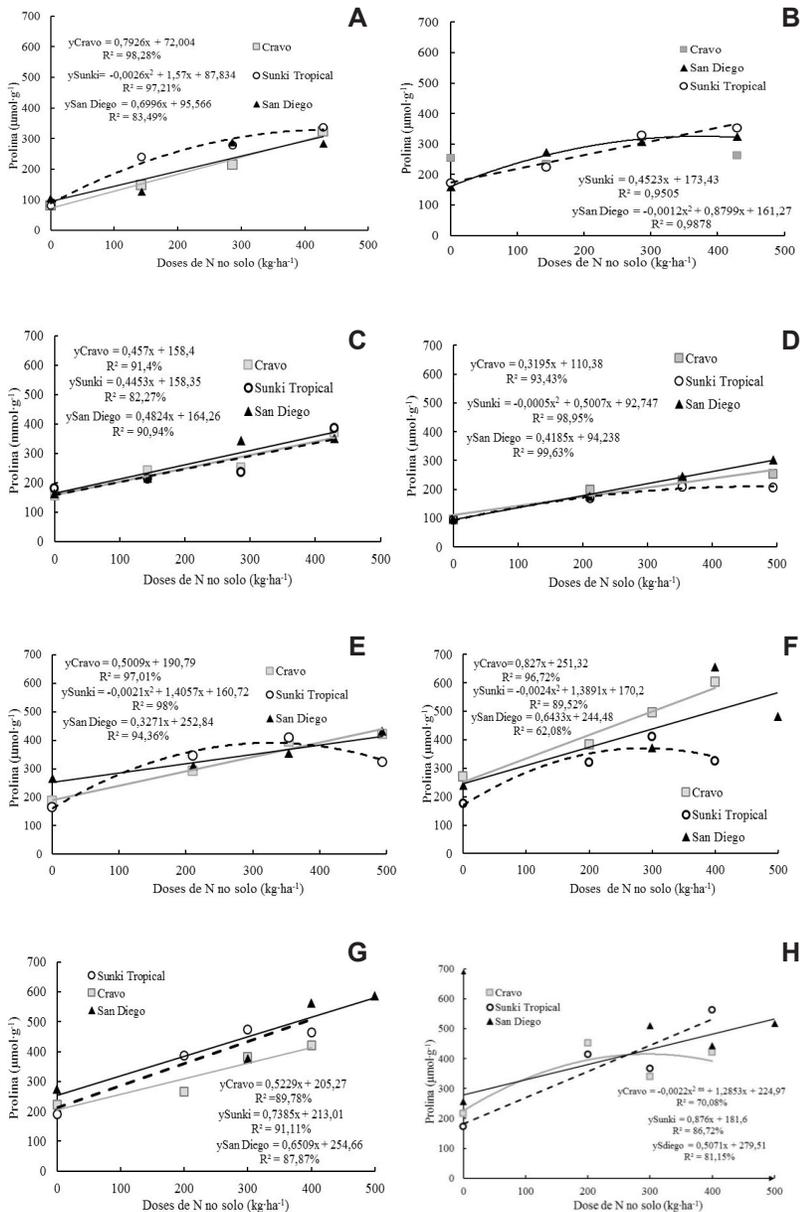


Figura 6. Acúmulo de prolina em folhas de laranja 'Pera' sobre limoeiro 'Cravo', tangerineira 'Sunki Tropical' e citrandarin 'San Diego' em agosto (A) e novembro de 2018 (B), agosto (C) e novembro de 2019 (D), agosto de 2020 (E), janeiro (F), fevereiro (G) e setembro de 2021 (H), em função da dose de N no solo, aplicada como ureia. Rio Real, Bahia.

Quanto à fotossíntese, taxas de transpiração e de condutância estomática relativamente menores foram verificadas nas plantas sobre o porta-enxerto 'Sunki Tropical' (Tabela 2). Verificou-se maior fechamento estomático nas plantas de laranjeira 'Pera' enxertada na tangerineira 'Sunki Tropical', com taxa de condutância estomática de $0,13 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), valor bem abaixo das demais plantas estudadas. Portanto, essas plantas apresentam menos perda de água por transpiração e maior eficiência no uso da água. De acordo com Miranda et al. (2021), o fechamento estomático é uma resposta inicial das laranjeiras tolerantes ao déficit hídrico. Com base nos dados fotossintéticos, sugere-se que o porta enxerto 'Sunki Tropical' proporcionou à laranjeira 'Pera' alta tolerância ao déficit hídrico. O aumento na taxa de fechamento estomático, indicado pelas baixas médias de condutância estomática, entretanto, implica também em menor disponibilidade de dióxido de carbono para a fotossíntese, o que justifica a relativamente menor taxa de assimilação fotossintética dessas plantas e conseqüente menor potencial produtivo nessas condições (Tabela 2).

Tabela 2. Médias de taxa de condutância estomática, transpiração e assimilação fotossintética de CO_2 e eficiência no uso da água para assimilação do CO_2 da laranjeira 'Pera CNPMF -D6' enxertada no limoeiro 'Cravo', tangerineira 'Sunki Tropical' e citrandarin 'San Diego'. Rio Real, BA. Maio de 2021.

Taxas fotossintéticas médias*	Porta-enxerto de citros		
	Cravo	Sunki Tropical	San Diego
T. condutância estomática ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	0,3590	0,1300	0,3425
T. transpiração ($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	2,1025	0,8220	2,469
T. assimilação de CO_2 ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	102,96	69,63	153,70
Eficiência de uso da água ($\mu\text{mol}\cdot\text{mmol}$)	48,81	272,274	62,55

*Dados médios com base em duas leituras realizadas em cada uma das plantas de cada parcela experimental (n=5)

A ocorrência de maior condutância estomática, por outro lado, é favorecida por acúmulo de solutos osmocompatíveis, como a prolina, nas folhas (Campos et al., 2011). Altas concentrações desse aminoácido foram constatadas nos períodos secos e nos úmidos. Além disso, verificou-se, tanto nos períodos secos (Figuras 6 B, D, F e G) quanto nos úmidos (Figuras 6 A, C, e, H), alterações no acúmulo de prolina em função da dose de N no solo. Para cada período e porta-enxerto, a análise das equações de regressão, que melhor se ajustaram aos dados, possibilitou estimar o teor de N das plantas não adubadas, e em alguns casos também o incremento induzido a cada $1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N acrescido ao solo (modelos de regressão linear) ou teor máximo acumulado (modelo quadrático). Em todos os períodos avaliados (agosto e novembro de 2018 e de 2019, agosto de 2020, janeiro, fevereiro e setembro de 2021), menor acúmulo foi encontrado nas plantas não adubadas, as quais também apresentaram menos N nas folhas (Figura 4). Na quarta safra, quando mais frutos foram colhidos (Figura 3D), constatou-se relativamente maior acúmulo de prolina (Figuras 6 F,G e H) e de N nas folhas (Figura 4D), contrastando assim com a primeira safra, quando menores teores de prolina (Figura 6A) e de N (Figura 4A) foram determinados.

Dentre os oito períodos avaliados, quatro se referem a meses usualmente mais úmidos: agosto de 2018, agosto de 2019, agosto de 2020 e setembro de 2021 (Figura 1B). Em todos eles verificou-se acúmulo considerável de prolina nas folhas, independentemente do porta-enxerto associado (Figuras 6A, C, E e H). Em relação à laranjeira ‘Pera’ sobre os porta-enxertos ‘Cravo’ e ‘San Diego’, os dados do presente estudo são semelhantes aos descritos por Carvalho et al. (2021), que registraram os teores de prolina durante período úmido, nas condições de Umbaúba, outro município do polo cítrico da Bahia e Sergipe. De acordo com Nolte et al. (1997), as plantas cítricas apresentam produção constitutiva de prolina, o que explica a ocorrência de altos teores nas plantas sem deficiência hídrica. Segundo esses autores, a prolina pode ser translocada e utilizada pelos órgãos dreno em função da demanda da planta. Em complemento, Legaz et al. (1995) verificaram que mais de 70% do N encontrado nos órgãos novos de plantas cítricas, incluindo folhas, é proveniente da remobilização de reservas de N das folhas, ramos e raízes mais velhos. Não foi completamente elucidada a razão das altas concentrações de prolina nas plantas de citros, embora muitas funções para esse aminoácido têm sido constatadas, incluindo papel antioxidante e reserva de nitrogênio e carbono (Hussain et al., 2018).

O acúmulo de chuva registrado nos trinta dias anteriores às avaliações realizadas em cada um desses períodos foi 47,2 mm (agosto de 2018), 220,6 mm (agosto de 2019), 112,9 mm (agosto de 2020) e 53,8 mm (setembro de 2021). Com base nisso foi possível reconhecer que, agosto de 2019 foi o período mais úmido e agosto de 2018 (47,2 mm) e setembro de 2021, os menos úmidos (Figura 1B). Cabe ressaltar que em agosto de 2019, apenas em oito (não consecutivos) dos 30 dias, não choveu (Figuras 1B e 7), enquanto em agosto de 2018 e setembro de 2021, faltou chuva em cerca de 20 dias, não consecutivos. Esses dados indicaram que nesses períodos ocorreram, provavelmente, veranicos, ou seja, estiagem durante estação chuvosa.

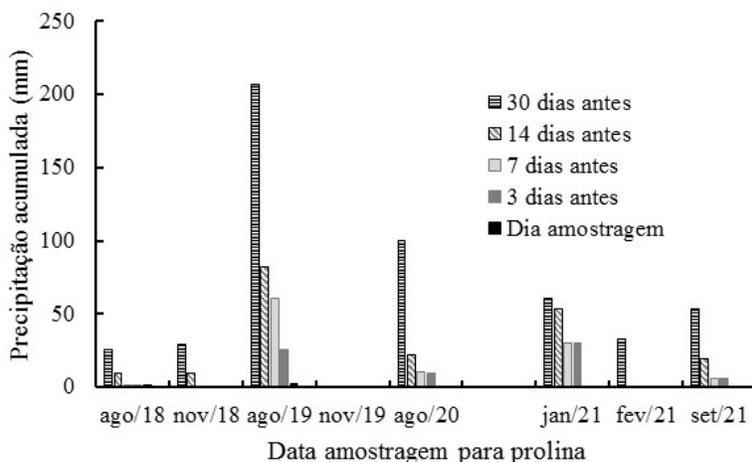


Figura 7. Precipitação acumulada no dia da amostragem para determinação de prolina e o acumulado nos 3, 7, 14 e 30 dias anteriores, em cada um dos oito períodos analisados. Rio Real-BA.

Importante destacar que em agosto de 2019, em resposta às doses de N no solo, os três porta-enxertos induziram acúmulo de prolina, num padrão similar (Figura 6C): menor nas plantas não adubadas e aumentos crescentes naquelas adubadas. Os coeficientes angulares das equações permitiram estimar que o acréscimo de $1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N ao solo possibilitou incremento de $0,457 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de prolina, nas plantas sobre 'Cravo', $0,445 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ nas

plantas sobre 'Sunki Tropical', e de $0,482 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$, nas plantas sobre 'San Diego'. Em adição, os 'interceptos' dessas equações indicaram teores em torno de $158,35 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ e de $164,26 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ nas laranjeiras não tratadas com ureia. Esses dados evidenciaram grande similaridade na resposta favorecida pelos três porta-enxertos às doses de N num período em que muito provavelmente não ocorreu déficit hídrico significativo. Na Figura 8, verifica-se que apenas no período de agosto de 2019, o teor relativo de clorofila das plantas sobre 'Cravo', assim como o de prolina, respondeu às doses de N no solo. Verificou-se incremento no teor relativo de clorofila em função da dose de N no solo, até a dose máxima de $311,75 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N no solo. Ressalta-se que essa dose é similar àquela recomendada atualmente para essas plantas (em torno de $314,16 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) nas condições locais de acordo com Sobral et al. (2007). 'Sunki Tropical' e 'San Diego', em contraste, não induziram mudança significativa no teor relativo de clorofila em função da dose de N no solo nesse período e nem nos demais.

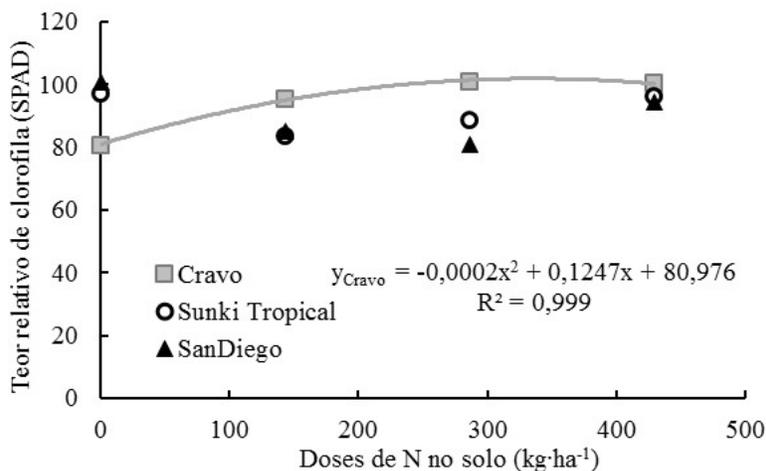


Figura 8. Teor relativo de clorofila de folhas totalmente expandidas do 3º/4º nó mais apical, de ramo terminal sem fruto, do terço médio de laranjeira 'Pera' CNPMF -D6 enxertada no limoeiro 'Cravo', tangerineira 'Sunki tropical' e citrandarin 'San Diego' e cultivadas sob quatro doses de nitrogênio no solo. Rio Real, BA. Agosto, 2019.

Em agosto de 2020, a falta de chuvas durante quatro dias consecutivos sugere ocorrência de déficit hídrico. Nessa condição, os porta-enxertos 'Cravo' e 'San Diego', similarmente ao reportado para agosto de 2019 (Figura 6C), promoveram aumentos crescentes nos teores de prolina em função da dose de N no solo, maiores nas plantas sobre 'Cravo' (Figura 6E). O porta-enxerto 'Sunki Tropical', entretanto, apresentou alteração na resposta do acúmulo de prolina: favoreceu aumento contínuo nos teores até o máximo de $395,96 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ de prolina, com a dose de N no solo de $334,69 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Figura 6E). Cabe ressaltar que o acúmulo de prolina nas plantas sobre 'Sunki Tropical' não adubadas, manteve-se igual àquele verificado em agosto de 2019. Em complemento, a comparação das equações da Figura 6E (agosto de 2020) e Figura 6C (agosto de 2019) permitiu estimar, para plantas não adubadas com ureia, que 'Cravo' e 'San Diego' induziram relativamente maiores acúmulos de prolina em agosto de 2020. Esses dados sugerem que a falta de chuva em quatro dias de agosto de 2020 favoreceu alteração no acúmulo de prolina nas folhas, particularmente das plantas sobre 'Sunki Tropical'.

Em agosto de 2018, verificou-se ausência de chuvas em 20 dos 30 dias anteriores à determinação do teor de prolina (Figura 6). O acúmulo de prolina nas folhas ocorreu em padrão similar ao verificado no período de agosto de 2020 (Figura 6E), confirmando padrão de resposta verificado. Ou seja, 'Sunki Tropical' promoveu aumento nos teores de prolina até um limite máximo ($324,84 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ de prolina), obtido nesse ano com a dose de N de $301,92 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, enquanto 'Cravo' e 'San Diego' favoreceram aumentos crescentes nos teores de prolina em função do aumento do N no solo (Figura 6A). Cabe ressaltar que neste ano, constataram-se incrementos, respectivamente de $0,7926 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ e $0,6996 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ de prolina, respectivamente, nas folhas das plantas sobre 'Cravo' e 'San Diego', em resposta a cada $1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N adicionado ao solo (Figura 6A). Esses números foram superiores àqueles verificados em agosto de 2019 e agosto de 2020. Daí sugere-se que os maiores aumentos no acúmulo de prolina, verificados em agosto de 2018, se devam ao maior número de dias sem chuvas nesse período. De acordo com Levy (1983), sob déficit hídrico, o acúmulo de prolina nas plantas cítricas é proporcional à severidade do estresse. Quanto às plantas não adubadas, estimou-se teores de $72,004 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$, $87,8 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ e $95,6 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ de prolina, respectivamente, para plantas sobre 'Cravo', 'Sunki Tropical' e 'San Diego'.

(Figura 6A). Ressalta-se que esses valores foram relativamente menores do que aqueles encontrados em agosto de 2019 (Figura 6D) e agosto de 2020 (Figura 6E), o que é compatível com os relativamente menores teores foliares de N constatados em 2018 (Figura 4A). A alta correlação positiva verificada entre os teores de prolina e de N nas folhas das plantas sobre ‘Cravo’, ‘Sunki Tropical’ e ‘San Diego’ evidenciou a forte inter-relação desses atributos (Figura 9A).

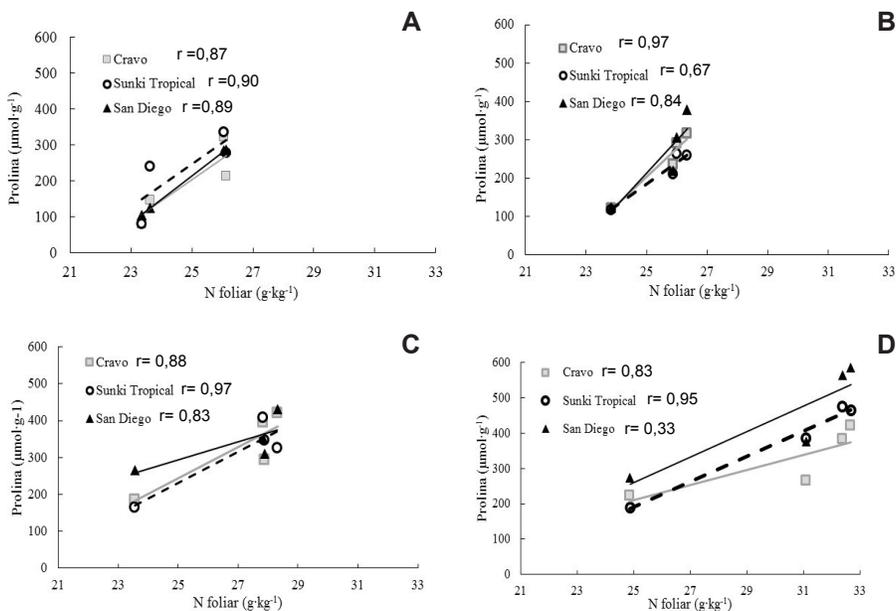


Figura 9. Correlações entre teores de N e de prolina em folhas de laranja ‘Pera’ enxertada no limoeiro ‘Cravo’, tangerineira ‘Sunki Tropical’ e citrandarin ‘San Diego’, com base em dados de agosto de 2018 (A), novembro de 2019 (B), agosto de 2020 (C) e fevereiro de 2021 (D). Rio Real, Bahia. (r indica o índice de correlação de Pearson).

Quanto ao teor de N nas folhas em agosto de 2018, os porta-enxertos de citros, à exceção do ‘San Diego’, modificaram significativamente o teor de N nas folhas em função da dose de N no solo (Figura 4A), num padrão similar àquele relatado para o acúmulo de prolina nas plantas (Figura 6A).

Em setembro de 2021, final da estação das chuvas na região, constatou-se que ‘Sunki Tropical’ e ‘San Diego’ induziram acúmulos crescentes de prolina

em resposta às doses de N, enquanto 'Cravo' favoreceu o acúmulo de prolina até o teor máximo de $412 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (Figura 6H). Nesse período, 'Sunki Tropical' foi o porta-enxerto que induziu menos acúmulo de prolina nas plantas não adubadas com ureia. Entretanto, respondeu às doses de N no solo, com maiores incrementos, quando comparada ao porta enxerto 'San Diego', obtendo acúmulo de prolina a cada $1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N adicionado ao solo. Ressalta-se que, nesse período, as laranjeiras enxertadas no 'San Diego' (com excesso de N nas folhas) apresentaram aumento no acúmulo de prolina em resposta às doses de N, embora não tenham alterado os teores de N nas folhas em resposta às doses de N no solo. Sugere-se que, nessa condição, o acúmulo de prolina tenha ocorrido a partir do N redistribuído e direcionado pela planta para síntese de prolina, como forma de reserva, como proposto previamente por Nolte et al. (1997) e Legaz et al. (1995).

Na Figura 7 é demonstrada que os períodos de novembro de 2019 e fevereiro de 2021 foram os mais secos, com as mais baixas precipitações pluviométricas. Para fevereiro de 2021, determinou-se, além do teor relativo de água nas folhas, a umidade na camada 0-20 cm do solo. Verificou-se que a umidade do solo sob o pomar de 'Pera' estava em torno de 3,85% e 4,33%. Apesar disso, as laranjeiras conseguiram manter o status hídrico em torno de 74,9%, 78,6% e 84%, respectivamente, para plantas sobre 'Cravo', 'Sunki Tropical' e 'San Diego'. Teor relativo de água similar foi constatado em novembro de 2019. Em ambos os períodos observou-se grande acúmulo de prolina nas folhas, o que consequentemente contribuiu para a manutenção da hidratação dessas plantas. Ressalta-se que o padrão de resposta do acúmulo de prolina, induzida pelos porta-enxertos 'Cravo' e 'San Diego' à laranjeira 'Pera', em novembro de 2019 (Figura 6D) e em fevereiro de 2021 (Figura 6G) foi similar, embora com médias relativamente menores em novembro de 2019. Em ambos os períodos, a cada 1 kg de N adicionado ao solo, verificou-se incremento no teor de prolina. A comparação das equações das Figuras 6D e 6G possibilitou estimar que relativamente maiores acréscimos nos teores de prolina ocorreram em fevereiro de 2021 (Figura 6G) do que em novembro de 2019 (Figura 6D). O porta-enxerto 'Sunki Tropical', por sua vez, favoreceu acúmulo contínuo de prolina até um limite máximo, enquanto que em fevereiro de 2021 induziu acúmulo contínuos, com incremento de $0,7385 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ de prolina a cada $1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N acrescido ao solo. Importante destacar que, de acordo com as equações de regressão que explicam o acúmulo de prolina,

em fevereiro de 2021, período mais seco, 'Sunki Tropical' foi o porta-enxerto que induziu maiores incrementos no acúmulo de prolina. Em contraste com o acúmulo de prolina constatado em fevereiro de 2021, o teor relativo de clorofila das folhas da laranjeira 'Pera' sobre quaisquer dos três porta-enxertos não foi modificado pelas doses de N no solo.

A grande inter-relação entre os teores de N e de prolina nas folhas, principalmente das plantas sobre 'Cravo' e 'Sunki Tropical', é demonstrada pela alta correlação positiva verificada entre os teores de N e de prolina em novembro de 2019 (Figura 9B) e em fevereiro de 2021 (Figura 9D), principalmente para plantas sobre 'Cravo' e 'Sunki Tropical'. No caso das plantas sobre o porta-enxerto 'San Diego', em contraste, a correlação entre teores de N e de prolina nas folhas, obtida com os dados de fevereiro de 2021, foi muito baixa ($r = 0,34$). Essa fraca inter-relação entre teores de N e prolina foliar para plantas sobre 'San Diego' comprova resultado já discutido anteriormente sobre as diferentes respostas desses dois atributos às doses de N no solo: ausência de resposta significativa para teor de N nas folhas em função da dose de N (Figura 4D) e aumento crescente e significativo dos teores de prolina em função das doses de N (Figura 6G). Esses dados sugerem que os teores de N verificados em 2021 nas plantas enxertadas em 'San Diego', ou seja em torno de $30 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, foram excessivos para elas, similarmente ao reportado por outros autores para citros. Quaggio et al. (1998) não constataram resposta ao N aplicado nos solos dos pomares paulistas quando os teores foliares foram iguais ou superiores ao nível crítico de $28 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Dias et al. (2013) verificaram, nos solos arenosos da Amazônia, faixa de suficiência em N mais alta para a laranjeira 'Pera': $28\text{-}30 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Eles justificaram que a diferença se devia ao tipo de solo.

Em fevereiro de 2021, constatou-se teor foliar de N em torno de $30 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ nas folhas das laranjeiras 'Pera' não adubadas com ureia desde 2017, incluindo aquelas enxertadas no 'San Diego'. De acordo com Boaretto et al. (2007), o N interno vem ou das reservas das árvores ou da remobilização de compostos orgânicos. Assim, sugere-se que os teores elevados de N dessas plantas possam estar relacionados com o N proveniente de remobilização e reservas, com o propósito de suprir os requerimentos dessas plantas para assegurar o desenvolvimento e produtividade. Vale lembrar que a produtividade dessas plantas nesse período (4^o safra: de janeiro de 2021 a janeiro de 2022) foi

alta (Figura 3C e 3D). Isto decorre do fato de que os frutos são os principais drenos do N proveniente dos fertilizantes e do N redistribuído (Mattos Júnior et al., 2003), e a laranjeira 'Pera' nas condições locais produz flores e frutos cerca de três a quatro vezes ao ano. Esses fatos explicam as variações nos teores foliares de N, particularmente nas folhas das plantas que não receberam fertilizante nitrogenado. Sobre o alto teor foliar de N nas plantas não adubadas, é importante lembrar que a demanda de N nas plantas cítricas é atendida não apenas pela absorção de N a partir do solo, mas também pela remobilização de reservas endógenas presentes nas folhas mais velhas, ramos e raízes (Legaz et al., 1995; Martínez-Alcântara et al., 2012). Martínez-Alcântara et al. (2012) verificaram que baixas taxas de aplicação de N no solo nos estádios iniciais do crescimento das árvores cítrica (floração e frutificação) favorecem maior translocação do N armazenado nos ciclos anteriores, de modo a assegurar o desenvolvimento de órgãos novos. Os teores foliares de N nas plantas sobre 'San Diego' foram em torno de 22,43 g·kg⁻¹ em 2018, abaixo do nível recomendado para laranjeira 'Pera' por Sobral et al. (2007). Com base nesses resultados verifica-se que o alto teor foliar de N, verificado particularmente nas plantas sobre o porta-enxerto 'San Diego' não adubadas, esteja relacionado também ao aumento de N na translocação e remobilização.

Durante a estação seca de 2018 (novembro de 2018), constatou-se que os porta-enxertos 'Sunki Tropical' e 'San Diego' induziram resposta significativa do acúmulo de prolina nas folhas em função das doses de N no solo (Figura 6B), em contraste com 'Cravo', que não favoreceu modificação. O acúmulo induzido por 'Sunki Tropical' e 'San Diego' para as plantas não adubadas, foi similar, e superior àquele verificado em agosto do mesmo ano (período úmido; Figura 6A). Vale destacar que o volume de chuvas precipitadas em agosto (46 mm) e em novembro (49 mm) de 2018, nas semanas que antecederam a amostragem de folhas para avaliação do teor de prolina, foi muito similar (Figura 7). Entretanto, no caso da amostragem realizada no mês de novembro, a precipitação foi mais escassa e rara nos meses anteriores (Figura 1B), assim as plantas foram submetidas a maior deficiência hídrica do que no mês de agosto. Em novembro de 2018, verificou-se ainda que os teores de clorofila a, b e total das folhas da laranjeira 'Pera' não foram modificados pelas doses de N no solo, assim como o teor relativo de clorofila não ocorreu nos outros anos.

A análise da Figura 7 indicou que dentre os quatro períodos com menor precipitação avaliados (novembro de 2018, novembro de 2019, janeiro e fevereiro de 2021), janeiro de 2021 se destacou pelo registro de 30 mm de chuva nos dois dias anteriores às avaliações, programadas para ocorrerem após 45 dias sem chuvas ou muito escassas. Nessa condição, verificou-se que o status hídrico das plantas (estimado com base no teor relativo de água nas folhas) e o teor relativo de clorofila não foram modificados significativamente em função da dose de N no solo. Em média, as plantas sobre 'Cravo' tinham 80,8% de umidade nas folhas, enquanto aquelas sobre 'Sunki Tropical' e 'San Diego' tinham respectivamente 75,9% e 75,5%. Esses altos teores relativos de água indicaram que as plantas estavam bem hidratadas. Esse resultado está em consonância com resultados de Carvalho et al. (2013), que constataram reidratação na laranjeira 24 horas após irrigação, associada a decréscimo nos teores foliares de prolina.

Em janeiro de 2021, verificou-se acúmulo de prolina na laranjeira 'Pera' sobre os três porta-enxertos (Figura 6F). Para as plantas não adubadas, com base nas equações da Figura 6F estimou-se os teores de 251,32 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$, 175,43 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ e 244,48 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ de prolina, respectivamente, para as plantas sobre 'Cravo', 'Sunki Tropical' e 'San Diego'. Portanto, as plantas com relativamente menos prolina foram aquelas sobre 'Sunki Tropical'. Cabe destacar que o teor de N nas plantas sobre 'Cravo' e 'Sunki Tropical', estimado com base nas equações da Figura 6D, foi respectivamente 25,7 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ e 27,1 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Convém esclarecer que o teor de N das folhas das plantas sobre 'San Diego', que não pôde ser estimado para esse ano porque não respondeu significativamente às doses de N no solo, foi em torno de 30 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Figura 6D). De acordo com Hussain et al. (2018) e Zandolin et al. (2017), o acúmulo de prolina, em decorrência de déficit hídrico, é mais aumentado nos genótipos sensíveis do que nos tolerantes possivelmente devido ao papel protetor da prolina contra o acúmulo de radicais livres produzidos em plantas estressadas.

Quanto às plantas tratadas com diferentes doses de N no solo, os coeficientes angulares da Figura 6F permitiram estimar que 'Cravo' e 'San Diego' induziram, respectivamente, incrementos de 0,827 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ e 0,6433 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ de prolina para cada 1 kg de N acrescido ao solo (Figura 6F). Para o porta-enxerto 'Sunki Tropical', o modelo que melhor se ajustou aos

dados possibilitou estimar que o acúmulo de prolina aumentasse em função da dose de N no solo até alcançar o teor máximo de $371,20 \text{ mmol g}^{-1}$, obtido com a dose de $289,40 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de N no solo (Figura 6F). Nessa condição, o teor de N nas folhas das plantas sobre 'Sunki Tropical' foi estimado ser $32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Ressalta-se que esse último valor é considerado excessivo por Sobral et al. (2007) ao menos para a laranjeira 'Pera' sobre 'Cravo'.

Em resumo, constatou-se ocorrência de inter-relação das doses de N no solo com o teor de prolina nas plantas, relação entre teores de N e de prolina nas folhas e de teores de N e produtividade (exceto para 'San Diego'). No período mais úmido quando ocorreu precipitação na grande maioria dos dias, ou seja sem déficit hídrico significativo, a resposta do acúmulo de prolina induzida pelos três porta-enxertos às doses de N no solo foi muito similar. Constataram-se aumentos crescentes no teor de prolina em função dos acréscimos de N no solo. Observou-se nos períodos de alta e baixa precipitação alta correlação entre os teores de N e de prolina nas folhas da laranjeira 'Pera', para 'Cravo' e 'Sunki Tropical'. Além disso, tanto a ocorrência de poucos dias de déficit hídrico durante período úmido (veranicos), quanto de períodos mais prolongados (estação mais seca) modificaram a resposta da laranjeira 'Pera', principalmente daquelas plantas enxertadas na tangerineira 'Sunki Tropical', às doses de N no solo. Na maioria dos períodos avaliados, os porta-enxertos 'Cravo' e 'San Diego' responderam às doses de N com incrementos crescentes no acúmulo de prolina, enquanto 'Sunki Tropical' induziu aumento nos teores de N em resposta às doses de N no solo até um limite máximo. Desde que a produção e acúmulo de prolina requer gasto de energia, o limite máximo de aumento no acúmulo de prolina em resposta ao incremento de adubação nitrogenada pode ser uma forma de economia. De acordo com Hussain et al. (2018), para as plantas cítricas, os genótipos que mais acumulam prolina em resposta ao déficit hídrico são os mais susceptíveis à seca. As plantas sobre 'Sunki Tropical', em complemento, se destacaram pela maior eficiência no uso da água na atividade fotossintética, devido a redução da transpiração e maior fechamento estomático. Cabe ressaltar, que maior tolerância à seca não implica necessariamente em maior produtividade na média dos anos, porém isso pode ocorrer, desde que o fechamento estomático, dentre outras estratégias fisiológicas de defesa da planta, favorece menor assimilação fotossintética e potencial produtivo. Genótipos com maior plasticidade fenotípica podem exibir melhor desempenho produtivo em ambientes sujeitos

a muitas variações climáticas. Espera-se, no entanto, que em ambientes mais secos, com baixa precipitação pluviométrica no período de florescimento e desenvolvimento dos frutos, a maturação, os genótipos mais tolerantes à seca apresentem melhor desempenho agrônômico, com produtividade igual ou acima da média nacional.

Conclusões

Sob precipitação regular e frequente, os três porta-enxertos induzem aumentos crescentes no acúmulo de prolina em função das doses de N, mas sob baixas precipitação pluviométricas, alteram o padrão de acúmulo de prolina nas folhas, o que varia com o porta-enxerto.

O porta enxerto 'Sunki Tropical' favorece maior eficiência no uso da água e menor acúmulo de prolina em resposta ao incremento na adubação nitrogenada, sendo indicado como porta-enxerto com alta tolerância ao estresse hídrico.

Os porta-enxertos 'San Diego' e 'Cravo' apresentam aumento contínuo no acúmulo de prolina nos períodos mais úmidos em função de incrementos na adubação nitrogenada.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio do técnico agrícola Tiago Araújo Muniz na adubação, manejo, coleta e avaliações realizadas a campo.

Referências

- ALVA, A. K.; PARAMASIVAM, S.; OBREZA, T. A.; SCHUMANN, A. W. Nitrogen best management practice for citrus trees I. Fruit yield, quality, and leaf nutritional status. **Scientia Horticulturae**, v. 107, p. 233-244, 2006. DOI: 10.1016/j.scienta.2005.05.017.
- BASSANEZI, R. B.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, I.; GIMENES FERNANDES, N.; GOTTFWALD, T. R.; BOVÉ, J. M. Spatial and terminal analyses of citrus sudden death as a tool to generate hypotheses concerning its etiology. **Phytopathology**, n. 93, p. 502-512, 2003.
- BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A Re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 15, p. 413-428, 1962.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00018060>.
- BOARETTO, R. M.; MATTOS JÚNIOR, D.; TRIVELIN, P. C. O.; MURAOKA, T.; BOARETTO, A. E. Acúmulo de nutrientes e destino do nitrogênio (15N) aplicado em pomar jovem de laranja. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 600-605, 2007.
- BOARETTO, R. M.; MATTOS JÚNIOR, D.; QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O. Absorption of 15NH₃ volatilized from urea by Citrus trees. **Plant Soil**, v. 365, p. 283-290, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1380-7>.
- BOSCARIOL CAMARGO, R. L.; BERGER, I. J.; SOUZA, A. A.; AMARAL, A. M. do; CARLOS, E. F.; FREITAS ASTÚA, J.; TAKITA, M. A.; TARGON, M. L. P. N.; MEDINA, C. L.; REIS, M. S.; MACHADO, M. A. In silico analysis of ESTs from roots of Rangpur lime (*Citrus limonia* Osbeck) under water stress. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, p. 906-916, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-47572007000500019>.
- CAMPOS, M. K. F.; CARVALHO, K.; SOUZA, F. S.; MARUR, C. J.; PEREIRA, L. F. P.; BESPALHOK FILHO, J. C.; VIEIRA, L. G. E. Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic 'Swingle' citrumelo plants over accumulating proline. **Environmental and Experimental Botany**, v. 72, p. 242-250, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexbot.2011.03.009>.
- CANTARELLA, H.; MATTOS JÚNIOR, D.; QUAGGIO, J. A.; RIGOLIN, A. Fruit yield of Valencia sweet orange fertilized with different N sources and the loss of applied N. **Nutrient Cycling Agroecosystems**, v. 67, p. 215-223, 2003.
- CARVALHO, K.; CAMPOS, M. K. F.; DOMINGUES, D. S.; PEREIRA, L. F. P.; VIEIRA, L. G. E. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic Swingle citrumelo. **Molecular Biology Report**, v. 40, p. 3269-3279, 2013.
- CARVALHO, L. M., ARAÚJO, S. B., CARVALHO, H. W. L., GIRARDI, E. A. SOARES FILHO, W. S. Leaf proline accumulation and fruit yield of 'Pera' sweet orange trees under natural water stress. **Bragantia**, 80, exx21. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20200349>.
- CHEN, D.; KESSLER, B.; MONSELISE, S. P. Studies on Water Regime and Nitrogen Metabolism of Citrus Seedlings Grown under Water Stress **Plant Physiology**, v. 39, p. 379-386, 1964.

DIAS, J. R. M.; TUCCI, C. A. F.; WADT, P. G. S.; SILVA, A. M. da; SANTOS, J. Z. L. Níveis críticos e faixas de suficiência nutricional em laranjeira-pêra na Amazônia Central obtidas pelo método DRIS. **Acta Amazônica**, v. 43, p. 239 – 246, 2013.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, v. 6, p. 36-41, 2008.

GIMENO, V.; DIAS LOPEZ, L.; SIMON GRAO, S.; MARTÍNEZ, V.; MARTÍNEZ NICÓLAS, J. J.; GARCÍA SANCHEZ, F. Foliar potassium nitrate application improves the tolerance of *Citrus macrophylla* L. seedlings to drought conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 83, p. 308-315, 2014.

HISCOX, J. O.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, p. 1332-1334, 1979.

HUSSAIN, S.; KHALID, M. F.; SAQIB, M.; AHMAD, S.; ZAFAR, W.; RAO, M. J.; MORILLON, R.; ANJUM, M. A. Drought tolerance in citrus rootstocks is associated with better antioxidant defense mechanism. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 135. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2710-z>

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. **Produção Agrícola Municipal**. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/188#resultado>. Acesso em: 10 set. 2022.

KHAMMARI, I.; GALAVI, M.; GHANBARI, A.; SOLOUKI, M.; POORCHAMAN, M. R. A. The effect of drought stress and nitrogen levels on antioxidant enzymes, proline and yield of Indian Senna (*Cassia angustifolia* L.). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 11, p. 2125-2130, 2012. DOI: 10.5897/JMPR11.1105

Disponível em: <http://www.academicjournals.org/JMPR>. Acesso em: 10 set. 2022.

LEGAZ, F.; SERNA, M. D.; PRIMO MILO, E. Mobilization of the reserve N in citrus. **Plant and Soil**, v. 173, p. 205-210, 1995.

LEVY, Y. Field determination of free proline accumulation and water-stress in lemon trees. **Hortscience**, v. 15, n. 3, p. 302-303, jun. 1980.

Levy, Y. Acclimation of citrus to water stress. **Scientia horticultrae**, v. 20, p. 267-273, 1983.

MARTÍNEZ ALCÁNTARA, B.; QUIÑONES, A.; FORNER GINER, M. A.; IGLESIAS, D. J.; PRIMOMILLO, E.; LEGAZ, F. Impact of fertilizer-water management on nitrogen-use efficiency and potential nitrate leaching in Citrus trees. **Soil Science Plant Nutrition**, v. 58, p. 659–669, 2012.

MATTOS JÚNIOR., D.; QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H.; ALVA, A. K. Nutrient content of biomass components of Hamlin sweet orange trees. **Scientia Agricola**, v. 60, p. 155-160, 2003.

MIRANDA, M. T.; SILVA, S. F.; SILVEIRA, N. M.; PEREIRA, M. M.; PEREIRA, L.; MACGADO, E. C.; RIBEIRO, R. V. Root osmotic adjustment and stomatal control of leaf gas exchange are dependent on citrus rootstocks under water deficit. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 11-19, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10069-5>.

NOLTE, K. D.; HANSON, A. D.; GAGE, D. A. Proline accumulation and methylation to proline betaine in citrus: implications for genetic engineering of stress resistance. **Journal**

of the American Society of Horticultural Science, v. 122, p. 8-13, 1997. DOI: <https://doi.org/10.21273/JASHS.122.1>.

QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H.; RAIJ, V. B. 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.

RAIJ, V. B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. rev. atual. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. 285 p. (Boletim Técnico, 100).

RODRIGUEZ GAMIR, J.; PRIMO MILLO, E.; FORNER, J. B.; ANGELES FORNER GINER, M. Citrus rootstock responses to water stress. **Scientia Horticulturae**, v. 126, p. 95–102, 2010.

SHAFQAT, W.; MAZROU, Y. S. A.; SAMI-UR-REHMAN, N.; NEHELA, Y.; IKRAM, S.; BIBI, S.; NAQVI, S. A.; HAMEED, M.; JASKANI, M. J. Effect of three water regimes on the physiological and anatomical structure of stem and leaves of different citrus rootstocks with distinct degrees of tolerance to drought stress. **Horticulturae**, v. 7, p. 554, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120554>.

SILVA, C. C.; MOLINA, R. O.; BACK, L.; OLIVEIRA, C. M. G.; FRIAS, A. A. T.; ZANUTTO, C. A.; NUNES, W. M. C. The effect of drought conditions on sweet orange (*Citrus sinensis*) plants infected with citrus tristeza virus (CTV). **Tropical Plant Pathology**, v. 44, p. 335–342, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00291-2>

SILVA, F. C. da. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

SILVA, I. F.; MIRANDA, M. T.; COSTA, V. E.; MACHADO, E. C.; RIBEIRO, R.V. Sink strength of citrus rootstocks under water deficit. **Tree Physiology**, v. 41, n. 8, p. 1372-1383, Aug. 2021. DOI: [doi:10.1093/treephys/tpab008](https://doi.org/10.1093/treephys/tpab008).

SOBRAL, L. F.; MAGALHÃES, A. F. J.; SILVA, J. U. B.; LEAL, M. L. S. Resposta da laranja Pera à adubação com nitrogênio, fósforo e potássio em um Latossolo Amarelo dos tabuleiros costeiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 307-3012, 2000.

SOBRAL, L. F.; MACEDO, L. C. B. de; SANTOS, R. C. Fundamentos da análise de solo para fins de recomendação de fertilizantes. In: SOBRAL, L. F.; VIÉGAS, P. R. A.; SIQUEIRA, O. J. W.; ANJOS, J. L.; BARRETOS, M. C. V.; GOMES, J. B. V. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes no Estado de Sergipe**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2007. 251 p.

SOUSA, A. R. O.; SILVA, E. M. A.; COELHO FILHO, M. A.; COSTA, M. G. C.; SOARES FILHO, W. S.; MICHELI, F.; MASERTI, B.; GESTEIRA, A. S.

Metabolic responses to drought stress and rehydration in leaves and roots of three Citrus scion/ rootstock combinations. **Scientia Horticulturae**, v. 292, 2022. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110490>.

VERSLUES, P. E.; SHARMA, S. Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. **Arabidopsis Book**, v. 8, p. 140. DOI: 10.1199/tab.0140. Epub 2010 Nov 3. PMID: 22303265; PMCID: PMC3244962.

ZAHER ARA, T.; BORROOMAND, N.; SADAT HOSSEINI, M. Physiological and morphological response to drought stress in seedlings of ten citrus. **Trees**, v. 30, p. 985–993, 2016.

ZANDALINAS, S. I., BALFAGÓN, D., ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. Modulation of antioxidant defense system is associated with combined drought and heat stress tolerance in Citrus. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 953, 2017. DOI: 10.3389/fpls.2017.00953.

ZIOGAS, V.; TANOU, G.; MORIANOU, G.; KOURGIALAS, N. Drought and salinity in citriculture: optimal practices to alleviate salinity and water stress. **Agronomy**, v. 11, n. 7, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy11071283>.



Tabuleiros Costeiros



Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento