

## CRESCIMENTO E ACÚMULO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NA SEIVA MINERAL, RAÍZES E EXSUDATOS RADICULARES DE PORTAENXERTOS DE *PRUNUS* EM FUNÇÃO DA FERTILIZAÇÃO NITROGENADA

Letícia Vanni Ferreira<sup>1\*</sup>; Luis Eduardo Corrêa Antunes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pós-doutoranda Capes-Embrapa

<sup>2</sup>Pesquisador Embrapa Clima Temperado

Autor para correspondência: Letícia Vanni Ferreira. letivf@hotmail.com

**RESUMO:** O experimento foi conduzido no período de maio a junho de 2015, em casa de vegetação pertencente ao Vivai Battistini, em Cesena, Itália, onde foram utilizados dois genótipos de porta enxerto de *Prunus* 'G× N15' e 'GF 677' e duas doses de N: 0 e 8 mM. Objetivou-se caracterizar os ácidos orgânicos presentes em raiz, seiva e exsudatos radiculares de porta enxertos *Prunus* como mecanismo de resposta à fertilização nitrogenada. Os ácidos orgânicos presentes na seiva e na raiz de 'GF 677' e 'Gx N15' são oxálico, tartárico, málico, ascórbico, cítrico, succínico e fumárico, não ocorrendo diferença significativa entre os genótipos. E os presentes nos exsudatos radiculares dos portaenxertos avaliados foram oxálico, tartárico, málico e fumárico, sendo encontrados em maiores concentrações no genótipo 'GF 677'. A dose de 8 mM de N não tem efeito nos ácidos orgânicos presentes na seiva e na raiz, porém influencia positivamente na concentração de ácidos orgânicos presentes nos exsudatos radiculares dos portaenxertos 'GF 677' e 'Gx N15', isto é quanto mais N, mais ácidos orgânicos são exsudados.

**PALAVRAS-CHAVE:** exsudação, raiz, xilema.

### PLANT GROWTH AND ORGANIC ACIDS IN ROOT SAP, ROOTS AND ROOT EXUDATES OF *PRUNUS* ROOTSTOCKS IN THE FUNCTION OF NITROGEN FERTILIZATION

**ABSTRACT:** The experiment was conducted from May to June 2015, in a greenhouse belonging to Vivai Battistini, in Cesena, Italy. Two *Prunus* 'G × N15' and 'GF 677' rootstock genotypes and two N: 0 and 8 mM doses were used. The objective of this study was to characterize the organic acids present in root, sap and root exudates of *Prunus* rootstock as a mechanism of response to nitrogen fertilization. The organic acids present in the sap and root of 'GF 677' and 'Gx N15' are oxalic, tartaric, malic, ascorbic, citric, succinic and fumaric, and there is no significant difference between the genotypes. The presence of oxalic, tartaric, malic, and fumaric acids in the root exudates of the evaluated portagrafts were found in greater quantities in the 'GF 677' genotype. The dose of 8 mM N has no effect on the organic acids present in the sap and root, but it positively influences the concentration of organic acids present in the root exudates of the grafts 'GF 677' and 'Gx N15', that is, the more N, More organic acids are exuded.

**KEY WORDS:** exudation, root, sap.

### INTRODUÇÃO

Os exsudatos radiculares são substâncias produzidas pelas plantas e liberadas na rizosfera (Monteiro et al., 2012). Sua composição é dependente do estado fisiológico e da espécie da planta, bem como dos microrganismos presentes no solo (Kang et al., 2010). Compostos como carboidratos, aminoácidos, ácidos orgânicos, fenóis, ácidos graxos, vitaminas e enzimas compreendem os principais exsudatos secretados pelas raízes das plantas (Carvalho et al., 2011).

Os exsudatos podem reduzir os efeitos de toxidez de alumínio ( $Al^{3+}$ ) e de outros metais

pesados (Kidd et al., 2001), além de servirem como sinalizadores para o estabelecimento de simbioses com rizóbios e fungos micorrízicos (Badri e Vivanco, 2009). As substâncias liberadas pelas raízes podem ainda estimular relações benéficas às plantas, alterar as propriedades do solo, repelir organismos deletérios e inibir o crescimento de espécies competidoras (Mathesius e Watt, 2011).

O aumento da exsudação radicular ocorre principalmente em situações de estresse nutritivo para as plantas, alterando a química do solo em torno das raízes (Marshner, 1995). Comprovada a influência da

espécie vegetal na colonização da região rizosférica e tendo em mente que os exsudatos liberados podem exercer grande influência sobre essa característica, seria importante descobrir qual a composição dos exsudatos de *Prunus*, e se a mesma sofre influência quando recebe um elemento químico na forma de fertilizante, em pelo menos algumas substâncias. Então, em virtude da escassez de informações sobre os efeitos do nitrogênio (N), elemento de maior importância para o gênero *Prunus*, na exsudação radicular, objetivou-se no presente trabalho avaliar o efeito da fertilização nitrogenada nos ácidos orgânicos exsudados pelos porta enxertos *Prunus* 'G× N15' e 'GF 677'.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de 15 de maio a 18 de junho de 2015, conduzido em casa de vegetação pertencente ao Viveiro de mudas Battistini, no município de Cesena/FC, Itália, com mudas de dois genótipos de porta enxerto *Prunus* 'G× N15' (*Prunus amygdalus* × *Prunus persica*) e 'GF 677' (híbrido de *P. persica* × *P. amygdalus*). As mudas utilizadas eram provenientes de micropropagação e tinham dois meses quando o experimento foi instalado. As mesmas foram cultivadas em recipientes chamados "rhizoboxes" constituídos por bandas de suporte de PVC e paredes laterais de policarbonato transparentes, possibilitando a observação do crescimento das raízes e a coleta dos exsudatos radiculares. Para evitar a entrada de luz na rizosfera, e a oxidação das raízes, cobriu-se as mesmas com plástico preto.

Utilizou-se como substrato solo oriundo de pomar de pessegueiro. Em cada rhizobox introduziu-se 1,4kg de substrato. De acordo com a análise do solo o mesmo continha matéria orgânica alta (3,41%), fósforo assimilável muito alto (43ppm), potássio trocável muito alto (239 ppm), potássio não trocável 287 ppm, sódio normal (51ppm), magnésio trocável médio-alto (315ppm), cálcio trocável normal, (4218ppm) e relação C/N normal (64%).

Realizou-se uma primeira irrigação com 375mL de água destilada em cada rhizobox logo após o plantio das mudas. Nos dias consecutivos nebulizou-se as folhas uma vez ao dia.

Durante a primeira semana a posição das rhizoboxes foi mantida na vertical, para permitir o crescimento normal das mudas. Posteriormente, as

mesmas foram inclinadas para estimular o crescimento das raízes.

A temperatura média da casa de vegetação foi de 27°C, a umidade relativa em torno de 65% e o fotoperíodo de 16 horas.

A cada aplicação de N (na forma de ureia), forneceu-se 100mL de solução nitrogenada (8mM de N) por rhizobox a segunda semana do plantio das mudas. As plantas que não receberam a solução nitrogenada, receberam água destilada na mesma proporção.

## Análises realizadas:

Intensidade de verde da folha: através do aparelho SPAD Minolta, realizou-se duas medidas para cada lâmina foliar de três folhas por planta, a partir da primeira folha jovem expandida. Esta análise foi realizada a cada aplicação de N realizada.

Número médio de folhas por muda: através da contagem do número de folhas de cada muda no primeiro e último dias do experimento.

Altura média da parte aérea: obtido através da média do comprimento em cm, no primeiro e último dias do experimento.

Massa fresca da raiz e da parte aérea das mudas: no último dia do experimento as plantas foram retiradas das rhizoboxes, separadas em parte aérea e raiz e pesadas em balança analítica (Gilbertini TM 1600).

Massa seca da raiz e da parte aérea: após secagem em estufa a 65°C por 72h, pesou-se o material vegetal em balança analítica (Gilbertini TM 1600);

Composição e quantificação de ácidos orgânicos de exsudatos radiculares: As coletas de exsudatos foram realizadas duas vezes por semana, sempre um dia após o tratamento (fornecimento da solução nitrogenada), conforme metodologia de Neumann et al. (2014), totalizando cinco coletas de exsudatos radiculares. Para obter-se os exsudatos da rizosfera *in situ*, após a abertura das rhizoboxes, colocou-se sobre as raízes brancas discos de papel de filtro absorvente (Whatman nº 3) com 5mm de diâmetro, previamente lavados em solução de água milliQ + metanol na proporção de 3:1 e secados em capela e fluxo laminar.

Estes discos de papel imediatamente após serem colocados sobre as raízes foram umedecidos

com água milliQ, objetivando a indução do fluxo de exsudados radiculares em relação ao papel. As paredes das rhizoboxes eram fechadas para garantir o contato entre o papel e as raízes. Depois de uma hora, recolhiam-se os discos de papel com auxílio de pinça e transferiam-se os mesmos para eppendorfs de 2mL onde eram acrescidos 1mL de água milliQ por eppendorf.

As amostras coletadas foram congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise, quando foram filtradas em filtros de nylon ( $0,45\ \mu\text{m}$ ). Os ácidos orgânicos foram quantificados por cromatografia líquida de alto desempenho com coluna LiChrospher  $5\ \mu\text{m}$ , RP-18  $\mu\text{M}$  (Supelco, Inc., Bellefonte, PA, EUA). O tampão de eluição utilizado foi de  $18\ \text{mmol/L}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , com pH 2,1 ajustado com  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Os cromatogramas foram corridos durante 40 min e o comprimento de onda de detecção foi de  $210\ \text{nm}$ . Os ácidos orgânicos foram identificados e quantificados conforme Neumann et al. (2014).

**Análise de ácidos orgânicos presentes na seiva das mudas:**

Para a coleta da seiva do xilema, o sistema radicular de cada planta foi colocado em uma câmara de pressão Scholander. O caule foi cortado 20cm acima da inserção das principais raízes laterais, alguns centímetros de casca foram removidos no final do corte para evitar a contaminação com a seiva do floema, e uma pressão de  $0,3\ \text{MPa}$ , foi então aplicada ao sistema radicular. Aproximadamente 500-3000  $\mu\text{L}$  de seiva por planta foram coletados em eppendorfs. Após a coleta, as amostras foram congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da injeção em HPLC. Duas horas antes da análise as amostras foram retiradas do congelador e filtradas em filtro de nylon ( $0,20\ \mu\text{m}$ ) e diluídas em água milliQ já que o material coletado era inferior a 1mL por amostra, ou seja era acrescida água até a amostra atingir 1mL. A análise foi realizada de acordo com metodologia de Newman et al., (2013). Os ácidos orgânicos da seiva do xilema foram quantificados em HPLC com uma coluna de  $300 \times 7,8$  milímetros Aminex de troca iônica (HPX-87H, Bio-Rad, Hercules, CA) conforme descrito por López-Millán et al., (2000).

**Análise de ácidos orgânicos presentes na raiz das mudas:**

Ao final do experimento coletou-se raízes brancas, as quais foram lavadas em água destilada e

posteriormente congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento de serem preparadas para injeção em HPLC. Cada amostra foi pesada em balança analítica e posteriormente adicionou-se 1,5mL de solução de ácido fosfórico a 5%, misturando-se até que as mesmas se transformem em um líquido uniforme. Então as amostras foram centrifugadas por 10 minutos, a  $3^{\circ}\text{C}$  e  $10.000\text{G}$ . Posteriormente foi realizada a filtragem com filtro de nylon de ( $0,20\ \mu\text{m}$ ) e então foi realizada a injeção em HPLC.

**Separação do ácido oxálico do nitrato:**

0,1g de hidroxiapatita (hidrofosfato de cálcio), 4mL de solução ácida ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  85% a pH 2,5) e 1mL da amostra foram adicionados a tubos de falcon e misturados, a 129 rpm por 60 minutos. Então centrifugou-se por 10 minutos a 30000 rpm em temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ ). Coletou-se o sobrenadante, contendo o nitrato. Filtrou-se (filtros de nylon  $0,45\ \mu\text{m}$ ) e injetou-se em HPLC, possibilitando assim quantificar o nitrato presente nas amostras, pois o cálcio rompe a ligação com N e se liga ao oxalato. Ao material restante nos tubos falcons (hidroxiapatita) adicionou-se 5mL de solução  $0,1\ \text{mol/L}$  ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  a pH 8,5. Esta solução foi misturada por 120 minutos quando foi então centrifugada por 10 minutos a  $20^{\circ}\text{C}$  e a 30000rpm. Após isso, coletou-se o sobrenadante, filtrou-se (filtro de  $0,45\ \mu\text{m}$ ) e injetou-se as amostras em HPLC para determinar o ácido oxálico presente nas mesmas.

O delineamento adotado foi inteiramente casualizado, em um fatorial  $2 \times 2$ , ou seja, duas doses de N (0 e 8mM) e dois genótipos de porta enxerto *Prunus* ('GF 677' e 'GxN15'), sendo os tratamentos compostos pela combinação entre estes fatores. A parcela experimental foi composta por 10 plantas, totalizando 40 plantas no experimento).

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Quando o efeito de tratamento foi significativo, realizou-se o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. As análises estatísticas foram realizadas com o emprego do programa SISVAR versão 5.1 (Ferreira, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na data do plantio o genótipo 'GF 677' apresentou índice de clorofila 38,46, altura média das mudas de 17,20 cm e número médio de folhas foi 7. O genótipo 'GxN15' apresentou índice Spad 34,88,

comprimento das mudas de 16,82 cm e 8 folhas, em média. Na primeira data de avaliação (26/05/2015), já observou-se diferença entre os genótipos, sendo o 'G×N15' o que apresentou maior comprimento da parte aérea e maior número de folhas e menor

número de gemas por cm de ramo (Tabela 1). Nesta data as plantas ainda não tinham começado a receber fertilização nitrogenada. Nas demais datas avaliadas este comportamento foi o mesmo, caracterizando maior vigor do 'G×N15' em relação ao 'GF 677'.

**Tabela 1:** Altura de planta, número de folhas, número de gemas por cm e índice Spad de mudas de portaenxertos de pessegueiro 'G×N15' e 'GF 677' com e sem fertilização nitrogenada em diferentes datas (26/05, 03/06, 09/06 e 16/06/2015). UNIBO, Cesena, FC, 2017.

26/05/2015				
Genótipo	Altura de planta (cm)	Número de folhas	Nº de gemas (cm)	Índice Spad
'G×N15'	20,80 a	11,00 a	1,89 b	39,05 ns
'GF677'	17,68 b	8,00 b	2,24 a	40,33
<b>CV(%)<sup>1</sup></b>	<b>10,10</b>	<b>15,31</b>	<b>11,58</b>	<b>7,50</b>
03/06/2015				
'G×N15'	22,42 a	9,40 a	2,00 b	41,39 b
'GF677'	18,87 b	6,84 b	3,00 a	75,29 a
Tratamento				
Com N	20,63 ns	7,89 ns	2,68 ns	44,45 a
Sem N	20,75	8,40	2,52	42,13 b
<b>CV(%)<sup>1</sup></b>	<b>9,33</b>	<b>14,34</b>	<b>12,15</b>	<b>6,21</b>
09/06/2015				
'G×N15'	22,62 a	9,00 a	2,47 ns	40,20 b
'GF677'	19,16 b	7,00 b	2,68	46,52 a
Tratamento				
Com N	21,10 ns	8,00 ns	2,65 ns	47,58 a
Sem N	20,77	8,50	2,49	45,47 b
<b>CV(%)<sup>1</sup></b>	<b>13,25</b>	<b>13,54</b>	<b>14,63</b>	<b>13,25</b>
16/06/2015				
'G×N15'	23,35 a	9,60 a	2,44 ns	43,71b
'GF677'	19,42 b	7,95 b	2,46	48,44 a
Tratamento				
Com N	21,39 ns	8,84 ns	2,45 ns	47,01 a
Sem N	21,47	8,75	2,46	45,07 b
<b>CV(%)<sup>1</sup></b>	<b>9,11</b>	<b>11,77</b>	<b>10,18</b>	<b>6,41</b>

\*Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna, diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. \*ns (não significativo) a 5% de probabilidade de erro.<sup>1</sup> C.V.(%) Coeficiente de variação.

Não houve interação entre os fatores testados para nenhuma das variáveis.

Altura de planta, número de folhas e número de gemas não foram influenciadas pelo N aplicado (Tabela 1). Estes dados contrariam Souza et al. (2015) os quais observaram efeito do N em portaenxerto de goiabeira Crioula para altura de plantas e número de folhas, sendo que a adubação nitrogenada nas doses de 70, 130 e 160% de N da dose recomendada para a cultura promoveram efeito linear e decrescente. Os mesmos autores verificaram redução de 5,10% na altura de plantas com aumento de 30% das doses de N. Cantarella (2007) e Sousa et al. (2007) afirmam que o aumento da adubação com fertilizantes nitrogenados podem levar a acidificação do meio, reduzindo a disponibilidade de nutrientes às plantas.

Não foi observado efeito da fertilização nitrogenada no índice Spad das folhas. Verificou-se efeito apenas do genótipo, sendo que o portaenxerto 'GF 677' destacou-se com o maior valor em todas as datas avaliadas. Estes resultados são contrários aos obtidos por Sotomayor et al., (2014) os quais não observaram diferença significativa em relação à leitura SPAD das folhas desses dois genótipos em condições de solo calcário. A que se poderia atribuir essa diferença de comportamento?

A massa seca de mudas tem grande importância como indicativo da qualidade, pois reflete o crescimento destas em função da quantidade de nutrientes absorvidos (Franco et al., 2007). As variáveis massa seca da raiz e da parte aérea não foram afetadas pelos fatores em estudo (Tabela 2), indicando que a dose de N fornecida às plantas provavelmente tenha sido insuficiente para estimular o crescimento vegetativo.

**Tabela 2:** Massa seca de raiz de mudas de portaenxertos de pessegueiro 'GxN15' e 'GF 677' com e sem fertilização nitrogenada. 16/06/2015. UNIBO, Cesena, FC, 2017.

Genótipo	Massa seca da raiz (g)	Massa seca da parte aérea (g)
'Gx N15'	0,67 ns	1,17 ns
'GF 677'	0,78	1,13
<b>Tratamento</b>		
Com N	0,69 ns	1,16 ns
Sem N	0,76	1,14
<b>CV(%)<sup>1</sup></b>	<b>31,42</b>	<b>13,22</b>

\*ns (não significativo) teste de tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.<sup>1</sup> C.V.(%) Coeficiente de variação.

Embora não tenha sido observada diferença significativa em virtude da fertilização nitrogenada, as mudas não apresentaram sintomas de deficiência de N.

Os principais ácidos orgânicos detectados nos exsudatos radiculares dos portaenxertos 'GF 677' e 'GxN15' foram: oxálico, nitrato, tartárico, málico e fumárico (Tabela 3).

**Tabela 3:** Concentração de ácidos orgânicos ( $\mu\text{mol cm}^{-1}$ ) coletados em cinco datas distintas de exsudatos radiculares de mudas de portaenxertos de pessegueiro 'Gx N15' e 'GF 677' com e sem fertilização nitrogenada, obtidos pelo uso da cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC). UNIBO, Cesena, FC, 2017.

<b>1ª coleta (27/05/2015)</b>					
Genótipo	Oxálico	Nitrato	Tartárico	Málico	Fumárico
'Gx N15'	0,0123 b	0,0152 b	0,0017 ns	-	-
'GF 677'	0,0360 a	0,0395 a	0,0020	-	-
<b>Tratamento</b>					
Com N	0,015873 b	0,0189 b	0,0017 ns	-	-
Sem N	0,032539 a	0,0358 a	0,0021	-	-
<b>C.V. (%)<sup>1</sup></b>	<b>39,73</b>	<b>39,73</b>	<b>21,43</b>	-	-
<b>2ª coleta (29/05/2015)</b>					
Genótipo				-	-
'Gx N15'	0,1519 ns	0,3363 ns	0,000026 b	-	-
'GF 677'	0,1398	0,3760	0,000035 a	-	-
<b>Tratamento</b>					
Com N	0,2125 a	0,5239 a	0,000029 ns	-	-
Sem N	0,0792 b	0,1884 b	0,000033	-	-
<b>C.V. (%)<sup>1</sup></b>	<b>18,56</b>	<b>19,08</b>	<b>20,63</b>	-	-
<b>3ª coleta (04/06/2015)</b>					
Genótipo					
'Gx N15'	0,2127 ns	0,2246 ns	0,0037 ns	0,0205 ns	0,000020 b
'GF 677'	0,1577	0,1858	0,0043	0,0138	0,000047 a
<b>Tratamento</b>					
Com N	0,2591 a	0,2733 a	0,0033 ns	0,0220 ns	0,000020 ns
Sem N	0,1113 b	0,1372 b	0,0047	0,1227	0,000039
<b>C.V. (%)<sup>1</sup></b>	<b>41,41</b>	<b>43,85</b>	<b>30,37</b>	<b>52,06</b>	<b>40,39</b>
<b>4ª coleta (10/06/2015)</b>					
Genótipo					
'Gx N15'	0,1927 ns	0,2035 ns	0,0064 ns	0,0072 ns	0,000060 ns
'GF 677'	0,2449	0,2586	0,0066	0,0105	0,000064
<b>Tratamento</b>					
Com N	0,2293 ns	0,2200 ns	0,0059	0,1142 ns	0,000058 ns
Sem N	0,2084	0,2421	0,0070	0,0063	0,000070
<b>C.V. (%)<sup>1</sup></b>	<b>45,41</b>	<b>45,41</b>	<b>27,02</b>	<b>45,86</b>	<b>63,70</b>
<b>5ª coleta (17/06/2015)</b>					
Genótipo					
'Gx N15'	0,0902 b	0,0952 b	0,0041 ns	0,0045 ns	0,000020 b
'GF 677'	0,2517 a	0,2658 a	0,0046	0,0039	0,000047 a
<b>Tratamento</b>					
Com N	0,1736 ns	0,1833 ns	0,0041 ns	0,0045 ns	0,000028 ns
Sem N	0,1683	0,1777	0,0046	0,0039	0,000039
<b>C.V. (%)<sup>1</sup></b>	<b>38,84</b>	<b>38,84</b>	<b>23,06</b>	<b>40,91</b>	<b>40,39</b>

\*Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna, diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. \*ns (não significativo) a 5% de probabilidade de erro.<sup>1</sup>C.V.(%) Coeficiente de variação.

Observou-se que o componente presente em maior concentração em ambos os genótipos avaliados foi o nitrato, seguido do ácido oxálico. Entretanto, além da espécie existem muitos outros fatores que podem interferir na exsudação radicular. Verificou-se que nas diferentes datas avaliadas as concentrações dos compostos exsudados não foram as mesmas. Essa alteração na composição de substâncias componentes dos exsudatos vegetais também foi detectada por Grayston et al. (1997), os quais observaram mudança na composição de ácidos orgânicos encontrados nos exsudatos de árvores. Pinton et al. (2007) afirmam que a intensidade luminosa afeta diretamente a composição dos exsudatos radiculares. A qual é também dependente do estado fisiológico e dos microrganismos presentes no solo (Kang et al., 2010), bem como da cultivar e fatores ambientais (Bertin et al., 2003; Nelson, 2004; Bais et al., 2006; Broeckling et al., 2008; Li et al., 2013). Estes fatores não foram idênticos nas diferentes datas de avaliação das mudas, porém na maioria das datas quanto mais N foi fornecido maior foi a concentração de ácidos orgânicos exsudados e o genótipo 'GF 677' exsuda mais ácidos orgânicos quando comparado ao 'Gx N15'

O ácido oxálico e o nitrato foram influenciados pelo N, sendo que as plantas que receberam adição desse nutriente apresentaram os maiores valores tanto de ácido oxálico quanto de nitrato (Tabela 3). Também observou-se efeito do genótipo na primeira e última coleta de exsudatos, sendo o 'GF 677' o que apresentou as maiores concentrações de ácido oxálico e nitrato (Tabela 3). Estes dados estão de acordo com Li et al. (2013) os quais afirmam que a qualidade e a quantidade dos exsudatos radiculares é dependente, dentre outros fatores do genótipo. Porém, é importante salientar que parte do ácido oxálico encontrado nos exsudatos radiculares é na realidade nitrato, pois ambos os compostos possuem o mesmo tempo de

retenção, e a separação exata dos mesmos apenas foi feita nas raízes. Pois quando separou-se os dois compostos nas raízes, observou-se que mais de 80 % era nitrato (Tabela 3).

A fertilização nitrogenada não influenciou na exsudação dos demais ácidos orgânicos (málico, tartárico e fumárico), provavelmente pela dose aplicada ter sido insuficiente. Os ácidos tartárico e málico, no geral, também não sofreram influência do genótipo. Já, em relação ao fumárico houve menor exsudação radicular em 'Gx N15' em relação ao 'GF 677' na terceira e quinta coleta de exsudatos. As quantidades e a qualidade dos exsudatos radiculares, dentre outros fatores, é dependente do estado nutricional das plantas (Cardoso e Nogueira, 2007).

Na seiva das mudas, diferentemente do que nos exsudatos radiculares, não observou-se efeito do tratamento com N e nem do genótipo no ácido oxálico e no nitrato. Os ácidos ascórbico, succínico e fumárico também não foram afetados pelos fatores estudados.

Desta forma, conclui-se que: os ácidos orgânicos presentes na seiva e na raiz dos porta enxertos 'GF 677' e 'Gx N15' são oxálico, tartárico, málico, ascórbico, cítrico, succínico e fumárico, não ocorrendo diferença significativa entre os genótipos;

Os ácidos orgânicos presentes nos exsudatos radiculares dos porta enxertos avaliados foram oxálico, tartárico, málico e fumárico, sendo encontrados em maiores quantidades no genótipo 'GF 677';

A dose de 8 mM de N não tem efeito nos ácidos orgânicos presentes na seiva e na raiz, porém influencia positivamente na concentração de ácidos orgânicos presentes nos exsudatos radiculares dos porta enxertos 'GF 677' e 'Gx N15', isto é quanto mais N, mais ácidos orgânicos são exsudados.

**Tabela 4:** Quantidade de ácidos orgânicos na seiva e na raiz de mudas de portaenxertos de pessegueiro 'GxN15' e 'GF677' com e sem fertilização nitrogenada, obtidos pelo uso da cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC). UNIBO, Cesena, FC, 2016.

Quantidade de Ácidos Orgânicos na seiva (ug/uL)								
Genótipo	Oxálico	Nitrato	Tartárico	Málico	Ascórbico	Cítrico	Succínico	Fumárico
'Gx N15'	0,7218 ns	0,5250 ns	0,2895 a	0,3455 ns	0,058 ns	0,1084 ns	0,1604 ns	0,0041 ns
'GF 677'	0,7797	0,6148	0,1811 b	0,3661	0,0618	0,1223	0,1637	0,0051
Tratamento								
Com N	0,7912 ns	0,6231 ns	0,2182 ns	0,3573 ns	0,059 ns	0,1154 ns	0,1420 ns	0,0046 ns
Sem N	0,7092	0,5159	0,2404	0,3674	0,062	0,1160	0,1817	0,0047
<b>C.V. (%)'</b>	<b>31,50</b>	<b>32,56</b>	<b>38,32</b>	<b>35,74</b>	<b>33,67</b>	<b>26,18</b>	<b>42,08</b>	<b>34,92</b>
Quantidade de Ácidos Orgânicos na raiz (ug/g raiz)								
Genótipo	Oxálico	Nitrato	Tartárico	Málico	Ascórbico	Cítrico	Succínico	Fumárico
'Gx N15'	475945,47 ns	302266,32 ns	-	144657,29 b	7372,14 ns	30505,14 b	19896,99 ns	2772,43 ns
'GF 677'	480150,09	340847,17	-	198727,11 a	5735,42	160961,71a	23807,48 ns	3122,60
Tratamento								
Com N	526434,56 ns	316367,13 ns	-	172942,88 ns	7570,85 ns	97185,92 ns	19344,15 ns	3109,66 ns
Sem N	429661,00	326746,37	-	170442,18	5536,70	94280,93	24360,32	2785,37
<b>C.V. (%)'</b>	<b>19,24</b>	<b>10,47</b>	-	<b>17,93</b>	<b>42,70</b>	<b>9,52</b>	<b>25,25</b>	<b>19,91</b>

<sup>1</sup>C.V.(%) Coeficiente de variação. \*Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si, pelo teste de tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. \*ns (não significativo)

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pelo apoio financeiro e à Università di Bologna (UNIBO) e Vivai Battistini pela estrutura para realização do experimento e análises.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Badri, D.V.; Vivanco, J.M. Regulation and function of root exudates. *Plant Cell and Environment*, **2009**, 32, 666-681.

Bais, H.P., Weir, T.L.; Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Rev. Plant Biology*, **2006**, 57, 233 – 266.

Bertin, C.; Yang, X.; e Weston, L. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant and Soil*, **2003**, 256, 67 – 83.

Broeckling, C.D; Broz, A.K; Bergelson, J.; Manter, D.K.; Vivanco, J.M. Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity. *Applied and Environmental Microbiolog.*, **2008**, 74, 738-744.

Cantarella, H.; Trivelin, P.C.O.; Vitti, A. Nitrogênio e enxofre na cultura da cana-de-açúcar. In: Yamada, T.; Stipp-Abdalla, S.R.; Vitti, G.C. (Orgs.). Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira. Piracicaba: IPNI Brasil. **2007**, v.1, p.355-412.

Cardoso, E.J.B.N.; Nogueira, M.A. A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. In: Silveira, A.P.D. e Freitas, S.S., eds. Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas, Instituto Agronômico. **2007**, p.79-96.

Carvalho, Lilia. C.; Dennis, Paul. G.; Fedoseyenko, Dmitri.; Hajirezaei, Mohammed. R.; BORRIS, Rainer.; VON WIRÉN, Nicolaus. Root exudation of sugars, amino acids, and organic acids by maize as affected by nitrogen, phosphorus, potassium, and iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition Soil Science*, **2011**, 174, 3–11. Disponível em: [http:// onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jpln.201000085/epdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jpln.201000085/epdf) Acesso em 13 janeiro 2017.

Ferreira, D.F. Lavras, MG. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, **2011**, 35, 6, 1039-1042.

Franco, C.F.; Prado, R. de M.; Brachirolli, L.F.; Rozane, D.E. Curva de crescimento e marcha de absorção de macronutrientes em mudas de goiabeira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, **2007**, 31, 6, 1429-1437.

- Grayston, S.J.; Vaughan, D.; Jones, D. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Applied Soil Ecology*, **1997**, 5, 1, 29-56. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(96\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(96)00126-6).
- Kang, Bin Goo.; Kim, Woo Taek.; Yun, Hye Sup.; Chang, SooChul. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. *Plant Biotechnology Reports*, **2010**, 4, 179-183. Disponível em <http://link.springer.com/article/10.1007/s11816-010-0136-1/fulltext.html> Acesso em 13 de janeiro de 2017.
- Kidd, P. S., Llugany, M., Poschenrieder, C., Gunsé, B., Barceló, J.: The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*, **2001**, 52, 1339–1352.
- Li, X.G.; Zhang, T.L.; Wang, X.X.; Hua, K.Z.; Han, Z.M. The composition of root exudates from two different resistant peanut cultivars and their effects on the growth of soilborne pathogen. *International Journal of Biological Sciences*, **2013**, 9, 164-173.
- López-millán, A.F.; Morales, F.; Abadía, A.; Abadía, J. Effects of Iron Deficiency on the Composition of the Leaf Apoplastic Fluid and Xylem Sap in Sugar Beet. Implications for Iron and Carbon Transport. *Plant Physiology*, **2000**, 124, 2, 873–884.
- Marshner, H. The Soil Interface (Rhizosphere) in Relation to Mineral Nutrition. Mineral Nutrition of Higher Plants. **1995**. Lodon, Norfolk : Academic Press.
- Mathesius, U.; Watt, M. 2011. Rhizosphere signals for plant-microbe interactions: implications for field-grown plants. In: *Progress in Botany 72* (eds U. Lüttge, W. Beyschlag, B. Büdel & D. Francis). **1995**, p. 125–161. Springer, Berlin.
- Monteiro, F.P.; Pacheco, L.P.; Lorenzetti, E.R.; Armesto, C.; Souza, P.E.; Abreu, M.S. Exsudatos radiculares de plantas de cobertura no desenvolvimento de *Sclerotinia sclerotiorum*. *Bioscience Journal*, **2012**, 28, 1, 87-93. Disponível em <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/viewFile/12245/8236> Acesso em 13 de janeiro de 2017.
- Nelson, E.B. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. *Annual Review of Phytopathology*, **2004**, 42, 271-309.
- Neumann, G.; Bott, S.; Ohler, M.A.; Mock, H.P.; Lippmann, R.; Grosch, R.; Smalla, K. Root exudation and root development of lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Tizian) as affected by different soils. *Front Microbiology*, **2014**, 5, 2. doi: 10.3389/fmicb.2014.00002.
- Pinton, R.; Varanini, Z.; Nannipieri, P. The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil–plant interface. *Annals of botany*, **2007**, 104, 4. doi: 10.1093/aob/mcp166.
- Sotomayor, C.; Ruiz, R.; Castro, J. Crescimento, produção e deficiência de ferro nível de tolerância de seis porta-enxertos de pessegueiro cultivado em solo calcário. *Ciência e Investigación Agraria*, **2014**, 41, 3.
- Sousa, D. M. G.; Miranda, L. N.; Oliveira, S. A. Acidez do solo e sua correção. In: Novaes, R. F.; Alvarez V, V. H.; Barros, N. F.; Fontes, R. L. F.; Cantarutti, R. B.; Neves, J. C. L. Fertilidade do solo. 1 ed., Viçosa: SBCS, **2007**, p. 1017.