



Revista Brasileira de Ciência do Solo

ISSN: 0100-0683

revista@sbcs.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo  
Brasil

FERNANDES, L. A.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CURI, N.  
FRAÇÕES DE FÓSFORO E ATIVIDADE DA FOSFATASE ÁCIDA EM PLANTAS DE FEIJOEIRO  
CULTIVADAS EM SOLOS DE VÁRZEA  
Revista Brasileira de Ciência do Solo, vol. 24, núm. 3, 2000, pp. 561-571  
Sociedade Brasileira de Ciência do Solo  
Viçosa, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180218342010>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica  
Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

# FRAÇÕES DE FÓSFORO E ATIVIDADE DA FOSFATASE ÁCIDA EM PLANTAS DE FEIJOEIRO CULTIVADAS EM SOLOS DE VÁRZEA<sup>(1)</sup>

L. A. FERNANDES<sup>(2)</sup>, V. FAQUIN<sup>(3)</sup>,  
A. E. FURTINI NETO<sup>(3)</sup> & N. CURI<sup>(3)</sup>

## RESUMO

Foi realizado um experimento em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras, com o objetivo de verificar a influência dos atributos de quatro solos de várzea sobre a distribuição de algumas frações de fósforo nas folhas de feijoeiro, determinar suas respectivas concentrações críticas e a relação dessas frações com a atividade da fosfatase ácida foliar e a relação entre a atividade da fosfatase ácida determinada “*in vitro*” e “*in vivo*”. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 5 x 2, com quatro repetições, sendo quatro solos [Glei Húmico (GH), Orgânico (O), Aluvial (A) e Glei Pouco Húmico (GP)], cinco doses de P (75, 150, 300, 500 e 800 mg dm<sup>-3</sup> de P) e dois níveis de calagem (sem e com). Cada parcela foi constituída por um vaso com três dm<sup>3</sup>, onde foram cultivadas três plantas de feijoeiro. Uma das plantas foi colhida no florescimento, determinando-se, nas folhas, as concentrações de P total (Pt), P total solúvel em ácido (Pts), P orgânico (Po) e P inorgânico solúvel em ácido (Pi). Nas demais plantas, colhidas no final do ciclo, foi avaliada a produção de grãos. Os níveis críticos das frações de P no feijoeiro cultivado nos solos GH, O, A e GP, sem calagem, foram, respectivamente: Pt = 2,3, 2,2, 2,0, e 1,3 mg g<sup>-1</sup>; Pts = 110, 67, 78 e 63; Po = 32, 19, 20 e 21 e Pi = 77, 47, 58 e 43 µg g<sup>-1</sup>. Com calagem, os níveis críticos respectivos foram: Pt = 2,8, 3,0, 3,5 e 4,2 mg g<sup>-1</sup>; Pts = 105, 96, 130 e 154; Po = 47, 38, 42 e 52 e Pi = 59, 58, 88 e 103 µg g<sup>-1</sup>. A atividade da fosfatase ácida não foi uma boa característica de diagnose nutricional de fósforo em condições de severa deficiência desse elemento.

**Termos de indexação:** nível crítico, nutrição de plantas, atividade enzimática.

<sup>(1)</sup> Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor. Recebido para publicação em fevereiro de 2000 e aprovado em junho de 2000. Trabalho Financiado pelo CNPq e FAPEMIG.

<sup>(2)</sup> Professor do Núcleo de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Geras - UFMG. Caixa Postal 135, CEP 39404-006 Montes Claros (MG). E-mail: lafernand@ig.com.br

<sup>(3)</sup> Professor do Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras - UFLA. Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras (MG). Bolsista do CNPq. E-mails: vafaquin@ufla.br; afurtini@ufla.br; niltcuri@ufla.br

# SUMMARY: PHOSPHORUS FRACTIONS AND ACID PHOSPHATASE ACTIVITY IN BEAN PLANTS CULTIVATED IN LOWLAND SOILS

An experiment was carried out under greenhouse conditions at the Soil Science Department of the Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brazil, to determine critical levels of different phosphorus fractions and acid phosphatase activity in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Carioca-MG); the relationship between these fractions and the acid phosphatase activity and grain production, and the relationship between acid phosphatase activity determined "in vivo" and "in vitro". The plants were cultivated on four lowland soils of southern Minas Gerais, Brazil and subjected to five phosphorus doses, with and without lime application. The experimental design was completely randomized, in a factorial scheme  $4 \times 5 \times 2$  with four replications, as follows: four soils [Humic Gley (GH), Bog Soil (O), Alluvial (A) and Low Humic Gley (GP)]; five P doses (75, 150, 300, 500 and 800 mg dm<sup>-3</sup>); and two levels of liming application (with and without lime). Each plot consisted of a three dm<sup>-3</sup> pot where three bean plants were grown. One of the plants was harvested at flowering with its leaf concentrations of total P (Pt), total P soluble in acid (Pts) and organic (Po) and inorganic (Pi) P soluble in acid being evaluated. The other two plants were harvested at the end of the cycle, with their grain production evaluated. The critical levels of P fractions in the bean plants cultivated, in the GH, O, A and GP soils without liming, were, respectively: Pt = 2.3, 2.2, 2.0 and 1.3 mg g<sup>-1</sup>; Pts = 110, 67, 78 and 63; Po = 32, 19, 20 and 21 and Pi = 77, 47, 58 and 43 µg g<sup>-1</sup>. With liming, the critical P fraction levels were: Pt = 2.8, 3.0, 3.5, and 4.2 mg g<sup>-1</sup>; Pts = 105, 96, 130 and 154; Po = 47, 38, 42 and 52 and Pi = 59, 58, 88 and 103 µg g<sup>-1</sup>. Acid phosphatase activity was not a good characteristic of plant nutrition status under conditions of severe deficiency of P.

*Index terms:* critical levels, plant nutrition, enzyme activity.

## INTRODUÇÃO

As plantas absorvem o P na forma de ortofosfatos que se encontram na solução do solo, sendo a taxa de absorção relacionada com a concentração do P em solução. Como a concentração de P em solução depende da capacidade de reabastecimento do solo (fator capacidade), o teor de P na plantas também depende do fator capacidade de P do solo. O fator capacidade de P, ou poder tampão, pode ser entendido como a resistência do solo às mudanças da concentração do P em solução (fator intensidade - *I*) quando se adiciona ou se retira P do solo (fator quantidade - *Q*) (Novais & Smyth, 1999). Segundo esses autores, o fator capacidade de P ( $Q/I$ ) é definido pelo equilíbrio entre as variações de *Q* e de *I*.

A dependência da concentração de P nas plantas do fator capacidade do solo é relatada em vários trabalhos com diferentes culturas e classes de solos (Muniz et al., 1985; Fabres et al., 1987; Fernandes et al., 1998), sendo as menores concentrações verificadas em solos de maior fator capacidade de P. Por outro lado, em solos de menor fator capacidade, o acúmulo de P pelas plantas poderá ser importante para a manutenção de seu crescimento, quando, por alguma razão, a disponibilidade de P do solo for baixa.

As alterações na absorção de P, em consequência dos atributos dos solos, que variam quanto à facilidade de ceder este elemento para as plantas, provocam mudanças nas formas de sua reserva na planta (Bielecki, 1973). Segundo esse autor, em condições de maior disponibilidade de P, ocorre seu acúmulo na forma inorgânica nos vacúolos, servindo como reserva. O nível de P inorgânico é mais sensível à disponibilidade do elemento no meio do que os níveis de várias frações orgânicas de P na planta.

Embora os mecanismos envolvidos não sejam ainda totalmente explicados, a dinâmica das frações fosfatadas na planta está relacionada com a atividade de fosfatases, enzimas responsáveis pela desfosforilação de moléculas orgânicas. À medida que diminui o suprimento de P para as plantas, ocorre um aumento da atividade dessas enzimas (Bielecki & Ferguson, 1983). Vários trabalhos têm relatado a relação entre deficiência de P e atividade de fosfatases (Silva & Basso, 1993; Ascencio, 1994; Fernandez & Ascencio, 1994; Fernandes et al., 1998).

Segundo Besford (1979), a determinação da atividade de fosfatases para algumas espécies vegetais pode ser utilizada como uma ferramenta de diagnose nutricional, prevendo deficiência de P nas plantas antes do aparecimento dos sintomas visuais de deficiência. No entanto, para ser utilizada como

ferramenta de diagnose da nutrição fosfatada, é necessário o estabelecimento de padrões para as diversas espécies de plantas e a parte da planta a ser amostrada (Ascencio, 1994).

Assim, os objetivos deste trabalho foram verificar a influência dos atributos de quatro solos de várzea sobre a distribuição de algumas frações de fósforo nas folhas de feijoeiro e determinar suas respectivas concentrações críticas, a relação dessas frações com a atividade da fosfatase ácida foliar, na ausência e na presença de calagem, e a relação entre a atividade da fosfatase ácida determinada “*in vitro*” e “*in vivo*”.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras, em vasos plásticos com capacidade para 4 dm<sup>3</sup>, que continham 3 dm<sup>3</sup> de solo. Cultivou-se o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Carioca-MG), no período de agosto a novembro de 1997, em amostras de quatro solos de várzea não cultivados anteriormente: Glei Húmico (GH), Orgânico (O), Aluvial (A) e Glei Pouco Húmico

(GP), tendo sido o solo Orgânico artificialmente drenado.

As amostras dos solos, coletadas na camada superficial (0-20 cm) de uma mesma várzea no município de Lavras (MG), foram destorroadas, secas ao ar e passadas em peneira de 5 mm de abertura. Foram tomadas subamostras e passadas em peneira de 2 mm de abertura, constituindo a terra fina seca ao ar para caracterização química, física e mineralógica (Quadro 1).

O experimento foi arranjado em esquema fatorial 4 x 5 x 2, com quatro repetições, sendo os fatores: quatro solos (GH, O, A, GP), cinco doses de P (75, 150, 300, 500, 800 mg dm<sup>-3</sup>) e dois níveis de calagem (com e sem calcário), em delineamento inteiramente casualizado, com rodízio semanal da posição dos vasos na casa de vegetação.

As doses de fósforo e calcário foram definidas em experimentos anteriores (Andrade, 1997). As doses de calcário para elevar a saturação por bases para 50% aproximadamente corresponderam a 6,4; 4,6; 4,6 e 13,4 t ha<sup>-1</sup>, para os solos GH, O, A e GP, respectivamente. Utilizou-se um calcário dolomítico calcinado com 35% de CaO, 14% de MgO e Poder Relativo de Neutralização Total de 100%.

**Quadro 1. Principais atributos químicos, físicos e mineralógicos dos solos antes da aplicação dos tratamentos**

Solo	pH <sup>(1)</sup>	P <sup>(1)</sup>	K	Ca	Mg	Al	H + Al	T	m	V	PR <sup>(2)</sup>	CMAP <sup>(2)</sup>
		— mg dm <sup>-3</sup> —				— cmolc dm <sup>-3</sup> —			— % —		— mg L <sup>-1</sup> —	
GH	4,7	6,0	51	0,7	0,2	1,6	13,7	15	61	7	1,77	2.404
O	4,6	8,0	76	1,6	1,2	0,9	9,8	13	23	23	16,40	1.051
A	4,7	3,0	103	2,7	1,1	0,2	4,5	8,6	5	47	27,33	689
GP	4,5	3,0	36	0,6	0,2	1,1	6,3	7,2	55	12	28,00	648
		Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila	Matéria orgânica	Ds <sup>(1)</sup>	Dp <sup>(1)</sup>	Sup. específica			
		— g kg <sup>-1</sup> —				g dm <sup>-3</sup>	— g cm <sup>-3</sup> —		m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>			
GH		9	230	391	370	245	0,40	1,81	335			
O		0	120	570	310	45	0,64	2,15	181			
A		0	179	471	350	41	0,76	2,78	137			
GP		30	611	179	180	35	1,05	2,66	121			
		SiO <sub>2</sub> <sup>(3)</sup>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>(3)</sup>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>(3)</sup>	TiO <sub>2</sub> <sup>(3)</sup>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> <sup>(3)</sup>	Fe <sub>d</sub> <sup>(4)</sup>	Fe <sub>o</sub> <sup>(4)</sup>	Ct <sup>(4)</sup>	Gb <sup>(4)</sup>	Ki <sup>(5)</sup>	
		— g kg <sup>-1</sup> —										
GH		126,1	175,5	13,3	5,5	1,52	0,9	0,21	18	20	1,22	
O		243,4	247,1	42,8	7,3	0,48	1,6	0,16	36	18	1,67	
A		209,3	221,1	74,5	9,3	0,51	4,3	0,17	50	17	1,61	
GP		84,2	112,2	13,0	6,2	0,10	0,3	0,11	12	3,4	1,28	

<sup>(1)</sup> pH = pH em água; P = fósforo pelo Mehlich-1; T = cap. troca de cátions a pH 7,0; m = saturação por Al e V = saturação por bases; areia grossa; areia fina; silte; argila; mat. Orgânica; Ds = densidade do solo; Dp = densidade de partículas (EMBRAPA, 1997). <sup>(2)</sup> PR = P remanescente e CMAP = cap. máxima de adsorção de P (Alvarez V. & Fonseca, 1990). <sup>(3)</sup> Óxidos do ataque sulfúrico (EMBRAPA, 1997). <sup>(4)</sup> Fe<sub>d</sub> = ferro ditionito; Fe<sub>o</sub> = ferro oxalato; Ct = caulinita; Gb = gibbsita (Mehra & Jackson, 1960) determinados na fração argila e corrigidos para terra fina. <sup>(5)</sup> Ki – relação molecular SiO<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Os solos foram incubados nos vasos, com e sem calcário, por um período de 30 dias, mantendo-se a umidade próxima à capacidade de campo. Após esse período, o material de solo de cada vaso foi seco, peneirado e recebeu a aplicação das doses de P e de uma adubação básica, com macro e micronutrientes, na forma de reagentes p.a., conforme Andrade (1997): 70 mg de N ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  e  $\text{KNO}_3$ ); 100 mg de K ( $\text{KNO}_3$ ); 40 mg de S ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ); 1,5 mg de Cu ( $\text{CuCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), 5,0 mg de Zn ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) e 1,5 mg de B ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )  $\text{dm}^{-3}$  de solo. As fontes utilizadas para o fornecimento de P foram:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  e ácido fosfórico. O material de solo foi novamente incubado por 150 dias, mantendo-se a umidade nos níveis anteriores.

Cultivaram-se três plantas de feijoeiro por vaso, colhendo-se a parte aérea de uma das plantas no florescimento (estádio R6) e das outras duas na maturação fisiológica dos grãos (estádio R9). Durante o cultivo do feijoeiro, a umidade dos solos foi mantida próxima à capacidade de campo, por meio de pesagens diárias dos vasos e adição de água deionizada.

Foram realizadas adubações de cobertura com nitrogênio e potássio, diferenciadas de acordo com o crescimento das plantas. Os tratamentos que proporcionaram, em cada solo, um crescimento normal das plantas receberam 150 mg  $\text{dm}^{-3}$  de N e 100 de K, parcelados em cinco aplicações. Os tratamentos cujas plantas apresentaram menor crescimento receberam coberturas proporcionalmente menores, 90 mg  $\text{dm}^{-3}$  de N e 60 de K, evitando-se, assim, aplicações excessivas dos nutrientes.

Da planta colhida no florescimento (32 dias após a emergência), coletaram-se amostras dos folíolos do último trifólio fisiologicamente maduro para o estudo do fracionamento do fósforo e da atividade da fosfatase ácida *in vivo* e *in vitro* no tecido foliar. No restante das folhas, determinaram-se os teores de fósforo por meio da digestão nítrico-perclórica - P total (Pt) (Malavolta et al., 1997). Das plantas colhidas no final do ciclo, foi obtido o peso de matéria seca de grãos.

O fracionamento do fósforo foi realizado conforme método de Smille & Krotkov (1960) e Hogue et al. (1970), modificado por Martinez (1992), obtendo-se as seguintes frações de P: P total solúvel em ácido (Pts), P inorgânico solúvel em ácido (Pi) e, por diferença, P orgânico (Po). Para determinar a atividade da fosfatase ácida *in vitro*, coletou-se 1,0 g de material vegetal (folíolos), que, depois de recortado em pedaços pequenos ( $\pm 4 \text{ mm}^2$ ), foi macerado em presença de 0,2 g de polivinil pirrolidona insolúvel e 0,1 g de ácido ascórbico. Foram adicionados ao material 10 mL de tampão-citrato 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  a pH 4,5, sendo a mistura recolhida em tubos de ensaio e centrifugada a 10.000 rpm, por 15 min, a 4°C. O sobrenadante foi ressuspenso

em 10 mL de tampão-citrato 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  a pH 4,5 e centrifugado novamente, e o sobrenadante recolhido no mesmo frasco.

A atividade da fosfatase ácida foi determinada a pH 5,0 (pH ótimo da enzima, determinado em ensaios preliminares), utilizando como substrato o par-nitrofenilfosfato a 16 mmol  $\text{L}^{-1}$ . Em cada determinação, a mistura de reação foi incubada a 30°C por quatro diferentes períodos de tempo (15, 30, 45 e 60 min). Controles sem enzima (branco de substrato) e sem substrato (branco de enzima) foram incubados do mesmo modo que os tubos experimentais (Santos, 1985). Para a determinação da atividade da fosfatase ácida *in vivo*, foram retirados discos de 0,5 cm dos folíolos do último trifólio fisiologicamente maduro, evitando-se as nervuras. O material foi imediatamente transferido para tubos de ensaio depositados em recipiente com gelo e mantidos no escuro. O método utilizado para a determinação da atividade enzimática foi o descrito por Silva & Basso (1993) para cana-de-açúcar, onde as amostras de material vegetal são incubadas a 30°C, por 20 min, com 8 mL de par-nitrofenilfosfato 250  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , em tampão-acetado de sódio 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ , com pH ajustado para 5,0. Tanto para a atividade da fosfatase ácida determinada *in vitro* quanto *in vivo*, as leituras foram realizadas por colorimetria em comprimento de onda de 410 nm.

As variáveis estudadas foram submetidas às análises de variância e de regressão, cujas equações foram ajustadas às médias de produção de matéria seca de grãos conforme as doses de fósforo aplicadas. A partir das equações obtidas, estimaram-se as doses de fósforo para a produção máxima de grãos e 90% da máxima para cada solo. Para os tratamentos em que foram obtidas equações de regressão linear, adotou-se a maior dose de P aplicada como aquela necessária para a obtenção da produção máxima e, a partir dessa dose, estimou-se a dose para a obtenção de 90% da produção máxima.

Foram também ajustadas equações de regressão para o P total e demais frações de P (Pts, Pi e Po) determinadas na planta, na época do florescimento, como variáveis dependentes das doses de fósforo aplicadas. Pela substituição das doses críticas de fósforo nessas equações, obtiveram-se as concentrações críticas de diferentes frações de fósforo na parte aérea das plantas de feijoeiro, para cada solo e nível de calagem. Análises de correlações simples foram realizadas entre todas as variáveis estudadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Concentração e níveis críticos foliares de fósforo total

As concentrações de P total (Pt) nas folhas das plantas de feijoeiro na época do florescimento



aumentaram linearmente com as doses de P aplicadas, em todos os tratamentos (Quadro 2). Pelas equações ajustadas, verificou-se que a baixa produção de matéria seca de grãos (MSGR) nos solos GH e GP na ausência de calagem deveu-se às baixas concentrações de Pt nas plantas cultivadas nesses solos. No entanto, quando se aplicou calcário, as plantas cultivadas no solo GP foram as que apresentaram as maiores concentrações de Pt, o que pode ser atribuído à menor capacidade de adsorção do P aplicado, expressa pelo menor valor de capacidade máxima de adsorção de P e maior valor de P remanescente desse solo (Quadro 1). Interessante notar, também, que as plantas cultivadas no solo GP foram as que apresentaram a maior resposta em produção de grãos à aplicação de calcário, independentemente das doses de P aplicadas (Quadro 3). Por outro lado, no GH, que mostrou o maior valor de capacidade máxima de adsorção de P e menor valor de P remanescente, as plantas apresentaram as menores concentrações de Pt (Quadro 2).

A capacidade máxima de adsorção e P remanescente são características que refletem o poder tampão ou fator capacidade de P do solo (Muniz et al., 1985). A variação no fator capacidade entre solos normalmente está associada à adsorção de P e a algumas características ligadas ao fenômeno de adsorção, conteúdo e natureza da fração argila e conteúdo de matéria orgânica (Bahia Filho et al., 1983; Muniz et al., 1985). Segundo esses autores, as correlações significativas entre capacidade máxima de adsorção, energia de adsorção e P remanescente são esperadas, tendo em vista a participação dessas características na obtenção do fator capacidade. Vários autores observaram relação inversa entre P absorvido pela planta e fator capacidade de P do solo (Holford & Mattingly, 1976; Bahia Filho et al., 1983; Muniz et al., 1985; Fabres et al., 1987; Fernandes et al., 1998).

Verificou-se, ainda, que os acréscimos estimados nos teores de P para cada unidade de P aplicada, mostrados pelos coeficientes angulares das equações (Quadro 2), foram maiores quando os solos receberam aplicação de calcário. Provavelmente, a calagem, além de reduzir a fixação do fósforo aplicado nos solos, reduziu ou eliminou os efeitos do Al sobre a absorção de P pelas plantas de feijoeiro.

Substituindo nas equações do quadro 2, para cada solo, na ausência e presença de calagem, as doses correspondentes a 90% da máxima produção de MSGR (Quadro 3), estimaram-se os níveis críticos de Pt nas folhas das plantas de feijoeiro, na época do florescimento.

Na ausência de calagem, o solo GP apresentou o menor, e o GH, o maior valor de nível crítico (Quadro 2). O maior valor de nível crítico observado no GH deveu-se à elevada dose de P estimada para 90% da produção máxima, duas vezes aquela para

**Quadro 2. Equações de regressão ajustadas entre fósforo total nas folhas de feijoeiro, em  $\text{mg g}^{-1}$ , como variável dependente (Y) das doses de fósforo aplicadas (X), em  $\text{mg dm}^{-3}$ , e níveis críticos foliares de fósforo total para as plantas de feijoeiro**

Solo	Equação	R <sup>2</sup>	Nível crítico ( $\text{mg g}^{-1}$ )
<b>Sem calagem</b>			
GH	$Y = 0,4551 + 0,0025^{**}X$	0,95	2,3
O	$Y = 1,2990 + 0,0027^{**}X$	0,87	2,2
A	$Y = 1,2703 + 0,0022^{**}X$	0,83	2,0
GP	$Y = 0,7365 + 0,0014^{**}X$	0,94	1,3
<b>Com calagem</b>			
GH	$Y = 0,4018 + 0,0052^{**}X$	0,98	2,8
O	$Y = 1,8516 + 0,0035^{**}X$	0,85	3,0
A	$Y = 1,6470 + 0,0052^{**}X$	0,94	3,5
GP	$Y = 2,4711 + 0,0048^{**}X$	0,94	4,2

\*\* significativo a 1% pelo teste de t.

os demais solos, decorrente do ajuste linear para a produção de MSGR como variável dependente das doses de P aplicadas (Quadro 3). Na presença de calagem, quando o único fator limitante à produção de MSGR foi o P, os solos supostamente de menor fator capacidade, A e GP, apresentaram os maiores valores de níveis críticos (Quadro 2).

Muniz et al. (1985) verificaram grande amplitude de variação entre os níveis críticos de Pt na parte aérea de plantas de soja, tendo sido os menores valores observados para os solos de maior fator capacidade. Segundo Novais & Smyth (1999), a maior ou menor competição entre planta e solo pelo P aplicado faz com que a planta se ajuste para utilizar o teor de P que lhe é colocado à disposição. Dessa forma, quando o P é o único fator limitante à produção, além das variações decorrentes entre espécies ou cultivares, idade do tecido vegetal, forma do nutriente, interação entre nutrientes e condições ambientais, atributos do solo que refletem o fator capacidade de P também devem ser considerados na interpretação dos níveis críticos de P em plantas (Muniz et al., 1985).

Correlacionando os níveis críticos de Pt para os quatro solos, com e sem calagem, com alguns atributos dos solos que refletem seu fator capacidade de P (Quadro 4), verificaram-se correlações significativas com o teor de argila e de gibbsita, na ausência de calagem, e com o teor de gibbsita, capacidade máxima de adsorção e P remanescente, na presença de calagem. As correlações com os demais atributos dos solos (Quadro 1) não são apresentadas pelo fato de não se ter verificado tendência de comportamento entre tais atributos e os níveis críticos de P.

**Quadro 3. Equações de regressão ajustadas entre a produção de grãos como variável dependente (Y) das doses de fósforo aplicadas (X), produção de grãos correspondentes a 90% da produção máxima e as doses de P correspondente a 90% da máxima**

Solo	Equação	R <sup>2</sup>	90% produção máxima de grãos	Dose de P para 90% da produção máxima
			g vaso <sup>-1</sup>	mg dm <sup>-3</sup>
<b>Sem calagem</b>				
GH	Y = -0,8805 + 0,0061**X	0,96	3,62	735
O	Y = -3,01 + 1,5102**X <sup>0,5</sup> - 0,0294**X	0,98	14,77	333
A	Y = -5,63 + 1,6838**X <sup>0,5</sup> - 0,0343**X	0,99	13,55	322
GP	Y = -4,99 + 0,7547**X <sup>0,5</sup> - 0,0145**X	0,99	4,37	412
<b>Com calagem</b>				
GH	Y = -21,12 + 2,9811**X <sup>0,5</sup> - 0,0541**X	0,99	17,89	460
O	Y = 1,730 + 1,6894**X <sup>0,5</sup> - 0,0328**X	0,98	21,14	299
A	Y = -12,85 + 3,0192**X <sup>0,5</sup> - 0,0604**X	0,99	22,38	345
GP	Y = -9,03 + 2,7582**X <sup>0,5</sup> - 0,0529**X	0,99	24,23	359

\*\* significativo a 1% pelo teste de t.

**Quadro 4. Coeficientes de correlação linear simples entre as concentrações críticas de fósforo total (Pt), total solúvel em ácido (Pts), orgânico (Po) e inorgânico (Pi) e atributos do solo que refletem o fator capacidade**

Atributo do solo	Pt	Pts	Po	Pi
<b>Sem calagem</b>				
Teor de argila	0,82*	0,36 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,46 <sup>ns</sup>
Teor de gibbsita	0,98**	0,45 <sup>ns</sup>	0,21 <sup>ns</sup>	0,54 <sup>ns</sup>
CMAp	0,64 <sup>ns</sup>	0,92*	0,94*	0,87*
P-Re	-0,71 <sup>ns</sup>	-0,83*	-0,84*	-0,78*
Matéria orgânica	0,55 <sup>ns</sup>	0,95*	0,98**	0,90*
<b>Com calagem</b>				
Teor de argila	-0,68 <sup>ns</sup>	-0,62 <sup>ns</sup>	-0,80*	-0,53 <sup>ns</sup>
Teor de gibbsita	-0,93**	-0,93**	-0,83*	-0,87*
CMAp	-0,75*	-0,59 <sup>ns</sup>	0,07 <sup>ns</sup>	-0,73*
P-Re	0,84*	0,74*	0,09 <sup>ns</sup>	0,84*
Matéria orgânica	-0,65 <sup>ns</sup>	-0,47 <sup>ns</sup>	0,20 <sup>ns</sup>	-0,59 <sup>ns</sup>

CMAp = capacidade máxima de adsorção de P; P-Re = P remanescente. \*\*, \* e <sup>ns</sup>: significativos a 1%, 5% e não-significativo, respectivamente.

Embora o teor de argila seja considerado o atributo do solo de maior importância na determinação do fator capacidade (Miranda & Volkweiss, 1981), a ausência de correlação com os níveis críticos de Pt, na presença de calagem (Quadro 4), pode estar relacionada com a natureza da fração argila dos solos estudados. No presente estudo, verificou-se correlação negativa significativa para os teores de gibbsita com os níveis críticos de Pt, possivelmente pela sua alta capacidade em adsorver fósforo.

As concentrações críticas de Pt nas folhas do feijoeiro, estimadas na época do florescimento, correlacionaram-se positiva e significativamente com a produção de MSGR, na ausência e presença de calagem (Quadro 5), indicando constituírem uma boa característica para prever a produção de grãos e a capacidade dos solos em fornecer P para as plantas.

#### Concentrações e níveis críticos foliares de P total solúvel em ácido, P orgânico e P inorgânico solúvel em ácido

As concentrações de P total solúvel em ácido (Pts), P inorgânico (Pi) e P orgânico (Po) nos tecidos foliares, na época do florescimento do feijoeiro, considerando as doses de P aplicadas (Quadro 6), apresentaram comportamento semelhante ao verificado para a concentração de Pt nas folhas do feijoeiro.

Comparando as equações ajustadas para Pi e Po e as doses de P aplicadas (Quadro 6), observou-se que os coeficientes angulares, que representam o acréscimo dessas formas de P para cada unidade de P aplicada, foram sempre maiores para o Pi, indicando que a concentração de Pi é mais sensível às variações de P nos solos. Este comportamento também foi verificado por Fabres et al. (1987), em plantas de alface, e por Furtini Neto et al. (1998), em plantas de eucalipto. Chisholm et al. (1981), trabalhando com *Trifolium repens* e *Stylosanthes hamata*, sugeriram que, em vez do Pt, formas de P metabolicamente ativas, como P-lipídios, deveriam ser utilizadas na determinação de níveis críticos em plantas, uma vez que essas frações são as que menos variam com a idade da planta e com a disponibilidade do elemento no solo. No entanto, segundo Lee & Ratcliffe (1983), exatamente por este último aspecto,

**Quadro 5. Coeficientes de correlação linear simples entre a produção de matéria seca de grãos (MSGR), fósforo total (Pt), total solúvel em ácido (Pts), orgânico (Po) e inorgânico (Pi) e atividade da fosfatase ácida *in vivo* (Pase-vv) e *in vitro* (Pase-vt), para os solos estudados na ausência e presença de calagem**

	MSGR	Pt	Pts	Pi	Po	Pase-vv	Pase-vt
<b>Sem calagem</b>							
MSGR	1,00**	-	-	-	-	-	-
Pt	0,99**	1,00**	-	-	-	-	-
Pts	0,99**	0,99**	1,00**	-	-	-	-
Pi	0,97**	0,98**	0,99**	1,00**	-	-	-
Po	0,99**	0,99**	0,99**	0,99**	1,00**	-	-
Pase-vv	0,95**	0,92**	0,88*	0,85*	0,90*	1,00**	-
Pase-vt	0,97**	0,94**	0,92**	0,89*	0,93*	0,99**	1,00**
<b>Com calagem</b>							
MSGR	1,00**	-	-	-	-	-	-
Pt	0,95**	1,00**	-	-	-	-	-
Pts	0,97**	0,99**	1,00**	-	-	-	-
Pi	0,98**	0,99**	0,99**	1,00**	-	-	-
Po	0,97**	0,99**	0,99**	0,99**	1,00**	-	-
Pase-vv	-0,42 <sup>ns</sup>	-0,64 <sup>ns</sup>	-0,65 <sup>ns</sup>	0,62 <sup>ns</sup>	-0,67 <sup>ns</sup>	1,00**	-
Pase-vt	-0,54 <sup>ns</sup>	-0,68 <sup>ns</sup>	-0,71 <sup>o</sup>	-0,69 <sup>o</sup>	-0,72 <sup>o</sup>	0,98**	1,00**

\*\* , \* , <sup>o</sup> e <sup>ns</sup> significativos a 1, 5, 10% e não-significativo, respectivamente.

**Quadro 6. Equações de regressão lineares ajustadas entre fósforo total solúvel em ácido (Pts), orgânico (Po) e inorgânico (Pi) solúvel em ácido nas folhas de feijoeiro, em  $\mu\text{g g}^{-1}$ , como variável dependente (Y) das doses de fósforo aplicadas (X), em  $\text{mg dm}^{-3}$ , e níveis críticos das frações de fósforo**

Solo	Fração de P	Equação	R <sup>2</sup>	Nível crítico
<b>Sem calagem</b>				
$\mu\text{g g}^{-1}$				
GH	Pts	$\hat{Y} = 13,355 + 0,0135^{**}x$	0,93	110,0
	Po	$\hat{Y} = 5,1898 + 0,0373^{**}x$	0,98	32,6
	Pi	$\hat{Y} = 8,3645 + 0,0942^{**}x$	0,90	77,4
O	Pts	$\hat{Y} = 21,482 + 0,1377^{**}x$	0,91	67,3
	Po	$\hat{Y} = 5,9212 + 0,0405^{**}x$	0,91	19,4
	Pi	$\hat{Y} = 15,561 + 0,0972^{**}x$	0,89	47,9
A	Pts	$\hat{Y} = 25,322 + 0,1638^{**}x$	0,93	78,1
	Po	$\hat{Y} = 7,5079 + 0,0386^{**}x$	0,95	19,9
	Pi	$\hat{Y} = 17,815 + 0,1252^{**}x$	0,92	58,2
GP	Pts	$\hat{Y} = 14,424 + 0,1197^{**}x$	0,94	63,7
	Po	$\hat{Y} = 3,8218 + 0,0408^{**}x$	0,96	20,6
	Pi	$\hat{Y} = 10,603 + 0,0789^{**}x$	0,91	43,1
<b>Com calagem</b>				
GH	Pts	$\hat{Y} = 24,289 + 0,1768^{**}x$	0,93	105,6
	Po	$\hat{Y} = 19,059 + 0,0609^{**}x$	0,86	47,1
	Pi	$\hat{Y} = 5,2308 + 0,1159^{**}x$	0,95	58,5
O	Pts	$\hat{Y} = 31,151 + 0,2175^{**}x$	0,91	96,2
	Po	$\hat{Y} = 18,947 + 0,0644^{**}x$	0,91	38,2
	Pi	$\hat{Y} = 12,20 + 0,1531^{**}x$	0,89	58,0
A	Pts	$\hat{Y} = 51,641 + 0,2284^{**}x$	0,89	130,4
	Po	$\hat{Y} = 25,862 + 0,0479^{**}x$	0,91	42,4
	Pi	$\hat{Y} = 25,779 + 0,1805^{**}x$	0,87	88,1
GP	Pts	$\hat{Y} = 63,443 + 0,2536^{**}x$	0,91	154,5
	Po	$\hat{Y} = 10,739 + 0,0591^{**}x$	0,86	52,0
	Pi	$\hat{Y} = 32,704 + 0,1945^{**}x$	0,91	102,5

\*\* significativo a 1% pelo teste t.

talvez as frações orgânicas não estimem bem os níveis críticos em plantas, já que essas frações variam muito pouco com o "status" do nutriente na planta.

No presente estudo, verificou-se maior contribuição do Pi em relação ao Po, para o Pts (Figuras 1 e 2). Segundo Bielecki & Ferguson (1983), em termos quantitativos, em plantas bem supridas em P, o Pi é a fração que mais contribui, geralmente com mais de 50%. No entanto, na presença de calagem, maiores concentrações de Po em relação ao Pi foram verificadas para os solos GH, O e A na dose mais baixa de P (Figura 2), provavelmente por causa da intensa deficiência de fósforo observada para as plantas cultivadas nesses tratamentos. Tal comportamento também foi observado por Hogue et al. (1970) em plantas de tomate deficientes em P.

Pela substituição da dose de P estimada para 90% da máxima produção de MSGR nas equações do quadro 6, estimaram-se os níveis críticos de Pts, Pi e Po. Na ausência de calagem, o solo GH apresentou os maiores níveis críticos de Pts, Pi e Po (Quadro 6). Esse comportamento deveu-se à dose elevada de P estimada para 90% da produção máxima, como verificado para o nível crítico de Pt, devido ao ajuste linear entre a MSGR e as doses de P. Na presença de calagem, verificaram-se maiores valores de níveis críticos de Pts, Pi e Po nos solos A e GP (Quadro 6), demonstrando menor fator capacidade de P. Fernandes et al. (1998) também verificaram maiores valores dessas frações de fósforo em plantas de feijoeiro cultivadas em solos de menor fator



capacidade, quando corrigidos com calcário. Fabres et al. (1987) encontraram comportamento semelhante em plantas de alface cultivadas em amostras de dez Latossolos de diferentes fator capacidade.

Os maiores valores de níveis críticos de Pi nos solos A e GP estão relacionados com a menor capacidade de adsorção de P e, provavelmente, com as maiores concentrações de P lábil desses solos. Segundo Bielecki & Ferguson (1983), em condições de maior disponibilidade de P, a planta acumula esse nutriente, na forma inorgânica, nos vacúolos. O Pi vacuolar tem a função de reserva e, se a quantidade de P absorvida for menor que a sua demanda pela célula, ele retorna ao citoplasma, atendendo à exigência metabólica da célula. Estudos com diversas espécies têm mostrado que a concentração de Pi no citoplasma é regulada pelo seu conteúdo no vacúolo, ocorrendo mudanças acentuadas no conteúdo de Pi das células, quase que exclusivamente no reservatório vacuolar, não havendo alterações significativas no reservatório citoplasmático (Po) (Bielecki, 1973; Lee & Ratcliffe, 1983).

Neste estudo, na ausência de calagem, os níveis críticos de P<sub>ts</sub>, P<sub>o</sub> e Pi apresentaram correlações significativas e positivas com a capacidade máxima de adsorção de P (Quadro 4), comportamento contrário ao esperado, possivelmente pelo efeito negativo do alumínio na absorção de P pelas plantas. Na presença de calagem, o Pi correlacionou-se negativa e significativamente com a capacidade máxima de adsorção (Quadro 4), evidenciando, como discutido anteriormente, ser essa fração mais sensível à capacidade de adsorção de P pelos solos. Ainda na presença de calagem, as frações P<sub>ts</sub> e Pi correlacionaram-se positiva e significativamente com o P remanescente, indicando poder esta característica ser utilizada no estabelecimento de unidades de solos para a interpretação de níveis críticos em plantas de feijoeiro.

As concentrações críticas das frações de P (P<sub>ts</sub>, P<sub>o</sub> e Pi) correlacionaram-se positiva e significativamente com a produção de MSGR, na ausência e presença de calagem (Quadro 5), evidenciando que essas frações podem ser utilizadas como indicativos da nutrição fosfatada, desde que, como comentado para o P<sub>t</sub>, os atributos do solo, relacionados com o fator capacidade de P, sejam considerados.

#### Atividade da fosfatase ácida

Para a atividade da fosfatase ácida, determinada *in vivo* e *in vitro*, a interação solo x calagem x fósforo foi significativa ( $P < 0,01$ ). Embora os valores tenham diferido em magnitude, as atividades da fosfatase ácida determinadas *in vivo* e *in vitro* apresentaram comportamentos semelhantes nas plantas de feijoeiro cultivadas nos solos estudados, na ausência e na presença de calagem (Quadro 5), considerando as doses de P aplicadas (Figura 2). Uma vez que a determinação da atividade da fosfatase

ácida *in vivo* é mais simples e rápida do que a *in vitro*, a utilização daquela como característica de diagnóstico da nutrição das plantas de feijoeiro em P pode ser usada, a princípio, satisfatoriamente, necessitando de mais estudos.

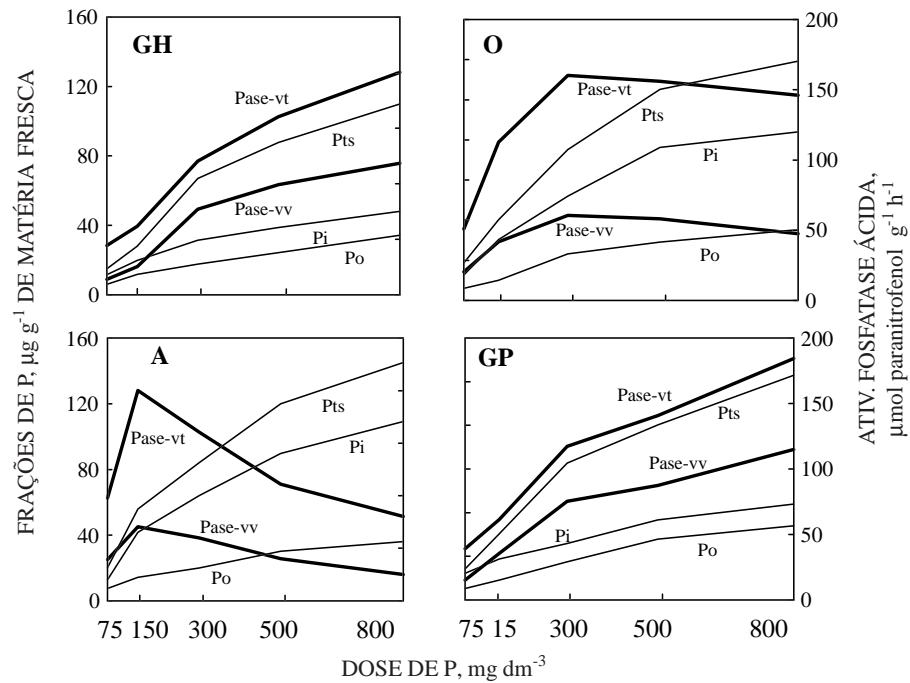
Esperava-se maior atividade da enzima nas doses mais baixas de P. No entanto, para os solos GH e GP, sem calagem, verificou-se um aumento da atividade da fosfatase ácida com o aumento das doses de P. Para os demais solos, na presença e ausência de calagem, a atividade aumentou da primeira para a segunda dose de P aplicada, exceto para o solo O, com calagem, em que a atividade aumentou até a terceira dose de P, para depois decrescer. Exceto para o solo GH, em que os teores das frações fosfatadas não foram suficientemente altos para inibir a atividade da fosfatase ácida (Figuras 1 e 2), com o aumento das frações de P, houve um decréscimo da atividade. Segundo Reid & Bielecki (1970), o aumento da atividade da fosfatase ácida parece ocorrer em virtude de um incremento na síntese “de novo” da enzima, cuja formação é inibida pelo íon fosfato por um mecanismo de retroinibição.

A menor atividade verificada nas doses mais baixas de P aplicadas é devida, provavelmente, às alterações no metabolismo normal das plantas, decorrentes da nutrição fosfatada. Na época da determinação da atividade da fosfatase ácida, as plantas cultivadas nas doses mais baixas, 75 e 150 mg dm<sup>-3</sup> de P, apresentavam sintomas visuais de deficiência de P.

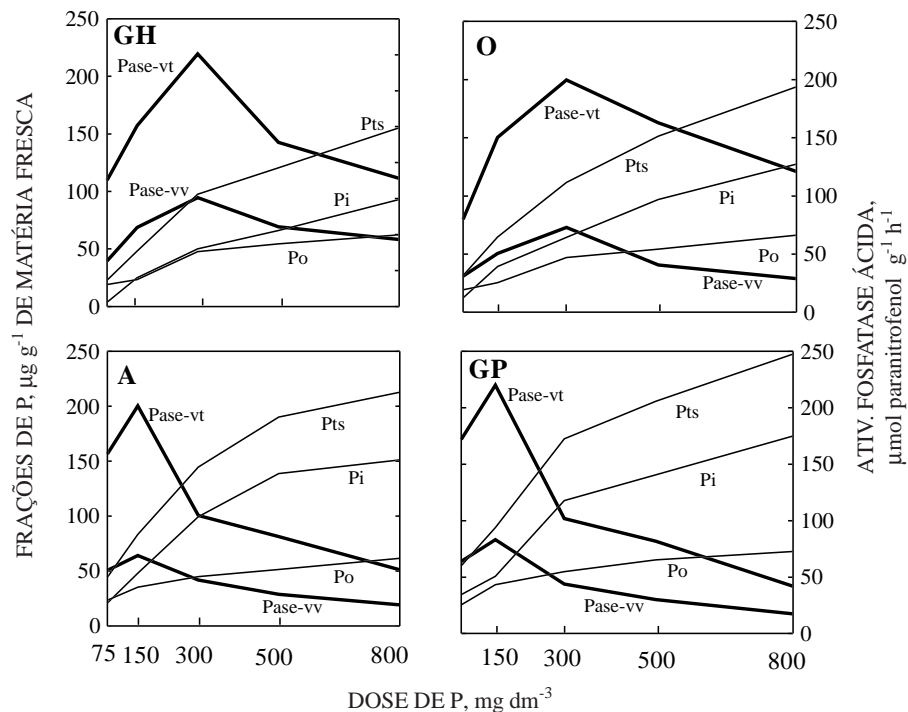
Ascencio (1994) verificou maior atividade da fosfatase ácida *in vivo* em plantas de feijoeiro aos 21 dias de idade, quando foram cultivadas na ausência de P, porém, aos 28 dias, a atividade foi menor do que no tratamento com P. Comportamento semelhante foi relatado por Fernandez & Ascencio (1994) em raízes de feijoeiro. Esses autores atribuíram a menor atividade da fosfatase ácida no tratamento sem P, em relação ao tratamento com P, à menor concentração de proteínas ou ao tempo de resposta ao estresse de P no interior dos tecidos das plantas. Segundo Ascencio (1994), a idade, o estágio de crescimento, o número de dias sob estresse e o tempo após o início do estresse metabólico de P devem ser considerados para que a atividade da fosfatase seja utilizada como uma ferramenta de diagnose da nutrição fosfatada.

Fernandes et al. (1998) não encontraram diferenças estatísticas entre a atividade da fosfatase ácida em folhas de feijoeiro cultivado com e sem P e atribuíram esse comportamento a alterações metabólicas decorrentes da deficiência de P nas plantas cultivadas sem aplicação desse nutriente.

É interessante destacar que na dose intermediária de P aplicada, 300 mg dm<sup>-3</sup>, as plantas ainda responderam à adubação fosfatada quanto à produção de MSGR, embora não apresentassem sintomas visuais de deficiência de P. Nesta dose, a



**Figura 1.** Fósforo total solúvel em ácido (Pts), P orgânico (Po), P inorgânico (Pi) e atividade de fosfatase ácida *in vivo* (Pase-vv) e *in vitro* (Pase-vt) nas folhas de feijoeiro cultivado nos solos Glei Húmico (GH), Orgânico, Aluvial (A) e Glei Pouco Húmico (GP), na ausência de calagem.



**Figura 2.** Fósforo total solúvel em ácido (Pts), P orgânico (Po), P inorgânico (Pi) e atividade de fosfatase ácida *in vivo* (Pase-vv) e *in vitro* (Pase-vt) nas folhas de feijoeiro cultivado nos solos Glei Húmico (GH), Orgânico, Aluvial (A) e Glei Pouco Húmico (GP), na presença de calagem.

atividade da fosfatase ácida foi elevada em relação à verificada nas doses de 500 e 800 mg dm<sup>-3</sup>. Neste caso, em que o P não está numa concentração tão baixa que prejudique os processos metabólicos normais da planta, a determinação da atividade da fosfatase ácida pode ser utilizada como uma ferramenta de diagnose da nutrição fosfatada. Nas doses mais baixas, a fosfatase, para ser utilizada como uma ferramenta de diagnose do estado nutricional das plantas, deve ser determinada, enquanto as plantas ainda não apresentarem sintomas visuais de deficiência de P.

A atividade da fosfatase ácida *in vivo* e *in vitro*, na ausência de calagem, apresentou correlação positiva e significativa com a produção de MSGR e com as frações de P (Quadro 5), indicando que, nessa condição, o aumento da concentração de fósforo na planta aumenta a atividade da fosfatase ácida. Na presença de calagem, somente a atividade da fosfatase ácida *in vitro* apresentou correlação significativa, a 10%, e negativa com o Po e Pi. A baixa ou a ausência de correlação significativa entre a atividade da fosfatase ácida e a produção de MSGR e as frações de P, condição em que o P era o único fator limitante, podem ser explicadas pelo aumento da atividade da enzima com o aumento das doses de P, até à segunda ou terceira dose (Figura 2), para depois decrescer, nas doses mais elevadas.

## CONCLUSÕES

1. Na presença de calagem, as concentrações das frações de fósforo nos tecidos vegetais das plantas de feijoeiro foram influenciadas pelos atributos do solo, que refletem o poder tampão de fósforo.

2. Os níveis críticos das frações de P estudadas foram diferentes de acordo com o fator capacidade do solo. Dessa forma, em condições de deficiência de P, solos com maior capacidade máxima de adsorção de P, o P orgânico expressou melhor a concentração crítica do elemento nas folhas, enquanto, em condições de menor deficiência de P, solos com menor capacidade máxima de adsorção de P, o P inorgânico foi a fração de melhor representatividade.

3. A atividade da fosfatase ácida determinada *in vivo* apresentou comportamento semelhante à *in vitro*. Na presença de calagem, não se observou correlação significativa para a atividade dessa enzima com a produção de matéria seca de grãos e frações de fósforo nas folhas de feijoeiro.

## LITERATURA CITADA

- ALVAREZ V., V.H. & FONSECA, D.B. Definição de doses de fósforo para determinação da capacidade máxima de adsorção de fosfatos e para ensaios em casa de vegetação. R. Bras. Ci. Solo, 14:49-55, 1990.
- ANDRADE, C.A. B. Limitações de fertilidade e efeito do calcário para o feijoeiro em solos de várzea do sul de Minas Gerais. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 1997. 107p. (Tese de Doutorado)
- ASCENCIO, J. Acid phosphatase as a diagnostic tool. Comm. Soil Sci. Plant Nut., 25:1553-1564, 1994.
- BAHIA FILHO, A.F.C.; BRAGA, J.M.; RESENDE, M. & RIBEIRO, A.C. Relações entre adsorção e componentes mineralógicos da fração argila de Latossolos do Planalto Central. R. Bras. Ci. Solo, 7:221-226, 1983.
- BESFORD, R.T. Phosphorus nutrition and acid phosphatase activity in the leaves of seven plant species. J. Sci. Food Agric., 30:281-285, 1979.
- BIELESKI, R.L. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. Ann. Res. Plant Phys., 24:225-252, 1973.
- BIELESKI, R.L. & FERGUNSON, J.B. Physiology and metabolism of phosphate and its compounds. In: PIRSON, A. & ZIMMERMANN, M.H., eds. Encyclopedia of plant physiology: inorganic plant nutrition. Berlin, Springer Verlag, 1983. p.422-4490. (New series, v.15A)
- CHISHOLM, R.H.; BLAIR, G.J.; BOWDEN, J.W. & BOFINGER, V.J. Improved of "critical" phosphorus concentration from considerations of plant phosphorus chemistry. Comm. Soil Sci. Plant Anal., 12:1059-1065, 1981.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Serviço nacional de Levantamento e conservação de solo. Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, 1997. 212p.
- FABRES, A.S.; NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L.; BARROS, N.F. & CORDEIRO, A.T. Níveis críticos de diferentes frações de fósforo em plantas de alface cultivadas em diferentes solos. R. Bras. Ci. Solo, 11:51-57, 1987.
- FERNANDES, L.A.; FURTINI NETO, A.E.; CURI, N.; GUEDES, G.A.A. & LIMA, J.M. Fósforo e atividade da fosfatase ácida em plantas de feijoeiro. Pesq. Agropec. Bras., 33:769-778, 1998.
- FERNANDEZ, D.S. & ASCENCIO, J. Acid phosphatase activity in bean and cowpea plants grown under phosphorus stress. J. Plant Nutr., 17:229-241, 1994.
- FURTINI NETO, A.E.; BARROS, N.F.; NOVAIS, R.F. & OLIVEIRA, M.F.G. Frações de fósforo em mudas de *Eucalyptus*. R. Bras. Ci. Solo, 22:267-274, 1998.
- HOGUE, E.; WILCOX, G.E. & CANTLIFFE, D.J. Effect of soil phosphorus levels on phosphate fractions in tomato leaves. J. Am. Soc. Hort. Sci., 95:174-176, 1970.
- HOLFORD, I.C.R. & MATTINGLY, G.E.G. Effects of phosphate buffering on the labile phosphate by soil test. Aust. J. Soil Res., 17:377-389, 1979.
- LEE, R.B. & RATCLIFFE, R.G. Phosphorus nutrition and the intracellular distribution of inorganic phosphate in pea root tips: a quantitative study using <sup>31</sup>P-RMN. J. Exp. Bot., 34:1222-1244, 1983.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas - princípios e aplicações. Piracicaba, Potafos, 1997. 289p.

- MARTINEZ, H.E.P. Cinética da absorção e das frações fosfatadas em sete variedades de soja [*Glycine max* L. (Merril)]. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1992. não paginado. (Relatório Final de Pós-Doutoramento)
- MEHRA, O. P. & JACKSON, N. L. Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. *Clays Clays Miner.*, 3:317-327, 1960.
- MIRANDA, L.N. & VOLKWEISS, S.J. Relações entre a resposta da soja a adubação fosfatada e alguns parâmetros do solo. *R. Bras. Ci. Solo*, 5:58-63, 1981.
- MUNIZ, A.S.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F. & NEVES, J.C.L. Nível crítico de fósforo na parte aérea da soja como variável do fator capacidade do fósforo. *R. Bras. Ci. Solo*, 9:237-244, 1985.
- NOVAIS, R.F. & SMYTH, T.J. Fósforo em solo e planta em condições tropicais. Viçosa, Universidade federal de Viçosa, 1999. 399p.
- REID, M.S.M. & BIELESKI, R.L. Changes in phosphatase activity in phosphorus deficient *Spirodela*. *Planta*, 94:273-284, 1970.
- SANTOS, C.D. Fisiologia e bioquímica da digestão em *Erinniy ello* (Lepidoptera: Sphingidae). São Paulo, Universidade de São Paulo, 1985. 178p. (Tese de Doutorado)
- SILVA, F.C. & BASSO, L.C. Avaliação da atividade *in vivo* da fosfatase ácida da folha na diagnose da nutrição fosfórica em cana-de-açúcar. *R. Bras. Ci. Solo*, 17:371-375, 1993.
- SMILLE, R.M. & KROTKOV, G. The estimation of nucleic acids in some algae and higher plants. *Can. J. Bot.*, 38:31-49, 1960.

