

ABSORÇÃO DE FÓSFORO EM RAÍZES DESTACADAS DE  
MILHO (*Zea mays* L.): DIFERENÇAS ENTRE  
HÍBRIDOS E LINHAGENS

FERNANDO F. FERREYRA HERNÁNDEZ

Orientador: KLAUS REICHARDT

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Solos e Nutrição de Plantas.

PIRACICABA  
Estado de São Paulo - Brasil  
abril, 1978

*À memória de meus pais*

D E D I C O

*À minha esposa Ema*

*Aos meus filhos Ernesto e*

*Erika*

O F E R E Ç O

## AGRADECIMENTOS

- Ao Dr. *Klaus Reichardt*, pela orientação e amizade durante o desenvolvimento do presente trabalho.
- Ao Dr. *Peter B. Vose* e ao Dr. *Renato Sarruge* pelas sugestões apresentadas.
- Ao Dr. *Epaminondas S. de Barros Ferraz*, pelo estímulo sempre constante.
- Aos colegas *Paulo Leonel Libardi*; *Virgilio Franco do Nascimento F<sup>o</sup>* e *Luis Carlos Uchôa Saunders* pela inestimável colaboração durante a elaboração e revisão do presente trabalho.
- Aos colegas e amigos *Cadima*, *Lourival*, *Nelson* e *Sidneide*, pela amizade, incentivo e colaboração.
- Ao *Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA)* e à *Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN)* do Brasil pelas facilidades oferecidas.
- À *Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA)*, Viena, pela Bolsa de Estudos concedida.
- À *Universidad Nacional Agraria - La Molina*, Peru, pela oportunidade concedida.

.iii.

- À *Fundação Cargill*, pela concessão das sementes utilizadas neste estudo.

- À *Fundação Ford*, pela Bolsa de Viagem concedida.

- A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização do presente trabalho.

*Í N D I C E*

	<i>Página</i>
1. RESUMO .....	01
2. INTRODUÇÃO .....	03
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	06
3.1. Cinética de absorção de íons .....	06
3.2. Efeito do alumínio na absorção de fósforo .....	12
3.3. Métodos de detecção de <sup>32</sup> P .....	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	20
4.1. Generalidades .....	20
4.1.1. Cultivares estudados .....	21
4.1.2. Obtenção das raízes destacadas .....	22
4.1.3. Procedimento empregado na absorção .....	22
4.1.4. Estimativa do fósforo absorvido .....	25
4.2. Cinética de absorção .....	26
4.2.1. Interpretação das absorções em função da concentra ção .....	26
4.2.2. Resolução das fases .....	27
4.2.3. Comparação entre fases .....	28
4.3. Relação dos experimentos realizados .....	29
4.3.1. Experimento 1: Geiger Muller vs efeito Cerenkov ....	29
4.3.2. Experimento 2: Efeito da idade, solução de crescimen to e solução de absorção .....	30
4.3.3. Experimento 3: Efeito da concentração de fósforo ...	32
4.3.4. Experimento 4, 5 e 6: Efeito do tempo .....	32
4.3.5. Experimento 7 e 8: Efeito do alumínio .....	33

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	34
5.1. Padronização das condições experimentais .....	34
5.1.1. Métodos de detecção de $^{32}\text{P}$ .....	34
5.1.2. Efeito da idade das raízes, da solução de crescimento e da solução de absorção .....	39
5.2. Cinética de absorção .....	45
5.2.1. Absorção de fósforo em função da concentração .....	45
5.2.2. Absorção multifásica de fósforo .....	47
5.2.3. Constantes cinéticas .....	60
5.2.4. Efeito do tempo .....	65
5.3. Efeito do alumínio .....	70
6. CONCLUSÕES .....	75
7. SUMMARY .....	77
8. LITERATURA CITADA .....	79
APÊNDICE .....	91

## LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>	<u>Página</u>
01 - Esquema do sistema usado para o desenvolvimento de plântulas . . . . .	23
02 - Correlação das contagens do $^{32}\text{P}$ obtidos em Geiger Muller e pelo efeito Cerenkov das mesmas amostras . . . . .	35
03 - Efeito Cerenkov versus Geiger Muller a) Estimativa desigual do fósforo absorvido b) Absorção em função da concentração de fosfato. (Métodos: dms(0,05) = 0,32 $\mu\text{M/g}$ ; concentração dms(0,05) = 0,56 $\mu\text{M/g}$ . . . . .	36
04 - Absorção de fósforo por raízes destacadas de diferentes idades, obtidas de duas soluções de crescimento e em duas soluções de absorção. (idade: dms(0,05) = 1,67 $\mu\text{M/g}$ ; sol. cresc.: dms(0,05) = 1,13 $\mu\text{M/g}$ ; Sol. absorção: dms(0,05) = 1,13 $\mu\text{M/g}$ ). . . . .	40
05 - Absorção de fósforo em raízes destacadas de milho. Números 1, 2 e 3 representam as fases envolvidas no processo.	48
06 - Velocidade de absorção de fósforo (v) como uma função da concentração de $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ (S) na transformação de Hofstee. Híbrido duplo tropicalizado C-504 (os números 1, 2 e 3 representam as fases do processo). . . . .	49
07 - Velocidade de absorção de fósforo (v) como uma função da concentração de $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ (S), na transformação de Hofstee. Híbrido duplo tropical C111-X (os números 1, 2 e 3 representam as fases do processo). . . . .	50

FiguraPágina

- 08 - Velocidade de absorção de fósforo (v) como uma função da concentração de  $H_2PO_4^-$  (S), na transformação de Hofstee. Linhagem L-25 (os números 1, 2 e 3 representam as fases) 51
- 09 - Velocidade de absorção de fósforo (v) como uma função da concentração de  $H_2PO_4^-$  (S), na transformação de Hofstee. Linhagem PR-34 (os números 1, 2 e 3 representam as fases do processo). . . . . 52
- 10 - Velocidade de absorção de fósforo (v) como uma função da concentração de  $H_2PO_4^-$  (S), na transformação de Lineweaver e Burk; a) híbrido duplo tropicalizado C-504; b) híbrido duplo tropical C111-X. Os números 1, 2 e 3 representam as fases do processo e as setas as transições . . 55
- 11 - Velocidade de absorção de fósforo (v) como uma função da concentração de  $H_2PO_4^-$  (S), na transformação de Lineweaver e Burk: a) Linhagem L-25; b) Linhagem C111-X. Os números 1, 2 e 3 representam as fases do processo e as setas das transições. . . . . 56
- 12 - Fósforo absorvido em função do tempo, para os quatro cultivares, na concentração:  $1 \times 10^{-6}$  M de  $KH_2PO_4$ . . . . . 66
- 13 - Fósforo absorvido em função do tempo, para os quatro cultivares na concentração de  $5 \times 10^{-4}$  M de  $KH_2PO_4$ . . . . . 67
- 14 - Absorção de fósforo em função do tempo, para os quatro cultivares, na concentração  $1 \times 10^{-4}$  M  $KH_2PO_4$  (os valores indicados pelas setas representam dms a 5%). . . . . 69



<u>Figura</u>	<u>Página</u>
15 - Absorção de fósforo em função da concentração do alumínio na solução de absorção sem regulagem do pH. As setas indicam valores de dms (5%). . . . .	71
16 - Absorção de fósforo em função da concentração de alumínio na solução de absorção a pH = 4,5 (regulado com HCl ou KOH) . . . . .	72

## LISTA DE TABELAS

<u>Tabela</u>	<u>Página</u>
01 - Análise de variância das absorções de fósforo ( $\mu\text{M/g}$ ) estimadas das contagens de $^{32}\text{P}$ pelo efeito Cerenkov e Geiger Muller . . . . .	38
02 - Análise de variância da absorção de fósforo em função da solução de crescimento, da solução de absorção e da idade das raízes . . . . .	41
03 - Absorção de fósforo ( $\mu\text{M/g}$ ) em função da concentração de fosfato da solução, nos quatro cultivares de milho. (Dados médios de 4 repetições e tempo de absorção 60 min.)	46
04 - Equações de regressão que estimam as fases do mecanismo multifásico de absorção, empregando a transformação de Lineweaver e Burk . . . . .	57
05 - Valores de $t$ calculados para os coeficientes lineares ( $t_a$ ) e angulares ( $t_b$ ) usados na comparação de fases dentro de um mesmo cultivar (as letras, A,B,C, e D representam os cultivares: C-504, C111-X, L-25 e PR-34 respectivamente, e os sub índices 1, 2 e 3 as fases respectivas).	58
06 - Valores de $t$ calculados para os coeficientes lineares ( $t_a$ ) e angulares ( $t_b$ ), na comparação de fases iguais entre cultivares (as letras A,B,C, e D representam os cultivares C-504, C111-X, L-25 e PR-34 respectivamente. e subíndices 1, 2 e 3 as fases correspondentes).. . . . .	59
07 - Constantes cinéticas ( $V_{\text{max}}$ e $K_m$ ) e pontos de transição (T) para a absorção de fósforo por raízes destacadas dos quatro cultivares de milho . . . . .	63

Tabela

Página

08 - Faixas de concentração de fosfato ( $H_2PO_4^-$ ) e velocidades de absorção, das fases encontradas segundo o mecanismo multifásico . . . . .	64
09 - Valores de $t$ calculados para os coeficientes lineares ( $t_a$ ) e angulares ( $t_b$ ) usados para a comparação das equações dos cultivares na absorção em função do tempo, empregando as concentrações $1 \times 10^{-6}$ e $5 \times 10^{-4}$ (as letras A, B, C e D representam os cultivares C-504, C111-X, L-25, e PR-34, respectivamente). . . . .	68

## LISTA DE TABELAS DO APÊNDICE

<u>Tabela</u>	<u>Página</u>
A-1 - Absorção de fósforo por raízes destacadas de milho (cpm/g e $\mu\text{M/g}$ ) usando-se o Geiger Muller (GM) e o efeito Cerenkov (EC) na detecção do $^{32}\text{P}$ . Dados médios de 3 repetições	92
A-2 - Absorção de fósforo ( $\mu\text{M/g}$ ) em função de solução de crescimento, idade das raízes e solução de absorção. Dados médios de seis repetições. . . . .	93
A-3 - Absorção de fósforo em função do tempo, dos quatro cultivares de milho, para a concentração $1 \times 10^{-6}$ M de $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . (Médias de três repetições) . . . . .	94
A-4 - Absorção de fósforo em função do tempo dos quatro cultivares, da concentração, $1 \times 10^{-4}$ M de $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (Médias de três repetições. . . . .	95
A-5 - Absorção de fósforo em função do tempo, para os quatro cultivares na concentração $5 \times 10^{-4}$ M de $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . (Média de tres repetições). . . . .	96
A-6 - Absorção de fósforo em função da concentração de alumínio na solução de absorção ( $1 \times 10^{-4}$ M $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), sem regulagem do pH. Dados médios de quatro repetições. . . . .	97
A-7 - Absorção de fósforo em função da concentração de alumínio na solução de absorção ( $1 \times 10^{-4}$ M $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) a pH - 4,5 (regulado com HCl ou KOH). Dados médios de quatro repetições.	98

## 1. RESUMO

Dois híbridos duplos (C-504 e C111-X) e duas linhagens (L-25 e PR-34) de milho (*Zea mays* L.) foram comparadas em suas absorções de fósforo por segmentos de 5-7 cm de raízes destacadas.

Foram estudados: 1) a absorção em função da concentração na faixa de  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 2) a absorção em função do tempo, nas concentrações  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  e  $5 \times 10^{-4}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e 3) o efeito do alumínio na absorção do fósforo na faixa de concentrações  $5 \times 10^{-5}$  a  $1 \times 10^{-3}$  M de  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  com concentração única de fósforo ( $1 \times 10^{-4}$  M). Empregaram-se 0,5 g de raízes de plântulas de 16 dias de idade, desenvolvidas em uma solução  $5 \times 10^{-5}$  M de  $\text{CaCl}_2$  e, após cuidadosamente secas com papel absorvente foram colocadas em 150 ml de solução de absorção.

Os quatro cultivares estudados mostraram uma cinética de

absorção concordante com o mecanismo multifásico, indicando a existência de três fases na absorção de fósforo na faixa de concentração empregada. Todas as fases seguiram a cinética simples de Michaelis e Menten e foram melhor estimadas quando se utilizou a transformação de Lineweaver e Burk, do que através da transformação de Hofstee.

Quando as absorções de fósforo dos quatro cultivares foram comparadas individualmente para cada concentração, o híbrido C-504 e a linhagem L-25, (menos tolerante ao alumínio) apresentaram absorções de fósforo maiores do que o híbrido C111-X e a linhagem PR-34 (mais tolerante ao alumínio), embora somente a PR-34 diferiu estatisticamente dos demais.

O alumínio, a baixas concentrações, estimulou a absorção de fósforo enquanto que a altas concentrações a inibiu. A maior diferença de absorção de fósforo entre cultivares de maior e menor tolerância ao alumínio foi observada quando a concentração de alumínio foi a mesma que a do fosfato ( $1 \times 10^{-4} M$ ).

## 2. INTRODUÇÃO

A maioria dos solos tropicais apresentam-se pobres em nutrientes minerais para as plantas, sendo o fósforo um dos elementos que apresenta maiores problemas pelas múltiplas interações que pode ter com os diversos componentes do solo. Como consequência possuem limitações para o bom desenvolvimento das culturas e obtenção de altos rendimentos. Entretanto, existe a possibilidade de selecionar plantas segundo sua eficiência de absorção e assimilação de nutrientes, visando o desenvolvimento de variedades mais adaptadas a condições de deficiência, toxidez do solo como acidez ou salinidade, e fornecer nutrientes minerais para a alimentação animal e humana.

Nas diferentes espécies e/ou variedades de plantas podem-se admitir quatro formas de variações nutricionais: i) resposta diferencial de rendimentos, ii) absorção diferencial de nutrientes, iii) necessidade

de elementos específicos, e iv) resistência diferencial à toxicidade de minerais. Existindo também muitos mecanismos de variações nutricionais que em geral são explicados em termos de morfologia de raízes, fatores que governam a produção de matéria seca (relação: parte aérea/raízes), absorção ativa de nutrientes, translocação e fatores metabólicos, especialmente atividade enzimática (VOSE 1963;1965).

Na prática é impossível estudar simultaneamente todos os fatores que intervêm na nutrição das plantas, de maneira a obter-se um quadro completo de todos os aspectos nutricionais, razão pela qual a maioria das pesquisas somente abordam aspectos particulares do problema e em condições mais variadas. Assim muitos pesquisadores comparam espécies ou variedades de plantas em relação a sua capacidade de absorção de íons empregando raízes destacadas, mais especificamente mediante estudos da cinética de absorção, cuja análise envolve várias "constantes biológicas" que podem ser empregadas como parâmetros de comparação das habilidades das plantas em absorver íons. Deve salientar-se que estas constantes não levam em consideração o desenvolvimento e distribuição das raízes.

A cinética de absorção de íons, frequentemente é interpretada segundo um mecanismo duplo de absorção, um que atua a baixas concentrações e outro a altas concentrações. No entanto, trabalhos recentes de NISSEN (1973 a-c, 1974, 1977), indicam que a cinética de absorção é mais consistente com o mecanismo multifásico, no qual cada fase segue a cinética simples de Michaelis e Menten.

O presente trabalho propõe alcançar os seguintes ob



jetivos:

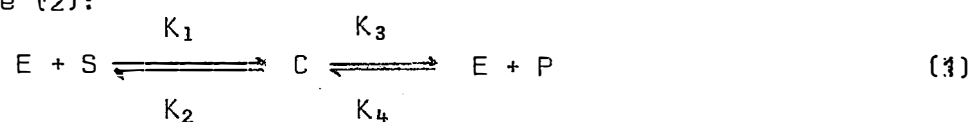
- 1) Determinar se existem diferenças na cinética de absorção de fósforo ( $H_2PO_4^-$ ); em raízes destacadas de milho de dois híbridos duplos e duas linhagens que apresentam diferenças em sua tolerância ao alumínio.
- 2) Estudar como é afetada a absorção de fósforo pela concentração de alumínio nos quatro cultivares.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Cinética de absorção de íons

Nos estudos de absorção de íons pelas plantas o conceito de carregador é aceito como um modelo de absorção ativa de macronutrientes e tem sido estendido também para micronutrientes.

Estudando a cinética de absorção de íons por raízes destacadas de cevada *EPSTEIN e HAGEN (1952)* e *HAGEN e HOPKINS (1955)*, demonstraram que a cinética do modelo de carregadores é análoga à proposta por *MICHAELIS e MENTEN (1913)* em sua teoria de ação enzimática expressa pelas equações (1) e (2):



$$v = \frac{V_{\max} (S)}{K_m + (S)} \quad (2)$$

onde E é a enzima livre, S é o substrato, C é o complexo intermediário, P é o produto da reação, v e V<sub>max</sub> velocidade e velocidade máxima da catálise enzimática, respectivamente, K<sub>1-4</sub> constantes de reação e K<sub>m</sub> a constante de Michaelis e Menten. No modelo de carregadores E representaria o carregador livre, S e P o íon em estudo fora e dentro da raiz, respectivamente, C o complexo íon-carregador e V<sub>max</sub> a velocidade máxima de absorção.

A equação (1) indica a natureza da reação envolvida, a partir da qual com algumas suposições deriva-se a equação (2) (HOFSTEE, 1952) conhecida como equação de Michaelis e Menten que relaciona a velocidade da catálise enzimática com a concentração de substrato, igualmente aplicável a velocidade do transporte iônico (EPSTEIN, 1975).

No caso de uma cinética simples de Michaelis e Menten (reações de primeira ordem), a equação (2) pode ser arranjada de três maneiras diferentes, dando linhas retas úteis para calcular os parâmetros V<sub>max</sub> e K<sub>m</sub> a partir de dados experimentais. Assim estes parâmetros podem ser obtidos através de gráficos de: a) 1/v versus 1/S, b) S/v versus S e c) v versus v/S (HOFSTEE, 1952). Destas transformações as mais comumente empregadas são a primeira (a), conhecida como transformação de LINeweaver-BURK (1934) ou das duplas recíprocas e a terceira (c), conhecida como transformação de HOFSTEE (1952).

Baseado na teoria de ação enzimática de Michaelis e Menten, HOFSTEE (1952) descreve um sistema segundo o qual duas enzimas atuam simultânea e independentemente sobre o mesmo substrato. Este sistema pode

ser resolvido graficamente para a obtenção das constantes cinéticas das duas enzimas que intervêm no processo.

As duas linhas bem definidas que geralmente são obtidas quando se utiliza a transformação de Hofstee nos estudos de absorção de íons, frequentemente são usadas para evidenciar a existência de um mecanismo duplo de absorção, um que atua a baixas concentrações (alta afinidade) e outro a altas concentrações (baixa afinidade) (*NYE e TINKEE, 1977*). Inicialmente interpretou-se que os mecanismos de altas e baixas afinidades seguem uma cinética simples de Michaelis e Menten (*EPSTEIN et alii, 1963*). No entanto, estudos mais detalhados na faixa de altas concentrações (> 1 mM) com cloreto (*RAINS et alii, 1964*) e com potássio (*EPSTEIN e RAINS, 1965*) indicaram uma heterogeneidade do mecanismo que atua a altas concentrações.

Uma explicação detalhada do mecanismo duplo de absorção de íons é dada por *EPSTEIN (1975)*. Segundo este autor, o mecanismo 1 (baixas concentrações) obedece a cinética simples de Michaelis e Menten e é altamente específico para o elemento (potássio e rubídio), enquanto que o mecanismo 2 (altas concentrações) apresenta numerosos pontos de inflexão, sugerindo vários locais ativos que diferem em suas afinidades, não mostrando alto grau de especificidade. *BARBER (1972)* sugere que o mecanismo 2 está associado a uma difusão passiva de íons.

Estudando a absorção de sulfato por raízes e fatias de folhas de cevada, *NISSEN (1971)* analisa os dados da cinética de absorção iônica oferecendo uma interpretação diferente ao modelo duplo. Este pesqui

sador propõe um único mecanismo multifásico para explicar a forma complexa de absorção de sulfato em cada tecido, chegando às seguintes conclusões: i) a absorção de sulfato pode ser descrita por uma simples isoterma multifásica, ii) as fases são separadas por pontos de inflexão definidos, iii) cada fase obedece a cinética de Michaelis e Menten, iv) as constantes cinéticas aumentam de forma bem regular, sendo o incremento de  $V_{max}$  e  $K_m$  pequenos para concentrações baixas a intermediárias de sulfato e v) somente uma fase funciona a uma dada concentração.

Reexaminando dados publicados por diversos pesquisadores, *NISSEN (1973 a-c, 1974)* indica que a absorção de cátions ( $K^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $Cs^+$ ,  $Rb^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  e  $Mn^{2+}$ ) e ânions ( $Cl^-$ ,  $H_3BO_4$ ,  $H_2PO_4^-$  e  $SO_4^-$ ) por plantas superiores pode também ser descrita por uma única isoterma multifásica, conforme o modelo por ele proposto para o sulfato (*NISSEN, 1971*)

*VANGE et alii (1974)*, estudando a absorção multifásica de fosfato e sulfato por raízes de cevada em estudos de competição, verificaram que a absorção e o ponto de transição eram causados pela interação de íons com lugares separados sobre ou dentro do plasmalema, e que o fosfato é absorvido principalmente como  $H_2PO_4^-$  por um mecanismo multifásico semelhante ao de sulfato, mas separados.

O mecanismo multifásico de absorção de íons, também tem sido reportado para a absorção de moléculas orgânicas. *LINASK e LATIES (1973)*, estudando as isotermas de absorção para glucose, em fatias de batata, observaram quatro fases distintas. Quando cada uma das fases foi estudada pela transformação de Lineweaver e Burk ou de Hofstee, com exceção

da absorção para as primeiras fases, verificou-se ser a velocidade de absorção uma função hiperbólica da concentração. Estes pesquisadores consideram que as três primeiras fases da isoterma refletem a passagem através do plasmalema, enquanto que a quarta fase reflete a cinética do transporte para o vacúolo. *NISSEN (1976)* indica a existência de duas ou três fases na absorção de hexose por *Clorella vulgaris*, na faixa de concentração de  $10^{-5}$  a  $10^{-1}$ M e pH de 6,1 a 8,4.

Segundo *NISSEN (1974)*, a absorção de aminoácidos por plantas superiores também pode ser via mecanismo multifásico, sendo necessário obter dados detalhados e precisos para não errar na determinação da cinética.

Comparando estatisticamente modelos de absorção de íons, *NISSEN (1977)*, chega a conclusão que a cinética de absorção de íons em plantas superiores é consistente com o mecanismo de absorção multifásico e que o modelo de absorção cooperativo (*HODGES, 1973*) e o modelo duplo de absorção podem ser rejeitados.

As "constantes biológicas" consideradas nos estudos da cinética de absorção de íons, têm sido usadas por diversos pesquisadores para comparar a habilidade de espécies de plantas ou variedades dentro da mesma espécie para absorver íons. *NOGGLE e FRIED (1960)* estudando a cinética de absorção de fosfato por três espécies de plantas encontraram que o painço apresentou uma maior taxa de absorção que a cevada e esta maior que a alfafa.

*JACKSON et alii (1962)* baseados nos resultados de suas pes

quisas e nas de *HAGEN et alii* (1957), indicaram quatro passos importantes que influenciam na absorção de fosfato em raízes de cevada: i) a absorção de fosfato é quantitativamente governada pelas propriedades da solução externa; ii) as reações que limitam o grau de absorção de fosfato são as reações anteriores à de fosforilação oxidativa; iii) as reações posteriores a de formação de fosfato de alta energia não são limitantes, mas podem alterar eventualmente o equilíbrio e iv) as mitocôndrias são os lugares de absorção do fosfato e encontram-se em comunicação direta com a solução externa. Estes pesquisadores (*JACKSON et alii*, 1962) também indicam que as três primeiras afirmativas são de real importância como passos limitantes na absorção, e podem ser evidenciadas na análise da equação de Michaelis-Menten.

*ANDREW* (1966), estudando a absorção de fósforo, na faixa de concentrações  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$ M, com raízes destacadas de *Stylosantes humilis*, *Phaseolus lathyroides*, *Desmodium uncinatum*, *Medicago sativa* e *Hordeum vulgare*, interpreta seus resultados com base no mecanismo duplo de absorção. Em todas as concentrações de fosfato, a velocidade de absorção por *S. hu*milis foi superior às outras espécies. *NISSEN* (1973b), reanalisando os dados de *ANDREW* (1966) segundo o mecanismo multifásico indica a existência de duas a três fases na cinética de absorção de fósforo pelas espécies consideradas.

Estudando a absorção de fosfato a baixas concentrações (0,03 a 400  $\mu$ M) em raízes destacadas de arroz e amendoim, *ALAGARSWAMY et alii* (1972), também analisam seus resultados com base no mecanismo duplo de absorção. A maior aceleração com respeito a concentração de fosfato -

foi encontrada a 0,1 e 2,0 ppm de P para arroz e amendoim, respectivamente. A saturação do mecanismo de absorção foi encontrada em 0,5 ppm de P para arroz e em 10 ppm para amendoim.

Comparando as absorções de fosfato em raízes destacadas e fatias de folhas de dois híbridos de milho, *PHILLIPS et alii* (1971) não observaram diferenças significativas de absorção por raízes destacadas. No entanto, as absorções pelas fatias de folhas dos dois híbridos apresentaram diferenças a altas e baixas concentrações.

A absorção de íons por raízes destacadas pode ser afetada por uma série de fatores tanto internos ou referentes a própria planta como externos ou relativos ao meio de desenvolvimento das plantas. Assim a absorção de íons é afetada pela idade das raízes (*JUNGKE e BARBER, 1975; CLARKSON et alii, 1968*), qualidade nutricional da solução de crescimento (*HOAGLAND e BROYER, 1936*), temperatura e pH (*HOAGLAND e BROYER, 1940; JACOBSON et alii, 1957; CARTER e LATHWELL, 1967*), aeração (*HOAGLAND e BROYER, 1936; NIEMANN et alii, 1972; FRIED et alii, 1965*) e outros fatores como luminosidade, concentração de íons em estudo e outros íons presentes, potencial genético, etc. (*EPSTEIN, 1975; IAEA, 1976; MALAVOLTA, 1976*). Este fato leva a necessidade de padronizar as condições experimentais, de maneira a se obter resultados que sejam comparáveis.

### 3.2. Efeito do alumínio na absorção do fósforo

Diversas pesquisas indicam a existência de vários tipos de interações entre o  $Al^{3+}$  e fósforo nas raízes das plantas. Assim é conhecido



cido que o alumínio reduz o transporte do fósforo das raízes para a parte aérea das plantas, com uma conseqüente acumulação de ambos elementos nas raízes (HARTWELL e PEMBER, 1918; RANDALL e VOSE, 1963; CRUZ et alii, 1967a; FOY et alii, 1967; LEE, 1971a-b; MALAVOLTA et alii, 1976). Este fato tem dado lugar ao desenvolvimento de pesquisas com a finalidade de determinar a natureza e locais da interação alumínio-fosfato nas raízes das plantas.

Estudando o efeito do alumínio sob a absorção e translocação de fósforo em *Lolium perenne* L., RANDALL e VOSE (1963) concluíram que a indução do alumínio no aumento da absorção de fosfato é em grande parte, um processo metabólico. Sugerem ainda, que após o processo de absorção, o fósforo é ligado pelo alumínio dentro da planta causando assim os sintomas de deficiência de fósforo, característico da toxidez do alumínio.

Trabalhando com plântulas de cevada, CLARKSON (1966) encontrou que em raízes tratadas com alumínio aumentava a concentração de fósforo em relação à testemunha, e que grande parte o fósforo era trocável, não contribuindo no aumento da quantidade de fósforo total dentro dos compostos fosforilados. Os tratamentos com alumínio diminuíram a incorporação de  $^{32}\text{P}$  em açúcares fosfatados, mas aumentaram a quantidade de ATP e outros nucleotídeos trifosfatados. Baseado nestes resultados, CLARKSON (1966) sugere que são duas as reações entre o alumínio e fósforo:

- 1) Reação de adsorção-precipitação na superfície celular e no espaço livre aparente, ocorrendo a fixação de fosfato.
- 2) E outra reação dentro das células, possivelmente dentro das mitocôndrias, resultando em uma acentuada diminuição

na taxa de fosforilação de açúcares, provavelmente devido à diminuição da atividade de hexoquinase.

Em estudos posteriores da interação alumínio-fósforo nas superfícies das raízes, *CLARKSON (1967)* atribui a adsorção de alumínio a locais de adsorção presentes nas paredes celulares, especificamente nos grupos carboxílicos livres de ácidos poligalacturônicos. Além disto, apresenta evidências que o fenômeno que ocorre não é uma simples reação de adsorção e baseado nos resultados de *HSU e RENNIE (1962)* sugere a possível existência de precipitados de alumínio sobre as raízes ou superfície das células na forma de  $Al(OH)_3$ , por hidrólise dos íons  $Al(OH)^{2+}$  e  $Al(OH)^+$  por grupos carboxílicos livres. Também indica (*CLARKSON, 1967*) que as cargas positivas dos hidróxidos de alumínio amorfos podem adsorver e precipitar fósforo da solução na forma de  $Al(OH)_2H_2PO_4$ .

Pesquisas posteriores reforçam as hipóteses de *CLARKSON (1967)*. Assim, *RASMUSSEN (1968)*, usando uma microsonda de elétrons com analisador de raios-X, encontrou que o alumínio localizava-se na superfície das células epidermais da raiz e não penetrava dentro do cortex desde que as superfícies das raízes permanecessem intactas. A locação de fosfato foi a mesma que a do alumínio, sugerindo a precipitação de fosfato por alumínio. *McCORMICK e BORDEN (1972)* empregando um procedimento modificado com azul de metileno para determinar a locação de fosfato, demonstraram que o alumínio foi responsável para um incremento da concentração de fosfato na superfície das raízes e entre as regiões epidermal e cortical. Estes mesmos pesquisadores (*McCORMICK e BORDEN, 1974*) mediante o emprego de micrografias eletrônicas, indicam que os precipitados de alumínio-fosfato ocor

rem nas raízes das plantas como glóbulos dispersos na camada mucilaginosa da superfície das raízes e na região intracelular das pontas das raízes,

Por outro lado, tem-se associado a tolerância diferencial de espécies de plantas e variedades com a habilidade das plantas para absorver e utilizar fósforo em presença de excesso de alumínio (FOY e BROWN, 1964; FOY et alii, 1965; 1967; LEE, 1971 ).

Trabalhando com várias espécies de plantas em soluções nutritivas e em solo ácido, FOY e BROWN (1964), indicaram que os efeitos prejudiciais do alumínio apresentaram-se acompanhados da redução da absorção de  $^{32}\text{P}$  pela parte aérea das plantas. O decréscimo foi maior em cevada sensível ao alumínio do que em trigo tolerante. Incrementos da concentração de Al também reduziram a absorção de  $^{32}\text{P}$  pelas raízes. Os maiores efeitos prejudiciais do Al em cevada e feijoeiro estiveram associados com um incremento da relação de  $^{32}\text{P}$  das raízes e parte aérea, ambos na base de concentração e absorção total.

MacLEAN e CHIASSON (1966), em estudos com duas variedades de cevada que se diferenciavam em sua tolerância ao alumínio, encontraram que a variedade Al-sensitiva acumulava mais P que a variedade Al-tolerante. MacLEOD e JACKSON (1967), também trabalhando com duas variedades de cevada em soluções nutritivas, observaram que o aumento da porcentagem de Al nas raízes, diminuía grandemente os rendimentos e o conteúdo de P da parte aérea. Por outro lado FOY et alii (1967) estudando a tolerância ao Al em duas variedades de trigo e duas de cevada, concluíram que a maior concentração de fósforo na parte aérea de plantas desenvolvidas em soluções nu

tritivas, não dão uma explicação satisfatória para a tolerância ao Al nas tas espécies.

*CRUZ et alii (1967b)*, trabalhando com duas variedades de trigo, de diferentes tolerâncias ao alumínio, cultivadas em solução nutritiva e empregando-se a técnica das raízes divididas, encontraram diferenças nas relações entre os teores de alumínio nas folhas e os teores de fósforo nas folhas, hastes e raízes entre as variedades estudadas. Estes pesquisadores também indicaram que qualquer fenômeno de indisponibilidade de alumínio e fósforo, oriundos da formação de compostos incluindo os dois elementos, é de natureza externa, ocorrendo na solução ou no espaço livre aparente (ELA).

Estudando o efeito do alumínio na nutrição mineral de bata tinha cultivada em soluções nutritivas, *LEE (1971)* chegou a conclusão que a maior acumulação de alumínio e fósforo encontrada nas raízes, ocorre dentro e não na superfície das mesmas. Além disto, reportou não ter encontrado interação entre variedade x nível de alumínio com a concentração de fósforo nas plantas.

### 3.3. Métodos de detecção do $^{32}\text{P}$

Na atualidade existem diversas técnicas de preparo de amostras e de detecção dos radioisótopos usados como traçadores. Esta revisão limita-se aos métodos relacionados com o uso do detector Geiger-Müller e o efeito Cerenkov para a detecção do  $^{32}\text{P}$  em tecido vegetal, por ser estes métodos de detecção os mais comumente encontrados nas pesquisas com o

mencionado radioisótopo.

Para a determinação de  $^{32}\text{P}$  em amostras de plantas utilizou-se tradicionalmente o método de pastilhas de *MacKIENZIE e DEAN (1950)*. Neste método, 3 g de tecido vegetal eram colocados em um cilindro de 3,2 cm de diâmetro, comprimidos a  $844 \text{ kg/cm}^2$  e posteriormente levadas a um detector GM de janela fina terminal. *HAGEN e HOPKIN (1955)*, *ANDREW (1966)*, *CLARKSON (1966)*, entre outros, em seus estudos de absorção de fósforo em raízes destacadas empregaram de 0,5 a 1,0 gramas de raízes frescas acomodadas em planchetas e após o secamento com lâmpada infravermelha efetuaram diretamente a detecção de  $^{32}\text{P}$  com GM de janela fina terminal. *RANDALL e VOSE (1963)* incineraram as amostras de raízes a  $500^\circ\text{C}$ , trataram as cinzas com ácido nítrico diluído e após evaporação em planchetas fizeram a detecção de  $^{32}\text{P}$  com o detector GM.

Desde a última década vem-se desenvolvendo a utilização do efeito Cerenkov na detecção de  $^{32}\text{P}$  em material biológico. Nesta técnica emprega-se o equipamento convencional de cintilação líquida e é aplicável somente a radionuclídeos emissores beta de alta energia ( $> 1 \text{ MeV}$ ). São diversos os autores que descrevem o fundamento do efeito Cerenkov (*HUTCHINSON, 1960*; *MOYER, 1962*; *NASCIMENTO Fº, 1977 a*), *NASCIMENTO Fº (1977a)* além da fundamentação, apresenta uma revisão bastante completa sobre a utilização do efeito Cerenkov.

Para a detecção de radioisótopos emissores beta de alta energia pelo efeito Cerenkov também existem várias técnicas de preparo de amostras. Assim *HAASBROEK e LOTZ (1967)* determinaram  $^{32}\text{P}$  em tecido vegetal, fazendo-se digestão por via úmida e descoloração do extrato. *WHITE e LOTZ*

(1968) preferiram a obtenção de extrato clorídrico após incineração da amostra e determinaram a eficiência de detecção pelo método de padronização externa com fonte de  $^{226}\text{Ra}$  corrigindo as contagens devido ao "quenching". LAUCHLI (1969) estudou a possibilidade de se detectar  $^{86}\text{Rb}$  em raízes destacadas de cebola, utilizando 1,0 grama de raízes frescas colocadas no fundo de um frasco de polietileno e após secagem a  $70^{\circ}\text{C}$  por duas horas, adicionou 20 ml de água ao frasco e levou-o para detecção. Este pesquisador obteve uma eficiência de detecção de 33%, aumentando para 61% quando usou 20 ml de uma solução 2,5 mM ANDA ("7-amino-1,3 naphthalene-disulfonic acid") em lugar de água. CHAPIN III e HOLLEMAN (1974) empregaram a técnica do efeito Cerenkov descrita por LAUCHLI (1969) para a determinação da atividade de  $^{32}\text{P}$  em raízes intactas. Para isto, usaram frascos de cintilação com raízes secas a  $70^{\circ}\text{C}$ , adicionando-se 12 ml de ANDA 2,5 mM e realizaram a detecção no sistema cintilador líquido Nuclear Chicago Mark I.

AWERBUCH e AVNIMELECH (1970) estudaram a possibilidade de se detectar diretamente  $^{32}\text{P}$  em tecido vegetal através do efeito Cerenkov. Para isto, discos de 1 cm de diâmetro de folhas de girassol contendo o radioisótopo, foram colocadas diretamente no fundo de frascos de vidro, adicionando-se água ou hexano (índice de refração 1,375 e limiar 0,235 MeV) e em seguida os frascos foram levados a um sistema cintilador líquido Tri-Carb, da Packard Instruments. Usando-se 5 a 10 ml de água, o método apresentou uma taxa de contagem aproximadamente 1,5 vezes maior do que aquela obtida com o detector GM de janela fina ( $1,4 \text{ mg/cm}^2$ ) colocado a 0,5 cm da amostra; quando empregaram hexano, esta relação passou a 2,17.

ROSS e RASMUSSEN (1974) comentam os aspectos teóricos do

efeito Cerenkov e apresentam um resumo dos trabalhos sobre a metodologia, principalmente no que se refere a eficiência de detecção, "wavelength shifters", solventes, "quenching" e padronização. Neste trabalho, os autores indicam que diversos pesquisadores têm obtido eficiência de detecção na faixa de 20 a 48% para o  $^{32}\text{P}$  em solução aquosa mediante o emprego do efeito Cerenkov. Estas eficiências de detecção podem aumentar com o emprego de "wavelength shifters" (LAUCHLI, 1969; FRIC e FINOCCHIARO, 1975).

FRIC e FINOCCHIARO (1976) estudaram a detecção de  $^{32}\text{P}$  em folhas e raízes de cevada e também em extratos através do efeito Cerenkov. Compararam as eficiências de detecção no material fresco (até 300 mg) diretamente colocados em frascos de cintilação ("detecção seca"), depois adicionando-se 15 ml de água destilada e finalmente em extratos obtidos pela técnica de FRIC e PALOVCIKOVA (1975), as eficiências de detecção para estes três métodos situaram-se próximos a 19, 27 e 43% para folhas, e 27, 38 e 45% para raízes. Na "detecção seca" os autores consideram as paredes dos frascos como responsáveis pelo efeito Cerenkov.

NASCIMENTO F<sup>o</sup> e LOBÃO (1976) comparam as técnicas do efeito Cerenkov, cintilação líquida e Geiger-Muller na detecção de  $^{32}\text{P}$ . Empregaram extratos, obtidos por via úmida e via seca, de amostras de tecidos animais e vegetais. No efeito Cerenkov e na cintilação líquida usaram os sistemas cintiladores líquidos Beckman LS-230 e Nuclear Chicago, modelo 724, e na detecção por GM um detector de janela fina terminal (1,4 mg/cm<sup>2</sup>). Utilizando-se o cintilador líquido Beckman LS-230 para o efeito Cerenkov, encontraram uma eficiência de detecção de 50 a 100 vezes maior do que a do detector GM.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Generalidades

Para alcançar os objetivos propostos foram programados 8 (oito) experimentos nos quais utilizaram-se raízes destacadas de quatro cultivares de milho (*Zea Mays L.*): dois híbridos duplos (C-504 e C 111-X) e duas linhagens (L-25 e PR-34).

Os experimentos 1 e 2 foram programados para a padronização de nossas condições experimentais e do método a ser empregado na estimativa da absorção do fósforo em raízes destacadas. Por esta razão estes experimentos foram conduzidos apenas com um cultivar (C-504). Por outro lado os outros experimentos tiveram a finalidade de comparar os quatro cultivares de milho. Os experimentos 3, 4, 5 e 6 foram utilizados para o estudo da cinética de absorção do fósforo, e os experimentos 7 e 8 para o



estudo do efeito do alumínio na absorção de fósforo.

#### 4.1.1. Cultivares estudados

- a) C-504. É um híbrido duplo tropicalizado de tipo dentado. As plantas em média, possuem 2,10 m de altura com espigas entre 1,10 e 1,20 m, dependendo das condições locais e do clima.
- b) C 111-X. É um híbrido duplo tropical de longo período vegetativo, em contraste com os tropicalizados. As plantas são altas podendo atingir 3,00 m com espigas a 1,7m. O milho é de tipo semi-dentado laranja. É mais tolerante ao alumínio que o C-504.
- c) L-25. Trata-se de uma linhagem que entra na síntese do C-504. Por ser linhagem, as plantas e espigas são pequenas e o empalhamento não é muito bom. O grão é do tipo dentado amarelo.
- d) PR-34. Trata-se de uma linhagem que entra na síntese dos híbridos duplos mencionados anteriormente. As plantas e espigas também são pequenas e o grão é de tipo pérola. É mais tolerante ao alumínio que a linhagem L-25.

#### 4.1.2. Obtenção das raízes destacadas

Para a obtenção das raízes destacadas, as sementes de milho previamente desinfetadas com uma solução de dicloreto de mercúrio ao 1<sup>o</sup>/100, foram colocadas para germinação na superfície de água deionizada, suspen sas por uma tela de "nylon" em vasos de plástico de 5 litros de capacida de. Após a germinação, a água deionizada foi substituída por uma solução de  $\text{CaCl}_2$   $5 \times 10^{-5}\text{M}$  (com exceção do experimento n<sup>o</sup> 2) a qual era trocada ca da 3 dias. O sistema empregado é indicado na figura 1.

O desenvolvimento das plântulas realizou-se sob aeroç ão con tínua em condições de luminosidade artificial, para a qual se utilizou um sistema luminoso constituído de uma mistura de lâmpadas (incandescentes, fluorescentes e Neon) visando a obtenção de uma ampla faixa de comprimen tos de onda. Este sistema foi mantido a 1,20 m acima das plântulas em de senvolvimento.

No dia da experiência as raízes das plântulas foram corta das 3 cm abaixo da tela de "nylon" e lavadas com água deionizada, ficando assim prontas para a experiência de absorção.

#### 4.1.3. Procedimento empregado na absorção

Amostras de raízes frescas de 0,5 grama, após secadas cui dadosamente com papel absorvente, foram colocadas em 150 ml da solução de absorção com fósforo ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) marcado com  $^{32}\text{P}$  ( $\text{NaH}_2^{32}\text{PO}_4$ ) livre de carre gador. A atividade do  $^{32}\text{P}$  empregada foi de aproximadamente 50  $\mu\text{Ci}/1$  de

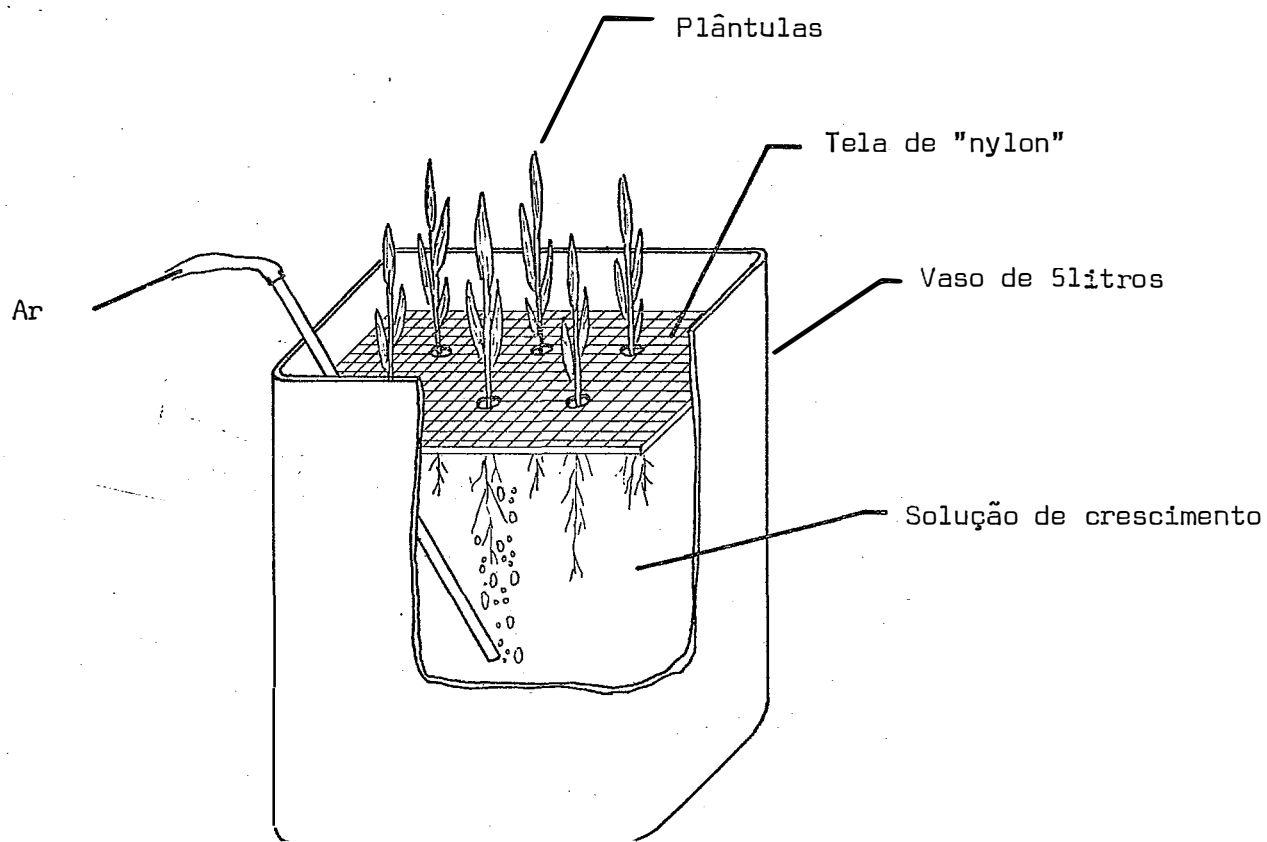


FIGURA 1: Esquema do sistema usado para o desenvolvimento de plântulas

solução.

O pH das soluções de fosfato foi ajustado a 4,5 com HCl ou KOH, realizando-se a absorção a temperatura do laboratório ( $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

As concentrações de fósforo das soluções de absorção, tempo de absorção e outras variáveis estudadas, são indicadas no item 3.3 para cada um dos experimentos realizados.

Durante o tempo de absorção, as soluções foram frequentemente agitadas para evitar gradientes de concentração.

Após a retirada das raízes das soluções de absorção, elas foram lavadas com água deionizada e colocadas durante 10 minutos em soluções de fosfato não marcado e cada uma delas com mesma concentração que a de absorção. Após nova lavagem as raízes foram acomodadas em planchetas de alumínio de 3,2 cm de diâmetro, secadas em estufa a  $70^{\circ}\text{C}$  até obterem peso constante e levadas a um contador G.M. para a detecção do  $^{32}\text{P}$ .

Em todos os casos, com exceção do experimento 1, a detecção do  $^{32}\text{P}$  foi feita diretamente na raiz seca da plancheta utilizando-se um detector G.M. com janela terminal de mica de  $1,4 \text{ mg/cm}^2$  de densidade superficial, acoplado a um conjunto Nuclear Chicago, mod. 8779.

No experimento 1, além do detector GM, utilizou-se um sistema de cintilação líquida Beckman LS-230.

#### 4.1.4. Estimativas do fósforo absorvido

Para a estimativa do fósforo absorvido pelas raízes desta casas ( $\mu\text{M/g}$ ) considerou-se que a quantidade total de fósforo absorvido é proporcional à atividade do  $^{32}\text{P}$  presente após o período de absorção. Des ta forma as quantidades de fósforo absorvidas foram obtidas pela fórmula:

$$P = \frac{Cr}{Mr} \frac{|P|}{As} \dots\dots\dots (3)$$

onde P é quantidade de fósforo absorvido durante o tempo de absorção t em micromoles de fósforo por grama de matéria seca ( $\mu\text{MP/g}$ ), Cr é o número de contagens por minuto (cpm) em Mr gramas de raízes secas. |P| é a concentração total de fósforo da solução no início da absorção ( $\mu\text{M}$  de P/ml) e As é atividade específica da solução (cpm/ml ).

O Cr foi obtido das cpm das raízes secas em planchetas após a absorção, descontando-se a radiação de fundo ("back ground"). As atividades específicas das soluções de absorção foram determinadas em alíquotas de 1 ml, evaporadas até secar em planchetas com 0,5 g de raízes frescas. Na determinação do Mr usou-se uma balança Mettler H 45 com aproximação de 0,1 mg.

## 4.2. Cinética de absorção

### 4.2.1. Interpretação das absorções em função da concentração

As absorções a diversas concentrações de fósforo, pelas raízes destacadas dos quatro cultivares de milho, ver item 3.3.3., foram interpretadas segundo o mecanismo multifásico (NISSEN, 1971, 1973a-c, 1974, 1977). Para isto empregou-se os dados experimentais nas transformadas de HOFSTEE (1952) e de LINEWAVER e BURK (1934) indicadas pelas equações 4 e 5, respectivamente.

$$v = V_{max} - K_m \frac{v}{S} \dots\dots\dots (4)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{S} \dots\dots\dots (5)$$

onde

$v$  = velocidade de absorção

$V_{max}$  = velocidade de absorção máxima

$K_m$  = constante de Michaelis e Menten

$S$  = concentração de P da solução

As equações 4 e 5 correspondem a equações lineares da forma  $Y = a + bX$ , sendo que na equação 4,  $Y$  é igual a  $v$  e  $X$  é igual a  $v/S$ , e para a equação 5,  $Y$  é igual  $1/v$  e  $X$  é igual a  $1/S$ .

### 4.2.2. Resolução das fases

As fases foram preliminarmente delimitadas pela observação das isotermas log - log da absorção versus concentração com os valores médios dos dados experimentais e também pela observação dos gráficos com as transformações de Hofstee e as de Lineweaver e Burk.

Assumindo que cada uma das fases segue a cinética simples de Michaelis e Menten (*NISSEN, 1971, 1973a, 1974*), após sua delimitação preliminar, procedeu-se à análise de regressão linear com todos os dados experimentais adaptados as equações 4 e 5, respectivamente.

As constantes cinéticas Vmax e Km foram estimadas a partir das equações de regressão de cada uma das fases, e as transições entre fases (T), pela intersecção entre duas equações consecutivas (ponto comum).

Nas equações de regressão determinaram-se os desvios padrões para os coeficientes linear (Sa) e angular (Sb) pelas fórmulas:

$$S_b = \frac{S_{xy}}{\sqrt{\sum [X_i - \bar{X}]^2}} \dots\dots\dots (6)$$

e

$$S_a = S_{xy} \cdot \sqrt{\frac{\sum X_i^2}{n \sum (X_i - \bar{X})^2}} \dots\dots\dots (7)$$

onde: n=número de pares de X e Y, e Sxy é o desvio padrão de Y considerando X constante.

Também se determinaram os desvios padrões das constantes ci

néticas Vmax, Km e T, empregando quando necessário as expressões indicadas por CHASE e RABINOWITZ (1967, p. 79), para operações matemáticas simples. Assim, considerando-se duas quantidades A e B que incluem os erros a e b respectivamente, pode-se empregar

$$\text{ADIÇÃO} \quad : (A \pm a) + (B \pm b) = (A+B) \pm \sqrt{a^2 + b^2} \dots\dots\dots (8)$$

$$\text{SUBTRAÇÃO} \quad : (A \pm a) - (B \pm b) = (A-B) \pm \sqrt{a^2 + b^2} \dots\dots\dots (9)$$

$$\text{MULTIPLICAÇÃO} : (A \pm a) \times (B \pm b) = (AB) (1 \pm \sqrt{a^2/A^2 + b^2/B^2}) \dots\dots\dots (10)$$

$$\text{DIVISÃO} \quad : (A \pm a) : (B \pm b) = (A/B) (1 \pm \sqrt{a^2/A^2 + b^2/B^2}) \dots\dots\dots (11)$$

#### 4.2.3. Comparação entre fases

Com a finalidade de verificar se as fases consecutivas dentro de um mesmo cultivar, podiam ser consideradas diferentes, realizou-se um teste t de nulidade, para o coeficiente linear (a) e angular (b) das equações de regressão de fases consecutivas. Para isto usou-se o procedimento indicado por STEEL e TORRIE (1960, p. 161), e empregado por SARRUGE et alii (1973) na absorção de cálcio por células de folhas de cafeeiro. As fórmulas empregadas foram:

$$s_p = \pm \sqrt{\frac{\text{s.q. erro}_1 + \text{s.q. erro}_2}{\text{G.L. erro}_1 + \text{G.L. erro}_2}} \dots\dots\dots (11)$$

$$t_b = \frac{b_2 - b_1}{\sqrt{s_p^2 \left( \frac{1}{\sum X_1^2 - \frac{(\sum X_1)^2}{n_1}} + \frac{1}{\sum X_2^2 - \frac{(\sum X_2)^2}{n_2}} \right)}} \dots\dots\dots (12)$$



$$t_a = \frac{\bar{a}_2 - \bar{a}_1}{\sqrt{s_p^2 \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} + \frac{\bar{X}_1^2}{\sum X_1 - \frac{(\sum X_1)^2}{n_1}} + \frac{\bar{X}_2^2}{\sum X_2 - \frac{(\sum X_2)^2}{n_2}} \right)}} \dots (14)$$

onde  $s_p$  é a estimativa do desvio padrão comum, e  $t_a$  e  $t_b$  os valores de  $t$  para os parâmetros  $a$  e  $b$  respectivamente e  $n$  o número de pares de amostras.

O teste  $t$  também foi empregado para comparar fases iguais dos quatro cultivares estudados.

### 4.3. Relação dos Experimentos realizados

#### 4.3.1. Experimento 1: Geiger Müller vs Efeito Cerenkov

Este experimento foi destinado a observar as diferenças nas estimativas do fósforo absorvido pelas raízes destacadas de milho, quando se empregou o Geiger Müller e/ou efeito Cerenkov na detecção do  $^{32}\text{P}$  usado como traçador.

Utilizaram-se raízes destacadas do híbrido duplo tropical - C-504, de 17 dias de idade, um período de absorção de 60 minutos e um volume de solução de absorção de 150 ml, constantes para todos os tratamentos. As concentrações das soluções de absorção foram de  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  e  $1 \times 10^{-3}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  marcados com 50  $\mu\text{Ci}$  de  $^{32}\text{P}$  por litro de solução.

A detecção do  $^{32}\text{P}$  com Geiger Müller foi feita diretamente na raiz seca em planchetas de vidro de 2,0 cm de diâmetro, usando-se um GM de janela terminal de mica ( $1,4 \text{ mg/cm}^2$ ), acoplado a um escalímetro Nuclear Chicago, modelo 8770. Neste caso, as atividades das soluções de absorção se fizeram em alíquotas de 1 ml após a evaporação nas mesmas planchetas de vidro.

A detecção do  $^{32}\text{P}$  pelo efeito Cerenkov se fez nas mesmas amostras de raízes usadas na detecção com o GM, nas quais preparou-se 50 ml de um extrato de digestão nitroperclórica (JACKSON, 1964). Empregaram-se alíquotas de 20 ml de extrato em frascos de vidro de cintilação e realizaram-se as contagens num aparelho Beckman modelo LS-230, com cristal de NaI (Tl). Para a determinação das atividades isotópicas das soluções de absorção, empregaram-se alíquotas de 1 ml e completaram-se a 20 ml de água deionizada. Todas as contagens obtidas pelo EC foram corrigidas para o efeito de "quenching" pelo método de padronização externa, usando-se uma fonte de  $^{60}\text{Co}$  (NASCIMENTO FQ, 1977b).

As estimativas do fósforo absorvido, calculadas pela equação (3) nos dois métodos empregados (GM e EC), nas três concentrações de fosfato e com três repetições foram analisadas segundo um esquema estatístico inteiramente casualizado (CALZADA, 1970; PIMENTEL GOMES, 1973).

#### 4.3.2. Experimento 2: efeito da idade, solução de crescimento e solução de absorção

Neste estudo utilizaram-se raízes destacadas do híbrido du

plo tropicalizado C-504, de três idades, duas soluções de crescimento e duas soluções de absorção.

As idades das raízes das plântulas utilizadas foram 15, 20 e 25 dias, e para sua obtenção, a semeadura foi planejada de maneira a se conseguir raízes em condições experimentais no mesmo dia.

As soluções em que se desenvolveram as plântulas foram: 1) solução de  $\text{CaCl}_2$   $5 \times 10^{-5}$  M, e 2) solução nutritiva sem fosfato cuja composição foi  $1.33 \times 10^{-3}$  M de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $0,67 \times 10^{-3}$  M de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e  $2,00 \times 10^{-3}$  M de  $\text{KNO}_3$ .

As soluções de absorção empregadas foram: 1) água deionizada + fosfato e, 2) solução nutritiva + fosfato. Esta última apresenta composição idêntica à empregada no desenvolvimento das plântulas. Empregou-se o fósforo a uma concentração única de  $1 \times 10^{-4}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , marcada com  $^{32}\text{P}$ . Estas duas soluções foram utilizadas no estudo de absorção de fósforo pelas raízes de três idades desenvolvidas nas duas soluções de crescimento.

O tempo de absorção utilizado foi de 150 minutos, e constante para todos os tratamentos, após o qual a estimativa do fósforo absorvido ( $\mu\text{M/g}$ ) se fez das contagens do  $^{32}\text{P}$  nas raízes, em GM.

Os resultados de absorção de fósforo obtidos em todos os tratamentos empregados foram analisados segundo um esquema estatístico inteiramente casualizado (CALZADA, 1970; PIMENTAL GOMES, 1973).

#### 4.3.3. Experimento 3: efeito da concentração de fósforo

Neste experimento usaram-se raízes destacadas de 16 dias de idade dos quatro cultivares de milho (C-504, C.111-X, L-25 e PR-34). Utilizaram-se soluções de absorção com as concentrações  $1 \times 10^{-6}$ ,  $5 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $2,5 \times 10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $2,5 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-4}$  e  $1 \times 10^{-3}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , marcados com  $^{32}\text{P}$ . O período de absorção foi de 60 minutos, com quatro repetições por tratamento.

Os resultados deste experimento serviram para o estudo da cinética de absorção conforme indica o item 3.2.

As absorções em cada uma das concentrações dos quatro cultivares, foram comparadas segundo um esquema inteiramente casualizado.

#### 4.3.4. Experimentos 4, 5 e 6: efeito do tempo

Nestes experimentos usaram-se raízes destacadas de 16 dias de idade.

No experimento 4, a solução de absorção apresentava uma concentração  $1 \times 10^{-6}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e tempos de absorção de 5, 10, 20 e 30 minutos

No experimento 5, empregou-se solução  $5 \times 10^{-4}$  M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e mesmos tempos de absorção do experimento 4.

No experimento 6, a concentração de fósforo da solução de absorção foi de  $1 \times 10^{-4}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , e os tempos usados de 2, 15, 30, 60 ,

90 e 150 minutos.

#### 4.3.5. Experimentos 7 e 8: efeito do alumínio

Nestes experimentos utilizaram-se raízes de 16 dias de idade, desenvolvidas também com uma solução de  $\text{CaCl}_2$   $1 \times 10^{-5}$  M, o período de absorção foi de 150 minutos, detectando-se o  $^{32}\text{P}$  com GM.

No experimento 7, empregou-se fósforo a uma concentração única de  $1 \times 10^{-4}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e variaram-se as concentrações de alumínio em  $5 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-4}$  e  $1 \times 10^{-3}$  M  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Todas as soluções foram reguladas a pH=4,5 pela adição de HCl ou KOH.

No caso do experimento 8, os tratamentos foram os mesmos do experimento 7, diferenciando-se apenas no pH das soluções de absorção que não foram regulados.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Padronização das condições experimentais

#### 5.1.1. Métodos de detecção de $^{32}\text{P}$

Os resultados obtidos na detecção do  $^{32}\text{P}$  pelo efeito Cerenkov e Geiger Müller são apresentados nas figuras 2 e 3a-b. Na figura 2 apresentam-se as taxas de contagem por grama de matéria seca (cpm/g) e na figura 3a-b as absorções em micromoles de fósforo absorvido por grama de matéria seca ( $\mu\text{M/g}$ ).

As taxas de contagem do  $^{32}\text{P}$  quando se empregou o efeito Cerenkov (EC) em extratos de digestão das raízes, foram 16 a 20 vezes maiores do que as obtidas com o detector Geiger Müller (GM) em raízes secas em planchetas. Estes resultados estão de acordo com a maior eficiência

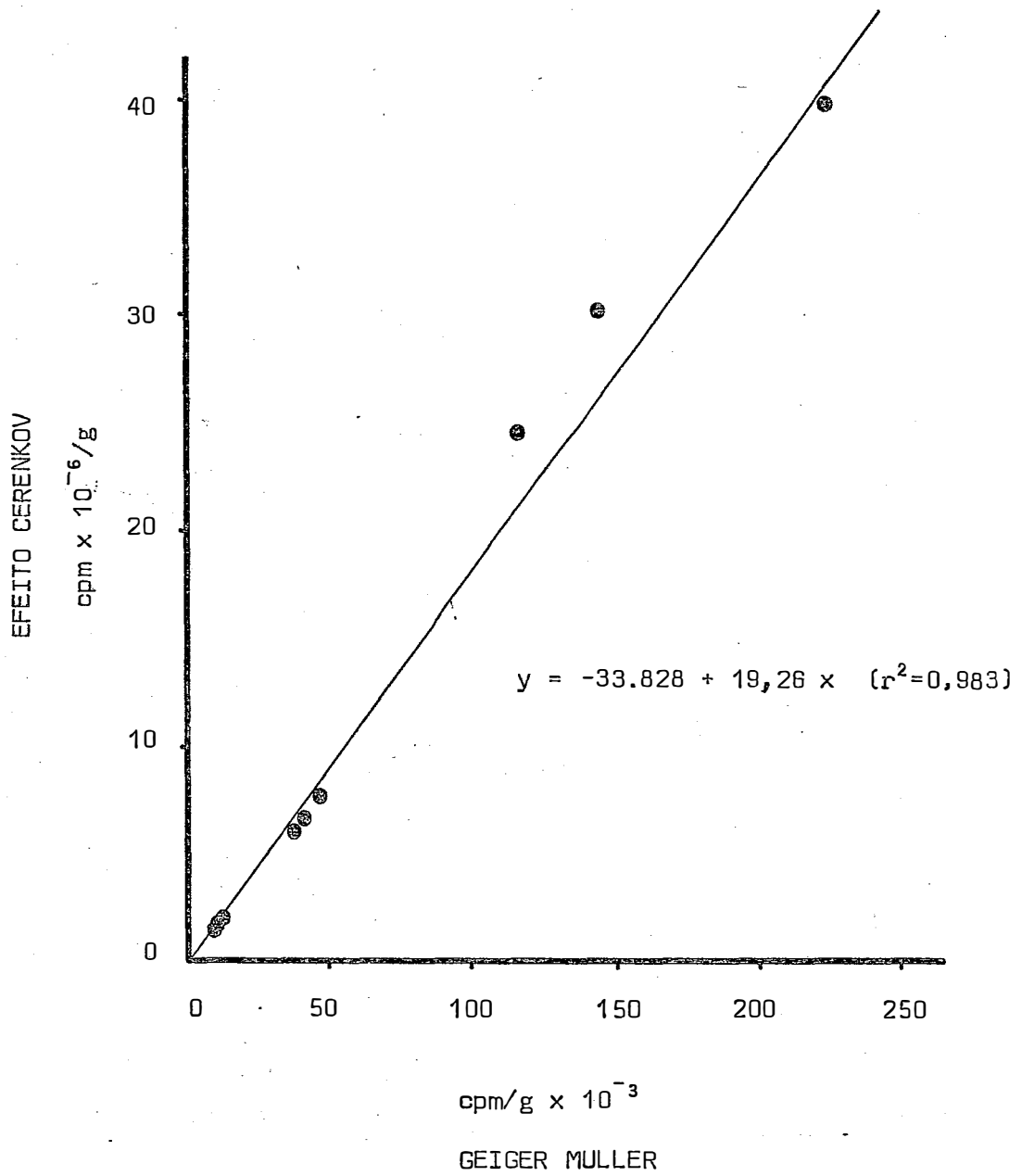


FIGURA 2. Correlação das contagens do <sup>32</sup>P obtidos em Geiger Muller e pelo efeito Cerenkov das mesmas amostras

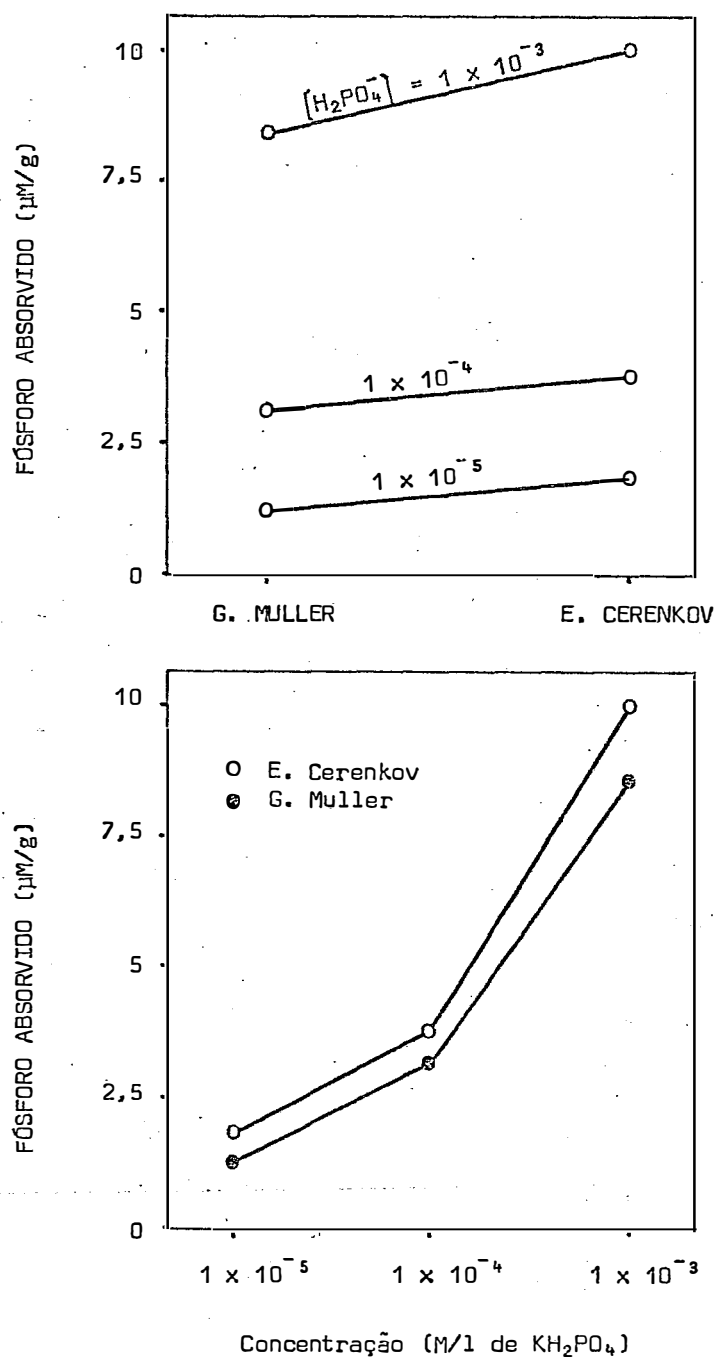


FIGURA 3. Efeito Cerenkov versus Geiger Muller a) Estimativa desigual do fósforo absorvido b) Absorção em função da concentração de fosfato. (Métodos:  $\text{dms}$  (0,05) = 0,32  $\mu\text{M/g}$ ; concentração  $\text{dms}$  (0,05) = 0,56  $\mu\text{M/g}$ ).



do efeito Cerenkov na detecção do  $^{32}\text{P}$  em relação ao Geiger Muller (*WRITE e LOTZ, 1968; ROSS e RASMUSSEN, 1974; FRIC e FINOCCHIARO, 1976; NASCIMENTO Fº e LOBÃO, 1976*).

Embora as contagens obtidas pelos dois métodos tenham apresentado grandes diferenças, mostraram alta correlação ( $r^2=0.983$ ) segundo a regressão linear  $Y = -33.838 + 19,26X$ , como mostra a figura 2. Numa primeira aproximação estes resultados sugerem o uso indiferente das duas formas de detecção do  $^{32}\text{P}$ , nos estudos de absorção fósforo e com a atividade do traçador empregada (aprox. 50  $\mu\text{Ci/l}$ ).

Com relação ao fósforo absorvido ( $\mu\text{M/g}$ ), estimado a partir das contagens, este foi ligeiramente superior quando se usou o EC ao invés de GM, na estimativa de  $^{32}\text{P}$ . Segundo a análise de variância apresentada na Tabela 1 a diferença de fósforo absorvido foi altamente significativa (1%) para os dois métodos.

Na figura 3a que indica a estimativa desigual do fósforo absorvido pelos dois métodos observa-se que o efeito do método é praticamente constante nas concentrações de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  empregada, o que pode ser deduzido do paralelismo das linhas que unem as estimativas de P absorvido. Esta mesma conclusão também é válida para as absorções de fósforo versus as concentrações de fósforo das soluções de absorção (Figura 3b).

Levando-se em consideração a alta correlação entre as taxas de contagem obtidas com o efeito Cerenkov e Geiger Müller, e uma análise da equação (3) usada na estimativa do fósforo absorvido, pode-se atribuir as diferenças entre os métodos a uma estimativa desproporcional das

TABELA 1: Análise de variância das absorções de fósforo ( $\mu\text{M/g}$ ) estimadas das contagens de  $^{32}\text{P}$  pelo efeito Cerenkov e Geiger Muller

Causa de Variação	SC	CL	CM	Fc
CONCENTRAÇÕES (A)	198,95	2	99,47	994,7 **
MÉTODOS (B)	3,26	1	13,26	32,6 **
INTERAÇÃO AB	0,64	2	0,32	3,2 ns
RESÍDUO	1,16	12	0,10	-
TOTAL	204,01	17	-	-

\* Significativo ao nível de 5%

\*\* Significativo ao nível de 1%

ns não significativo

cv = 6,69%

atividades das soluções de absorção e as atividades nas raízes. É provável que no caso do GM, as contagens devido ao  $^{32}\text{P}$ , nas raízes tenham diminuído por fenômenos de auto-absorção (CHASE e RABINOWITZ, 1967). Por outro lado, o mesmo efeito poderia ser atribuído a uma relativa superestimação da atividade específica da solução de absorção.

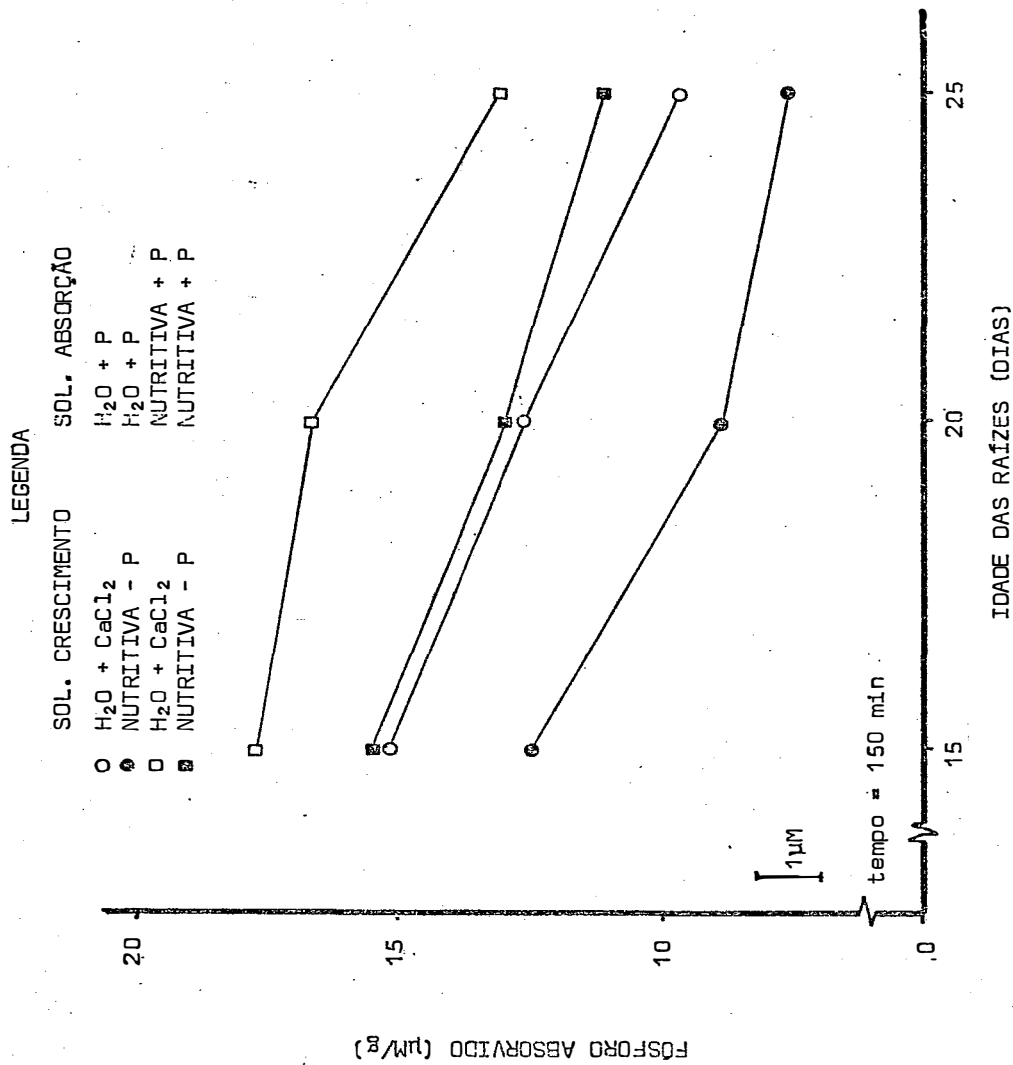
Os resultados obtidos indicam que com a atividade de  $^{32}\text{P}$  empregada ( $\sim 50\mu\text{Ci/l}$ ) é possível o uso das duas formas de detecção para a estimativa do fósforo absorvido, embora seus resultados sejam estatisticamente diferentes, pelo fato de o efeito do método ser praticamente constante. Por este motivo utilizou-se o detector GM nos experimentos posteriores.

#### 5.1.2. Efeito da idade das raízes, da solução de crescimento e da solução de absorção.

Na figura 4 são apresentados os resultados de absorção de fósforo por raízes destacadas de três idades, desenvolvidas em duas soluções de crescimento e utilizando-se duas soluções de absorção.

Segundo a análise de variância (Tabela 2), as três variáveis estudadas apresentaram um efeito principal altamente significativo (1%), não se encontrando nenhuma interação significativa entre elas. A ordem de influência destas variáveis na absorção foi: solução de absorção > idade das raízes > solução de crescimento.

As soluções de absorção, na solução nutritiva + P, apresen



**FIGURA 4:** Absorção de fósforo por raízes destacadas de diferentes idades, obtidas de duas soluções de crescimento e em duas soluções de absorção. (idade: dms (0,05) = 1,67 µM/g; Sol. cresc.: dms (0,05) = 1,13 µM/g; Sol. Absorç.: dms (0,05) = 1,13 µM/g).

TABELA 2: Análise de variância da absorção de fósforo em função da solução de crescimento, da solução de absorção e da idade das raízes

Causa de Variação	SC	GL	CM	F
TOTAL	1141,55	71		
Sol. Crescimento (A)	82,97	1	82,97	14,37 **
Sol. Absorção (B)	282,47	1	282,47	48,91 **
Idade (C)	370,99	2	185,50	32,12 **
AB	3,37	1	3,37	0,58 ns
AC	30,72	2	15,36	2,66 ns
BC	14,08	2	7,04	1,22 ns
ABC	10,57	2	5,57	0,96 ns
Resíduo	346,5	60	5,78	-

\* Significativo ao nível de 5%

\*\* Significativo ao nível de 1%

ns Não significativo

CV = 19,25%

taram as maiores absorções de fósforo, independentemente das idades das raízes e das soluções em que se desenvolveram. Quando se utilizou  $H_2O+P$ , as absorções de fósforo foram menores, mas também apresentaram uma menor variabilidade dentro de tratamentos. As maiores absorções de fosforo, quando se empregou solução nutritiva +P, podem ser atribuídas a efeitos estimulantes dos íons  $Ca^{2+}$  e  $Mg^{2+}$  conforme relatam diversos pesquisadores. *TANADA (1952) e Edwards* citado por *NISSEN (1973)*, trabalhando com raízes destacadas de *Phaseolus aureus* e *Subterranean clover* respectivamente, encontraram uma estimulação do cálcio na absorção de fosfatos. *CROCOMO e MALAVOLTA (1964) e LOURENÇO et alii (1968)*, trabalhando com raízes desta cadas de cevada, demonstraram que o  $Mg^{2+}$  a concentrações iguais ou menores que a de fosfato ( $5 \times 10^{-5} M H_2PO_4^-$ ) aumentavam a absorção de fósforo, e que a concentrações maiores diminuíam a absorção.

Quanto ao efeito da solução de crescimento, observou-se que as raízes desenvolvidas em  $H_2O + CaCl_2$  apresentaram maior absorção de fósforo em relação as desenvolvidas em solução nutritiva - P. Estes resultatados concordam com as observações de *HOAGLAND e BROYER (1936)* que indicam que a acumulação de sais em períodos curtos de experimentação é influenciada grandemente pelo estado nutricional das plantas, e que são requeridas baixas concentrações de sais nos períodos anteriores aos de absorção, para obter uma maior acumulação em raízes destacadas.

As diferenças de absorção de fósforo, pelas raízes desenvolvidas nos dois meios usados, podem ser atribuídas a diferenças nos processos de absorção tanto ativa como passiva. Segundo *HOAGLAND e BROYER (1936)*, os tecidos de raízes desenvolvidos a baixas concentrações de sais

apresentam uma alta concentração de açúcares. Isto provavelmente favorece o processo de fosforilação oxidativa, aumentando principalmente a fosforilação de glicose e frutose, que são os principais compostos de açúcares fosfatados (*LOUGHMAN e RUSSEL, 1957*). Por outro lado, a diferença no gradiente de concentração do sistema solução-raiz dos tratamentos empregados, também pode ter tido alguma influência, existindo possivelmente uma maior difusão dos íons fosfatos para o espaço livre aparente, nas raízes desenvolvidas em  $H_2O + CaCl_2$ . De acordo com *EPSTEIN (1955)*, o substrato mediador para o mecanismo de absorção ativa é a solução do espaço livre aparente a qual se encontra em equilíbrio com a solução ambiente.

No tocante à idade das raízes, esta influenciou grandemente a absorção de fósforo, havendo maior absorção nas raízes de menor idade (15 > 20 > 25 dias). Isto pode ser explicado pela maior atividade metabólica (*HOAGLAND e BROYER, 1936*) e diferenças morfológicas das raízes mais jovens com as de maior idade (*VANTFLEET, 1961; CLARKSON et alii, 1968*). Segundo *VANT FLEET (1961)* as raízes de maior idade possuem endoderme mais espessa, criando uma barreira na entrada de íons para o interior da raiz. Resultados similares foram obtidos por *CLARKSON et alii (1968)* trabalhando com segmentos de 3-5 mm de raízes de cevada, tomadas a 1 cm do ápice e da parte basal da raiz. Estes pesquisadores encontraram diferenças na absorção de fósforo e também na anatomia das duas partes das raízes, especialmente a estrutura da endoderme.

Baseado nos resultados deste experimento e outras experiências não mencionadas aqui, para a comparação dos cultivares no que diz respeito à absorção de fósforo, os seguintes procedimentos foram levados em consideração nos experimentos que se seguiram:

- i) emprego de somente  $\text{CaCl}_2$  ao invés de solução nutritiva como meio de crescimento das plântulas (solução nutritiva para crescimento apresentou evidências de favorecer o desenvolvimento de algas sobre as raízes).
- ii) emprego de segmentos de 5-7 cm de raízes de 15 dias de idade eliminando-se as pontas.
- iii) aumento do número de repetições com a finalidade de eliminar valores extremos.
- iv) emprego como solução de absorção  $\text{H}_2\text{O}$  com fosfato.



## 5.2. Cinética de absorção

### 5.2.1. Absorção de fósforo em função da concentração

Para os quatro cultivares de milho estudados, a absorção de fósforo de soluções a diversas concentrações de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , são apresentadas na tabela 3. Para o estudo da cinética de absorção na faixa de concentração empregada, os resultados foram colocados em gráficos: a) na forma log-log como indicado na figura 5; b) empregando-se a transformação de *HOFSTEE (1952)* como nas figuras 6, 7, 8 e 9; e c) utilizando-se a transformação de *LINEWEAVER e BURK (1934)* como nas figuras 10a-b e 11a-b.

Pelos dados apresentados na Tabela 3, verifica-se que:

- i) o híbrido duplo tropicalizado C-504 e a linhagem L-25, foram os cultivares que apresentaram as maiores absorções de fósforo e só houve diferenças estatísticas entre elas em uma das concentrações empregadas ( $1 \times 10^{-3}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ );
- ii) a linhagem PR-34 apresentou a menor absorção de fósforo entre todos os cultivares, sendo sua diferença com o híbrido C-504 e a linhagem L-25, significativa estatisticamente ao nível de 5 ou 1% para a maioria das concentrações empregadas; e
- iii) no caso do híbrido duplo C111-X, as quantidades de fósforo absorvido ocuparam uma posição intermediária entre os cultivares antes mencionados, ou seja, maiores

Tabela 3 - Absorção de fósforo ( $\mu$  M/g) em função da concentração de fosfato da solução, nos quatro cultivares de milho. (Dados médios de 4 repetições e tempo de absorção 60 minutos).

[H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ] (M)	Cultivares				CV (%)	d m s	
	C-504	C111-X	L-25	PR-34			
$1,0 \times 10^{-6}$	0,52	0,41	0,48	0,37	20,12	ns	(5%)
$5,0 \times 10^{-6}$	1,22	0,94	1,09	0,86	15,14	ns	(5%)
$1,0 \times 10^{-5}$	1,50	1,19	1,24	1,19	10,41	0,29	(5%) ns (1%)
$2,5 \times 10^{-5}$	2,71	2,55	2,27	1,52	17,65	0,71	(5%) 0,99 (1%)
$5,0 \times 10^{-5}$	3,79	3,57	3,33	2,06	11,34	0,63	(5%) 0,88 (1%)
$1,0 \times 10^{-4}$	3,98	3,71	4,92	3,42	14,25	0,74	(5%) 1,06 (1%)
$2,5 \times 10^{-4}$	5,48	5,05	6,41	4,78	12,40	1,17	(5%) ns (1%)
$5,0 \times 10^{-4}$	8,80	6,91	9,32	6,68	11,80	1,35	(5%) 1,96 (1%)
$1,0 \times 10^{-3}$	13,79	9,05	11,97	8,39	8,59	1,66	(5%) 2,34 (1%)
CV (%)	14,56	13,24	10,76	15,36			
d m s (5%)	1,06	0,79	0,73	0,88			
d m s (1%)	1,48	1,12	0,96	1,16			

do que a da PR-34 e menores do que das C-504 e L-25, não existindo, entretanto, diferença significativa na maioria das concentrações.

### 5.2.2. Absorção multifásica de fósforo

Quando se colocaram os dados de absorção de fósforo versus concentração de fosfato num gráfico log-log (figura 5) percebeu-se a presença de pelo menos três fases na cinética de absorção na faixa de concentração  $1 \times 10^{-6}$  a  $1 \times 10^{-3}$  M de  $H_2PO_4^-$ . A presença destas três fases foi observada nos quatro cultivares de milho estudados. Este fato é concordante com uma cinética de absorção de fósforo segundo o mecanismo multifásico, como o proposto para enxofre por *NISSEN (1971)*, ao invés do mecanismo de absorção duplo empregado na interpretação de um grande número de estudos de absorção de íons.

O emprego dos dados experimentais nas transformações de *HOFSTEE (1952)* e de *LINEWEAVER e BURK (1934)*, também ressaltou a existência de três fases de absorção em cada um dos quatro cultivares estudados. Por esse motivo, procurou-se testar cada uma das fases entre si, com o intuito de verificar se poderiam ser consideradas diferentes. Para isto assumiu-se que as fases seguem a cinética simples de Michaelis e Menten (*NISSEN, 1971, 1973a-c; 1974; 1977*), obedecendo a equação de uma reta quando empregadas as transformações antes mencionadas.

Nas figuras 6, 7, 8 e 9 são mostrados os dados experimentais utilizando-se a transformação de Hofstee para os cultivares C-504,

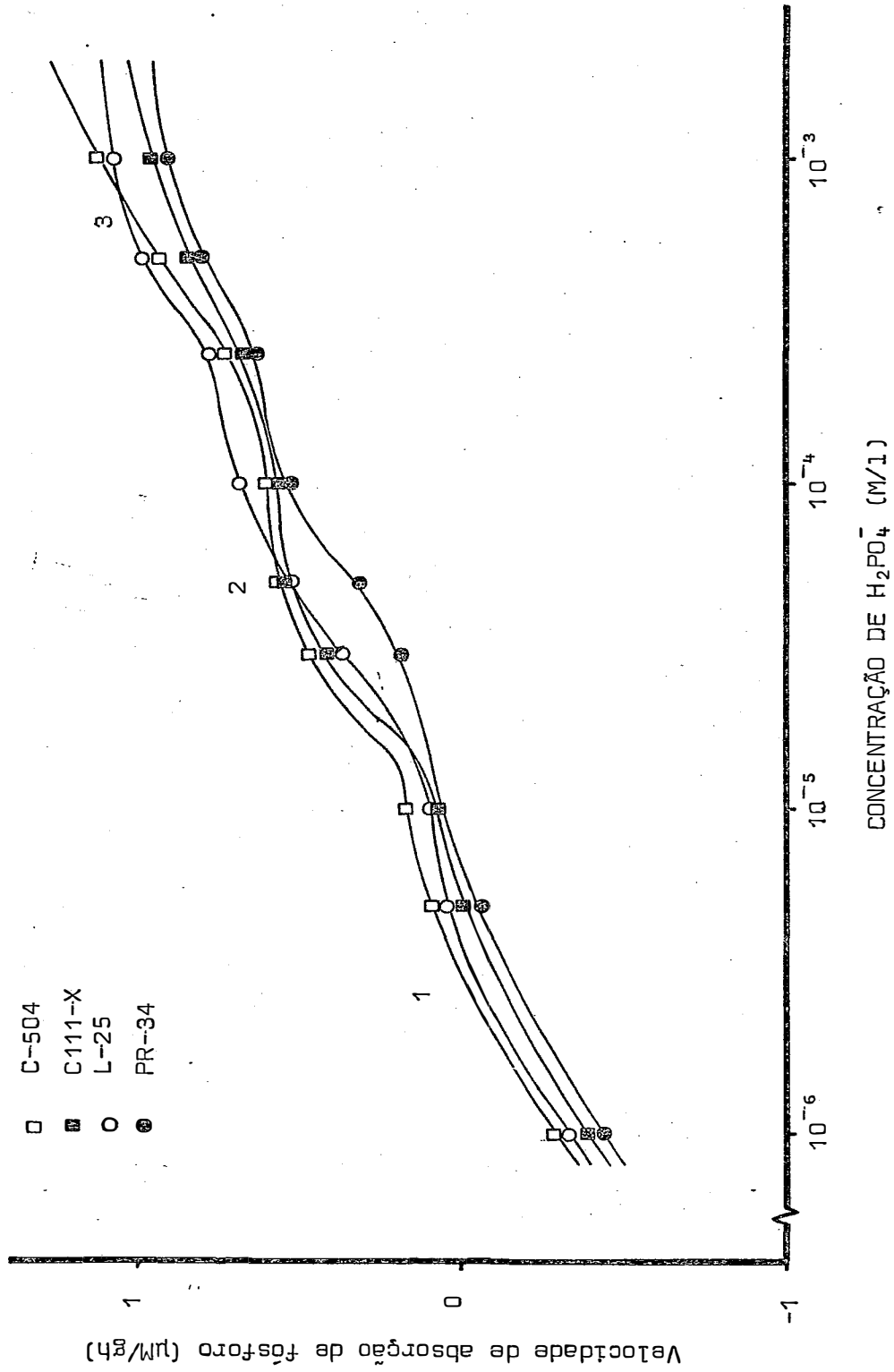
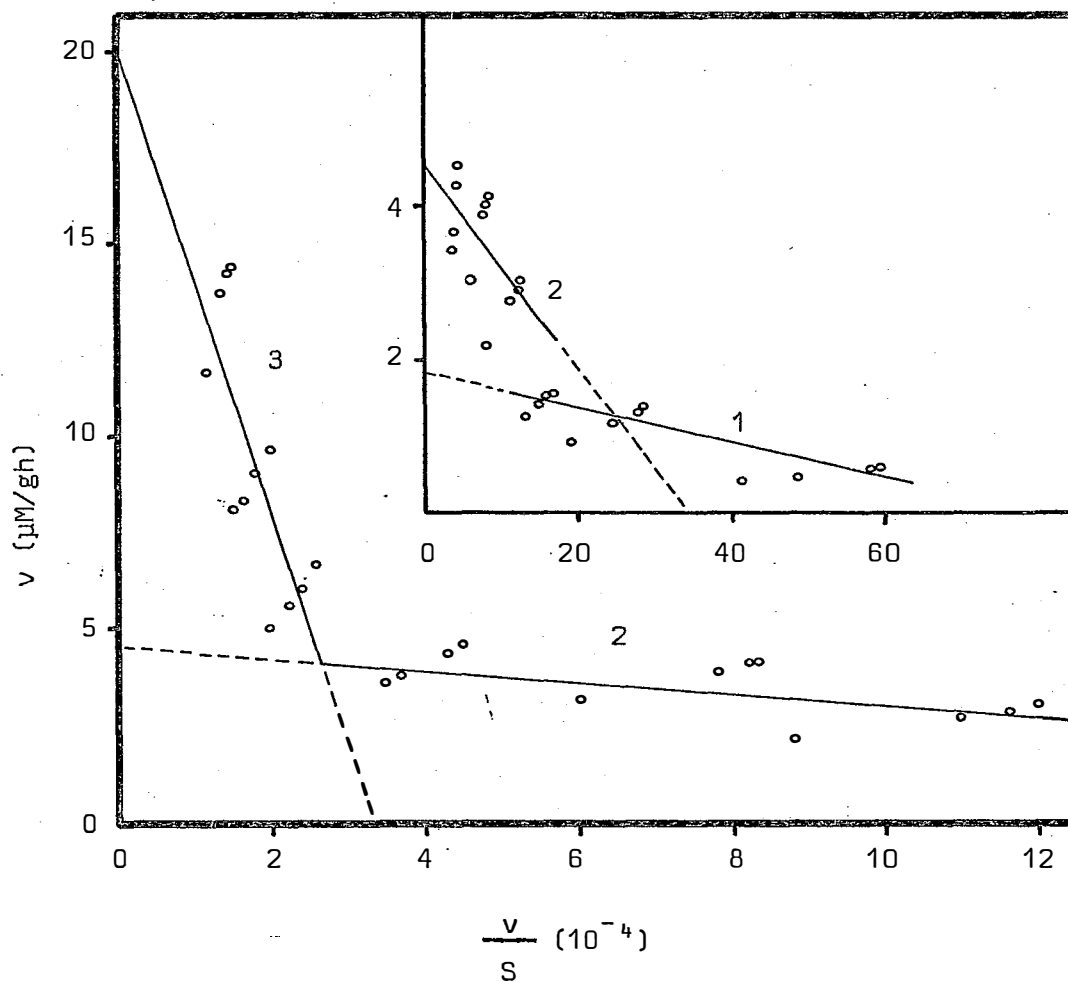
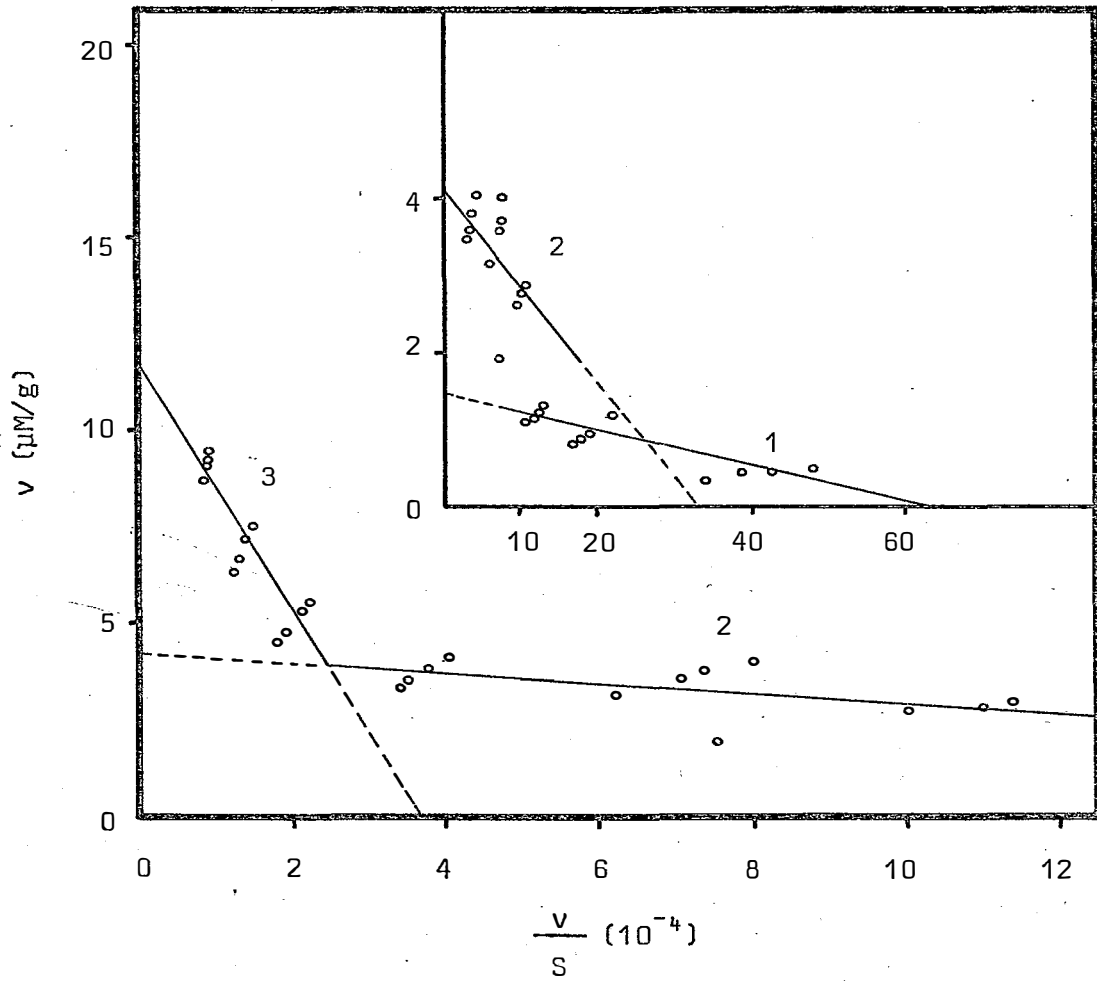


FIGURA 5: Absorção de fósforo em raízes destacadas de milho. Os números 1, 2 e 3 representam as fases envolvidas no processo.



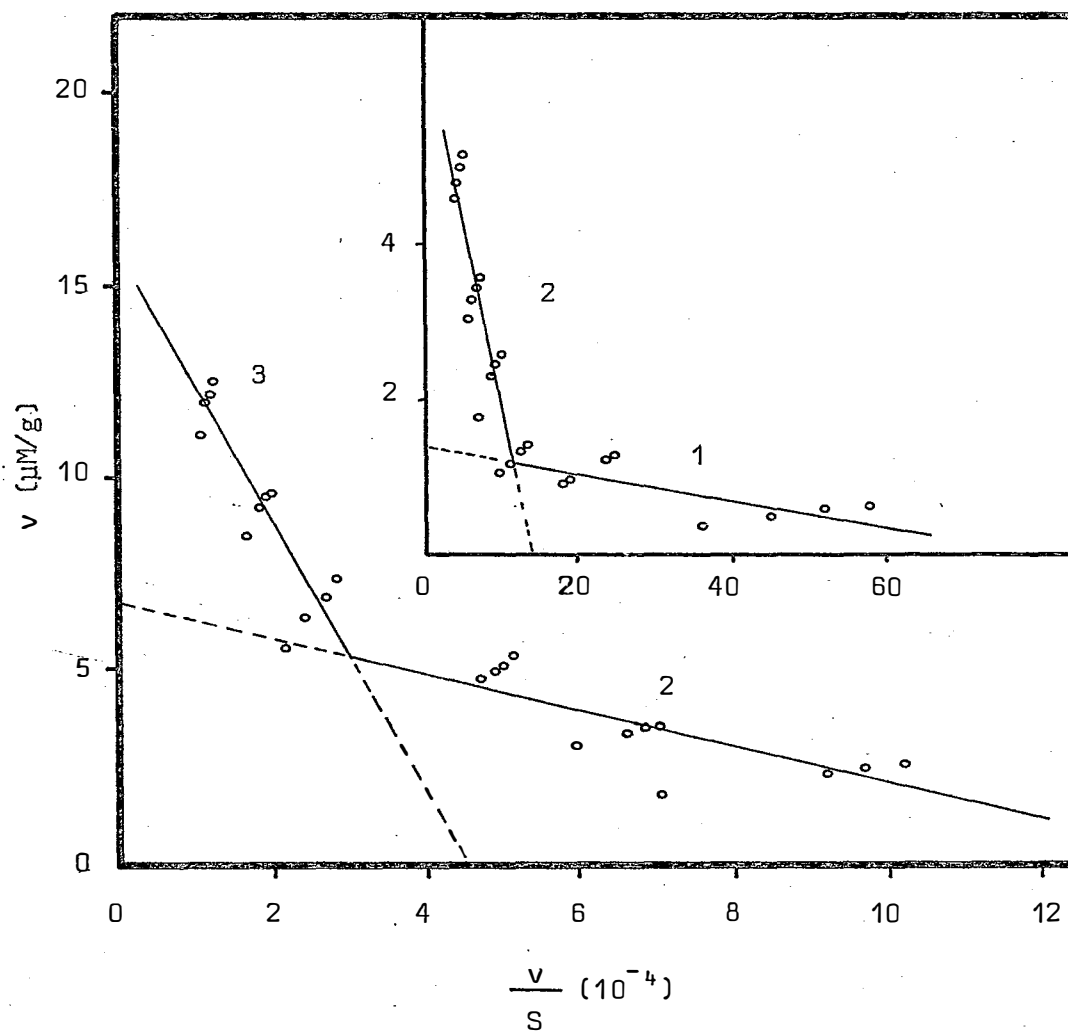
FASE	EQUAÇÃO	r
1	$v = 1,776 - 2,296 \times 10^{-6} (v/ S )$	-0,855 **
2	$v = 4,446 - 1,284 \times 10^{-5} (v/ S )$	-0,547 ns
3	$v = 20,056 - 6,169 \times 10^{-4} (v/ S )$	-0,790 **

FIGURA 6: Velocidade de absorção de fósforo ( $v$ ) como uma função da concentração de  $H_2PO_4^-$  ( $S$ ) na transformação de Hofstee. Híbrido duplo tropicalizado C-504 (os números 1, 2 e 3 representam as fases do processo).



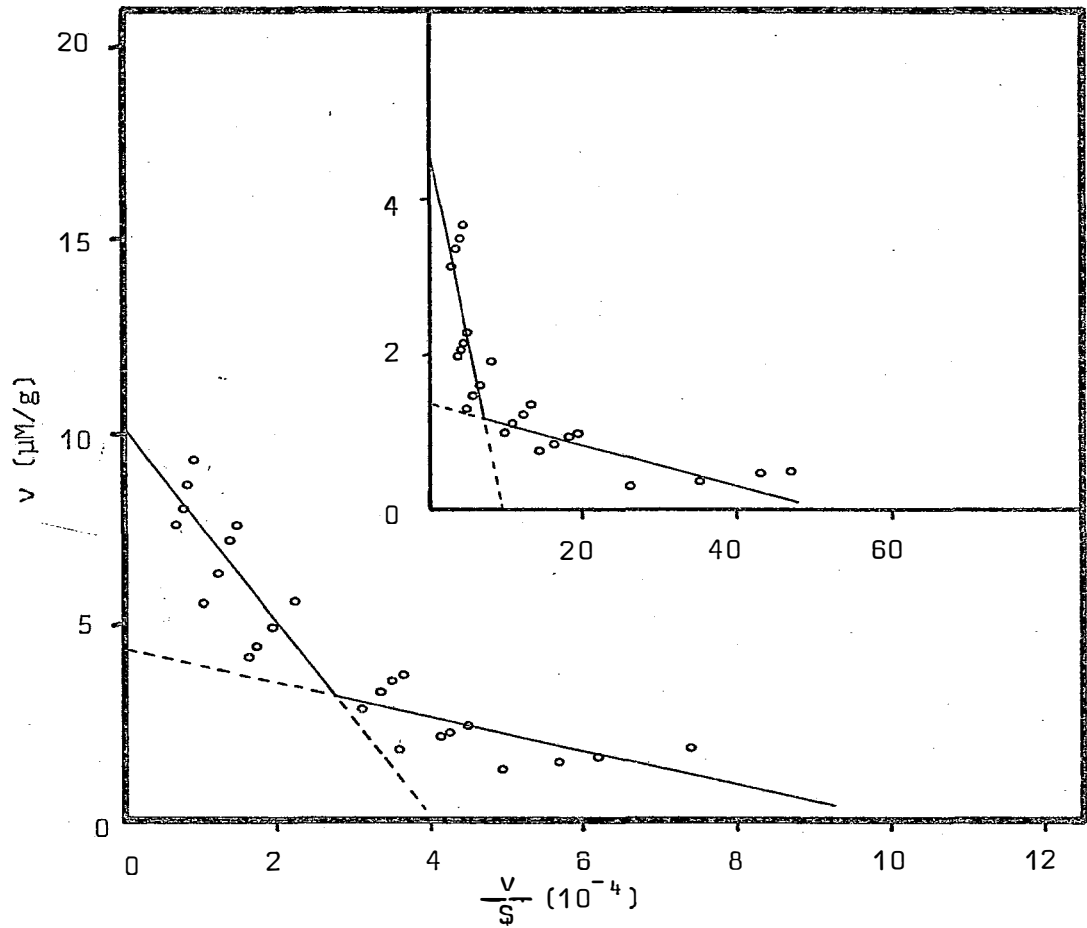
FASE	EQUAÇÃO	r
1	$v = 1,407 - 2,34 \times 10^{-6}(v/ S )$	-0,893 **
2	$v = 4,112 - 1,178 \times 10^{-5}(v/ S )$	-0,547 ns
3	$v = 11,563 - 3,180 \times 10^{-4}(v/ S )$	-0,877 **

FIGURA 7: Velocidade de absorção de fósforo (v) como uma função da concentração de  $H_2PO_4^-$  (S), na transformação de Hofstee. Híbrido duplo tropical C111-X (os números 1, 2 e 3 representam as fases do processo).



FASE	EQUAÇÃO	r
1	$v = 1,433 - 1,811 \times 10^{-6} (v/ S )$	-0,806 **
2	$v = 6,798 - 4,781 \times 10^{-5} (v/ S )$	-0,801 **
3	$v = 15,825 - 3,516 \times 10^{-4} (v/ S )$	-0,875 **

FIGURA 8: Velocidade de absorção de fósforo ( $v$ ) como uma função da concentração de  $H_2PO_4^-$  ( $S$ ), na transformação de Hofstee. Linhagem L-25 (os números 1, 2 e 3 representam as fases)



FASE	EQUAÇÃO	r
1	$v = 1,314 - 2,260 \times 10^{-6} (v/ S )$	-0,794 **
2	$v = 4,314 - 4,358 \times 10^{-5} (v/ S )$	-0,689 *
3	$v = 9,999 - 2,485 \times 10^{-4} (v/ S )$	-0,719 **

FIGURA 9: Velocidade de absorção de fósforo (v) como uma função da concentração de  $H_2PO_4^-$  (S) na transformação de Hofstee. Linhagem PR-34 (os números 1, 2 e 3 representam as fases do processo).



C111-X, L-25 e PR-34 respectivamente. Nelas pode-se observar as três fases da absorção e as equações de regressão que as estimam. Em todos os casos para as fases 1 e 3 existiu uma correlação estatisticamente significativa ao nível de 1%, indicando um bom ajuste dos dados experimentais a equação proposta. No caso da fase 2, a correlação entre as absorções ( $v$ ) e a relação absorção concentração ( $v/S$ ) foi estatisticamente significativa ao nível de 1% na linhagem L-25, ao nível de 5% na linhagem PR-34 e não significativo nos híbridos, embora os valores dos seus coeficientes de correlação estiveram próximos da significação ao nível de 5%.

A análise de regressão, com os dados de absorção adaptados a equação 5 (transformação de Lineweaver-Burk), mostrou um ajuste a equação linear, estatisticamente significativo ao nível de 1% para as três fases observadas nos cultivares estudados (mesmo para a fase 2 nos híbridos onde o emprego da equação (4) não apresentou significância). Estes resultados sugerem que o emprego da transformação de Lineweaver e Burk é mais conveniente para o estudo da absorção de fósforo em raízes destacadas de milho do que a transformação de Hofstee.

O teste  $t$  de nulidade dos coeficientes lineares e angulares das equações representativas das fases, demonstrou que as três fases observadas em cada cultivar podiam ser consideradas diferentes, com um nível de significação de 1<sup>o</sup>/100 (tabela 5).

As três fases encontradas na cinética de absorção do fósforo, concordam com o número de fases registradas por *NISSEN (1973b)* através de uma reanálise de dados de cinética de absorção de fósforo em várias es

pécies de plantas, em concentrações inferiores a  $10^{-3}$  M publicados por diversos pesquisadores. Assim, *NISSEN (1973b)* indica a existência de: 3 fases na absorção de fósforo por trevo subterrâneo; 5 fases na absorção de fósforo por *Elodea densa* na faixa de concentrações de  $10^{-5}$  a  $10^{-1}$  M, correspondendo três fases para concentrações inferiores a  $10^{-3}$  M; 3 fases para *Desmodium uncinatum* e *Hordeum vulgare*; e 2 fases para *Stylosanthes humiles*, *Phaseolus lathyroides* e *Medicago sativa* em concentrações inferiores a  $10^{-3}$  M. Além destes, outros exemplos são mencionados por *NISSEN (1973b)*.

No modelo de absorção multifásica, *NISSEN (1971, 1973c)* considera que a absorção em fases é causada por uma única estrutura (sitio ou carregador), cujas características variam para determinadas concentrações externas discretas do substrato. Esta afirmativa é reforçada pela regularidade evidente no espaçamento e nas constantes cinéticas das fases.

De uma simples observação das figuras 6, 7, 8, 9, 10a-b e 11a-b, nota-se que os quatro cultivares de milho apresentaram um modelo similar de absorção com três fases. A comparação de fases iguais, dos quatro cultivares, mediante o teste  $t$  de nulidade, para os coeficientes linear e angular das equações representativas das fases (tabela 6), mostrou que:

- i) não existiu diferenças estatisticamente significativas entre cultivares para a fase 1.
- ii) na fase 2 houveram diferenças estatisticamente significativas que variaram entre os níveis de significação de 5% a 10% para o coeficiente angular e/ou linear

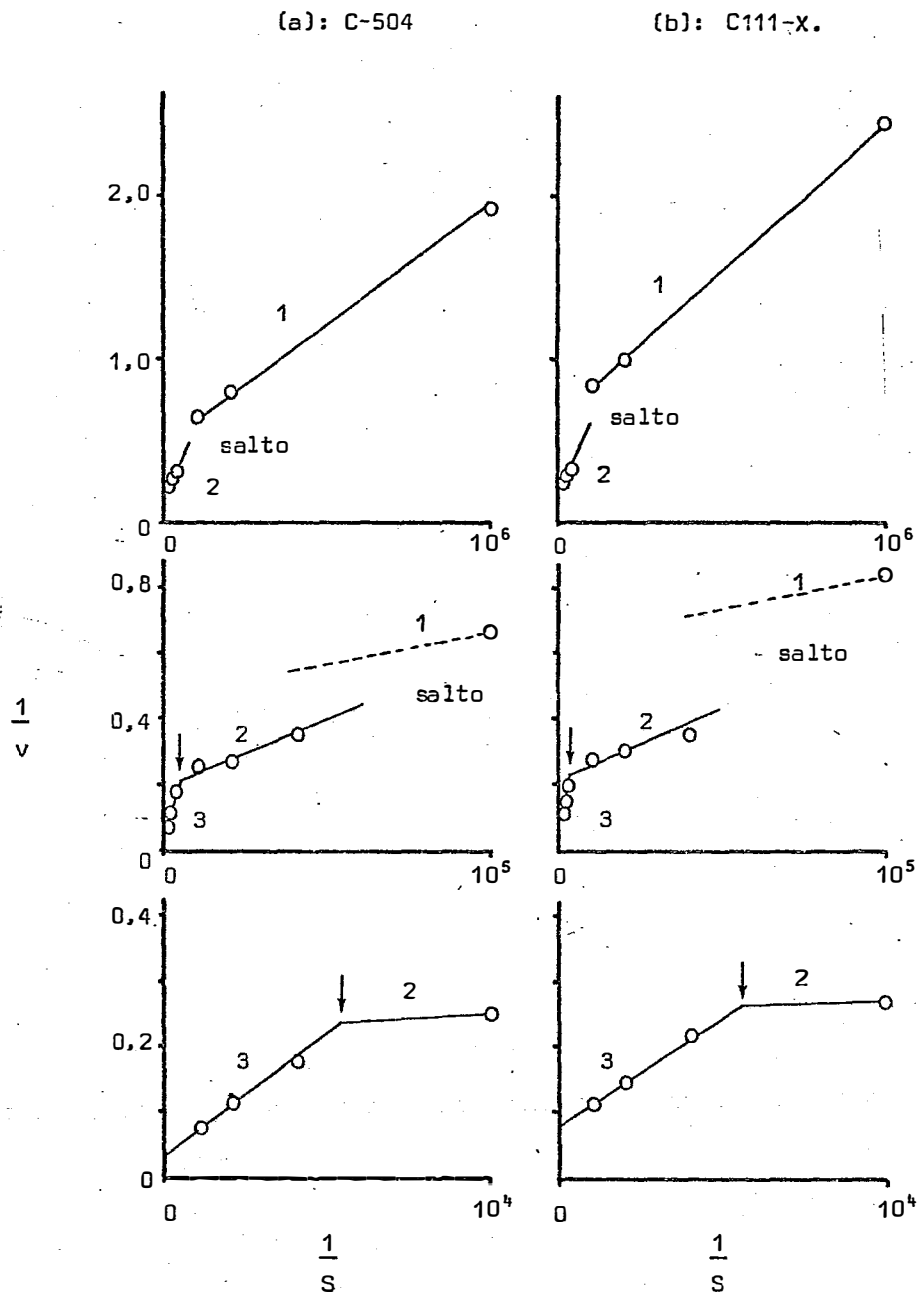


FIGURA 10: Velocidade de absorção de fósforo ( $v$ ) como uma função da concentração de  $H_2PO_4^-$  ( $S$ ), na transformação de Lineweaver e Burk: a) híbrido duplo tropicalizado do C-504; b) híbrido duplo tropical C111-X. Os números 1, 2 e 3 representam as fases do processo e as setas as transições.

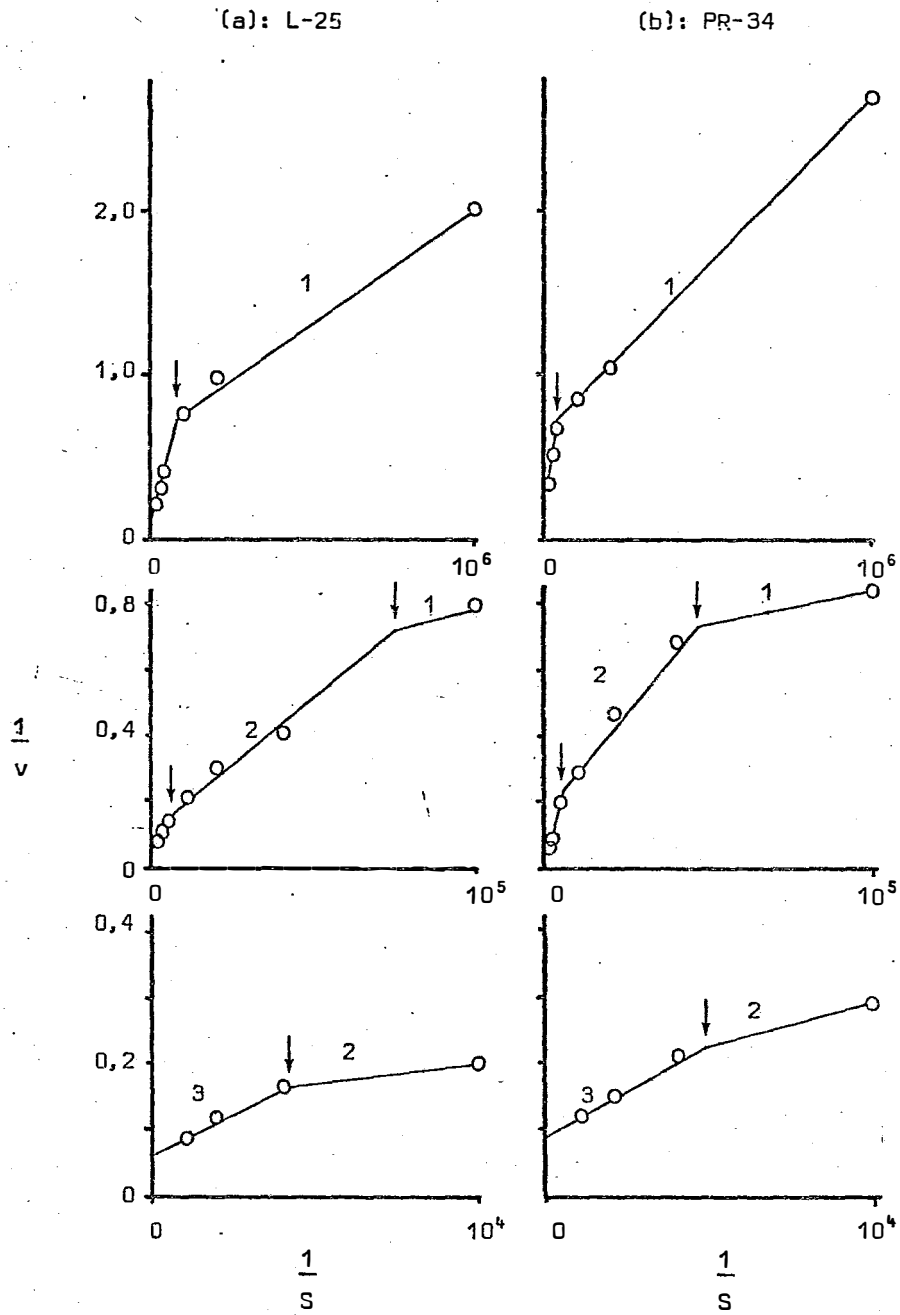


FIGURA 11: Velocidade de absorção de fósforo ( $v$ ) como uma função da concentração de  $H_2PO_4^-$  ( $S$ ), na transformação de Lineweaver e Burk: a) Linhagem L-25; b) Linhagem PR-34. Os números 1, 2 e 3 representam as fases do processo e as setas das transições.

Tabela 4 - Equações de regressão que estimam as fases do mecanismo multifásico de absorção, empregando a transformação de Lineweaver e Burk.

Fase	Equação		Coefficiente de correlação r
híbrido duplo tropicalizado C-504			
1	$1/v = 0,534 \pm 0,089 + 1,452 \pm 0,451 \times 10^{-6}$	1/S	0,949**
2	$1/v = 0,202 \pm 0,028 + 4,170 \pm 1,041 \times 10^{-6}$	1/S	0,784**
3	$1/v = 0,043 \pm 0,007 + 3,337 \pm 0,287 \times 10^{-5}$	1/S	0,962**
híbrido duplo tropical C111-X			
1	$1/v = 0,689 \pm 0,092 + 1,793 \pm 0,155 \times 10^{-6}$	1/S	0,965**
2	$1/v = 0,209 \pm 0,033 + 4,678 \pm 1,241 \times 10^{-6}$	1/S	0,766**
3	$1/v = 0,083 \pm 0,008 + 2,931 \pm 0,302 \times 10^{-5}$	1/S	0,951**
linhagem L-25			
1	$1/v = 0,648 \pm 0,115 + 1,512 \pm 0,194 \times 10^{-6}$	1/S	0,927**
2	$1/v = 0,129 \pm 0,028 + 8,090 \pm 1,062 \times 10^{-6}$	1/S	0,924**
3	$1/v = 0,059 \pm 0,007 + 2,475 \pm 0,265 \times 10^{-5}$	1/S	0,948**
linhagem PR-34			
1	$1/v = 0,691 \pm 0,184 + 2,105 \pm 0,312 \times 10^{-6}$	1/S	0,905**
2	$1/v = 0,178 \pm 0,003 + 1,288 \pm 0,123 \times 10^{-6}$	1/S	0,941**
3	$1/v = 0,089 \pm 0,013 + 3,076 \pm 0,477 \times 10^{-5}$	1/S	0,897**

\*\* - significativo ao nível de 1%

Tabela 5 - Valores de  $t$  calculados para os coeficientes lineares ( $t_a$ ) e angulares ( $t_b$ ) usados na comparação de fases dentro de um mesmo cultivar (as letras, A,B,C, e D representam os cultivares: C-504, C111-X, L-25 e PR-34 respectivamente, e os sub índices 1, 2 e 3 as fases respectivas).

Cultivares e Fases	$t_b$	$t_a$
A <sub>1</sub> versus A <sub>2</sub>	0,769 ns	5,339***
A <sub>1</sub> versus A <sub>3</sub>	4,036 ***	12,222***
B <sub>1</sub> versus B <sub>2</sub>	0,791 ns	7,464***
B <sub>2</sub> versus B <sub>3</sub>	2,713 *	7,879***
C <sub>1</sub> versus C <sub>2</sub>	1,466 ns	6,551***
C <sub>2</sub> versus C <sub>3</sub>	2,143 +	5,193***
D <sub>1</sub> versus D <sub>2</sub>	2,058 +	4,472***
D <sub>2</sub> versus D <sub>3</sub>	1,447 ns	5,549***

ns - não significativos

+ - significativos ao nível de 10%

\* - significativos ao nível de 5%

\*\*\* - significativos ao nível de 1%.

Tabela 6 - Valores de  $t$  calculados para os coeficientes lineares ( $t_a$ ) e angulares ( $t_b$ ), na comparação de fases iguais entre cultivares (as letras A,B,C, e D representam os cultivares C-504, C111-X, L-25 e PR-34 respectivamente e sub índices 1, 2 e 3 as fases correspondentes).

Cultivares e Fases	$t_b$	$t_a$
A <sub>1</sub> versus B <sub>1</sub>	1,576 ns	1,774 +
A <sub>1</sub> versus C <sub>1</sub>	0,242 ns	1,149 ns
A <sub>1</sub> versus D <sub>1</sub>	1,881 ns	1,121 ns
B <sub>1</sub> versus C <sub>1</sub>	1,136 ns	0,410 ns
B <sub>1</sub> versus D <sub>1</sub>	0,895 ns	0,016 ns
C <sub>1</sub> versus D <sub>1</sub>	1,615 ns	0,291 ns
A <sub>2</sub> versus B <sub>2</sub>	0,314 ns	0,371 ns
A <sub>2</sub> versus C <sub>2</sub>	2,636 *	3,881 ***
A <sub>2</sub> versus D <sub>2</sub>	4,990 ***	0,035 ns
B <sub>2</sub> versus C <sub>2</sub>	2,088 +	3,908 ***
B <sub>2</sub> versus D <sub>2</sub>	4,478 ***	0,281 ns
C <sub>2</sub> versus D <sub>2</sub>	2,732 *	0,311 ns
A <sub>3</sub> versus B <sub>3</sub>	0,975 ns	7,804 ***
A <sub>3</sub> versus C <sub>3</sub>	2,150 +	3,135 **
A <sub>3</sub> versus D <sub>3</sub>	0,465 ns	6,685 ***
B <sub>3</sub> versus C <sub>3</sub>	1,138 ns	4,986 ***
B <sub>3</sub> versus D <sub>3</sub>	0,258 ns	0,865 ns
C <sub>3</sub> versus D <sub>3</sub>	1,104 ns	4,561 ***

ns - não significativo

+ - significativo ao nível de 10%

\* - significativo ao nível de 5%

\*\* - significativo ao nível de 1%

\*\*\* - significativo ao nível de 1%

das equações, com exceção dos híbridos C-504 e C111-X que apresentaram-se estatisticamente iguais.

iii) na fase 3, o híbrido C111-X e a linhagem PR-34 não apresentaram diferenças entre si, no entanto todas as outras combinações de cultivares foram estatisticamente diferentes ao nível de 5% ou mais, em seus coeficientes lineares.

### 5.2.3. Constantes Cinéticas

As constantes cinéticas  $V_{max}$  e  $K_m$ , estimadas a partir da equação 5, para cada uma das fases, são apresentadas na tabela 7, na qual também se encontram as transições entre fases (T).

Em relação às velocidades máximas de absorção para a fase 1, o híbrido duplo tropicalizado C-504 apresentou o maior valor de  $V_{max}$  ( $1,85 \pm 0,25 \mu\text{M/gh}$ ) destacando-se dos cultivares L-25, C111-X e PR-34, cujos valores de  $V_{max}$  foram  $1,54 \pm 0,23$ ,  $1,45 \pm 0,17$  e  $1,45 \pm 0,23 \mu\text{M/gh}$  respectivamente. Na fase 2, os valores de  $V_{max}$  dos cultivares foram diferentes dos da fase 1. A linhagem L-25 apresentou o maior valor ( $7,72\% \mu\text{M/gh}$ ) seguida da linhagem PR-34 ( $5,61 \pm 0,77 \mu\text{M/gh}$ ) e após, os dois híbridos duplos C-504 e C111-X que apresentaram os valores de  $V_{max}$   $4,96 \pm 0,59$  e  $4,78 \pm 0,65$ , respectivamente. Na fase 3, a ordem dos valores de  $V_{max}$  dos cultivares foi a mesma à observada na fase 1 porém de magnitudes maiores (C-504, L-25, C111-X e PR-34 com  $V_{max}$   $23,31 \pm 3,39$ ,  $17,06 \pm 1,79$ ,  $11,97 \pm 1,03$  e  $11,16 \pm 1,38 \mu\text{M/gh}$ , respectivamente).



As constantes de Michaelis e Menten, de uma maneira geral aumentaram das fases de menor para as de maior concentração, indicando que a afinidade ( $1/K_m$ ) do carregador pelo íon fosfato diminui com a concentração. Comparando os cultivares, observou-se que em cada uma das três fases a ordem dos valores de  $K_m$  foi praticamente a mesma que a obtida para  $V_{max}$ , como pode ser observado na coluna 3 da tabela 7.

Deve-se salientar, que os valores das constantes  $V_{max}$  e  $K_m$  devem ser tomados somente como um índice de caracterização geral das fases (ou do carregador) na absorção do fósforo. Isto se deve ao fato de as estimativas destas constantes para cada uma das fases terem sido feitas com os dados experimentais adaptados à equação 5 e obtidos por extrapolação. Este fato faz com que algumas vezes se obtenham valores de  $K_m$  localizados fora da faixa de concentração em que atua uma dada fase. Resultados que apresentam este fenômeno podem ser encontrados nos trabalhos de *NISSEN (1971) e NISSEN (1973c)*. Embora o caso mencionado não tenha acontecido no presente experimento, em nenhuma das fases dos cultivares estudados, o mesmo raciocínio explica as diferentes posições ocupadas pelos valores de  $K_m$  dentro da faixa de concentração de uma dada fase.

O problema antes mencionado pode ser contornado com a determinação das transições entre fases, que permite a obtenção de faixas de concentração em que atua cada fase, e também as velocidades de absorção correspondentes. Estas faixas de concentração e/ou velocidades de absorção podem ser empregadas como um auxílio na interpretação dos dados experimentais.

Com respeito aos valores de transições entre fases (coluna 4 da tabela 7), os híbridos duplos C-504 e C111-X, apresentaram um salto entre as fases 1 e 2, como se pode deduzir das observações das figuras 6 e 5 com a transformação de Hofstee, e das figuras 10a e 10b, com a transformação de Lineweaver e Burk; no entanto, estes saltos não foram observados nas linhagens L-25 e PR-34. Transições descontínuas entre fases (saltos) são registradas para: a absorção de sulfatos em raízes destacadas de cevada (NISSEN, 1971); absorção de cloreto em secções próximas de raízes de milho (NISSEN, 1973a); e absorção de fosfato, em raízes de milho, cevada e outras espécies (NISSEN, 1973b).

Os saltos observados provavelmente estejam relacionados com a resistência das membranas onde podem estar localizadas as fases (NISSEN 1971). Por outro lado, aplicações da termodinâmica irreversível a fenômenos de membrana têm mostrado que transições descontínuas podem ser ocasionadas por fatores que afetam as forças propulsoras, por exemplo, variações de temperatura e força iônica (Prigogine (1969) e Blumenthal et alii (1970), citados por NISSEN, 1973a).

Na tabela 8 são apresentadas as faixas de concentração em que atua cada uma das fases e as velocidades de absorção correspondentes calculadas das equações de regressão que estimam cada fase.

Com relação as concentrações em que atuam as fases, observou-se que os quatro cultivares mantiveram uma regularidade na amplitude de faixas de concentração de fases correspondentes. Isto sugere que a natureza do carregador envolvido em cada fase dos cultivares é o mesmo (NISSEN, 1973a).

Tabela 7 - Constantes cinéticas ( $V_{\max}$  e Km) e pontos de transição (T) para a absorção de fósforo por raízes destacadas dos quatro cultivares de milho.

Fase	$V_{\max}$ ( $\mu$ M/g h)	Km (M)	T (M)
Híbrido duplo tropicalizado C-504			
1	1,85 $\pm$ 0,25	2,82 $\pm$ 0,46 $\times 10^{-6}$	1,00 - 2,50 $\times 10^{-5}$ (salto) 1,84 $\pm$ 0,38 $\times 10^{-4}$
2	4,96 $\pm$ 0,59	2,07 $\pm$ 0,57 $\times 10^{-5}$	
3	23,31 $\pm$ 3,39	7,78 $\pm$ 1,30 $\times 10^{-4}$	
Híbrido duplo tropical C111-X			
1	1,45 $\pm$ 0,17	2,60 $\pm$ 0,37 $\times 10^{-6}$	1,00 - 2,50 $\times 10^{-5}$ (salto) 1,96 $\pm$ 0,17 $\times 10^{-4}$
2	4,78 $\pm$ 0,65	2,24 $\pm$ 0,66 $\times 10^{-5}$	
3	11,97 $\pm$ 1,03	3,51 $\pm$ 0,47 $\times 10^{-4}$	
Linhagem L-25			
1	1,54 $\pm$ 0,23	2,33 $\pm$ 0,46 $\times 10^{-6}$	1,27 $\pm$ 0,29 $\times 10^{-5}$ 2,35 $\pm$ 1,54 $\times 10^{-4}$
2	7,72 $\pm$ 1,37	6,25 $\pm$ 1,38 $\times 10^{-5}$	
3	17,06 $\pm$ 1,79	4,22 $\pm$ 0,64 $\times 10^{-4}$	
Linhagem PR-34			
1	1,45 $\pm$ 0,31	3,05 $\pm$ 0,79 $\times 10^{-6}$	2,10 $\pm$ 0,72 $\times 10^{-5}$ 2,01 $\pm$ 0,89 $\times 10^{-4}$
2	5,61 $\pm$ 0,77	7,23 $\pm$ 1,20 $\times 10^{-5}$	
3	14,16 $\pm$ 1,38	3,43 $\pm$ 0,67 $\times 10^{-4}$	

Tabela 8 - Faixas de concentração de fosfato ( $H_2PO_4^-$ ) e velocidades de absorção, das fases encontradas segundo o mecanismo multifásico.

Fase	Faixa de Concentração (M)	Faixa de velocidade de absorção ( $\mu$ M/g h)
Híbrido duplo tropicalizado C-504		
1	$1,00 \times 10^{-6} - 1,25 \times 10^{-5}$	0,51 - 1,53
2	$1,25 \times 10^{-5} - 1,84 \times 10^{-4}$	1,87 - 4,45
3	$1,84 \times 10^{-4} - 1,00 \times 10^{-3}$	4,45 - 13,11
Híbrido duplo Tropical C111-X		
1	$1,00 \times 10^{-6} - 1,25 \times 10^{-5}$	0,40 - 1,20
2	$1,25 \times 10^{-5} - 1,96 \times 10^{-4}$	1,71 - 4,48
3	$1,96 \times 10^{-4} - 1,00 \times 10^{-3}$	4,48 - 8,86
Linhagem L-25		
1	$1,00 \times 10^{-6} - 1,27 \times 10^{-5}$	0,46 - 1,30
2	$1,22 \times 10^{-5} - 2,35 \times 10^{-4}$	1,30 - 6,10
3	$2,35 \times 10^{-4} - 1,00 \times 10^{-3}$	6,10 - 12,00
Linhagem PR-34		
1	$1,00 \times 10^{-6} - 2,10 \times 10^{-5}$	0,36 - 1,26
2	$2,10 \times 10^{-5} - 2,01 \times 10^{-4}$	1,26 - 4,12
3	$2,01 \times 10^{-4} - 1,00 \times 10^{-3}$	4,12 - 8,31

SEN, 1971; 1973c).

As faixas de velocidade de absorção das fases, quando estimadas segundo o mecanismo multifásico, apresentaram-se coerentes com os dados obtidos experimentalmente, como se pode deduzir dos resultados de velocidade de absorção apresentados nas tabelas 3 e 8.

#### 5.2.4. Efeito do tempo

A absorção de fósforo em função do tempo, para os quatro cultivares é apresentada nas figuras 12, 13 e 14 para as concentrações  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  e  $5 \times 10^{-4}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , respectivamente.

Nas concentrações  $1 \times 10^{-6}$  e  $5 \times 10^{-4}$  M de fosfatos, onde se empregaram os mesmos tempos de absorção (5, 10, 20 e 30 minutos), a absorção aumentou linearmente com o tempo, como pode se observar nas figuras 12 e 13 onde são mostradas também as respectivas equações de regressão para cultivares. Quando se compararam os coeficientes linear e angular das equações de absorção em função do tempo (teste t), e a absorção para cada tempo individualmente (teste f), não foram encontradas diferenças significativas entre cultivares. No entanto a média das absorções dos cultivares apresentou a mesma ordem indicada no item anterior (4.3.3.) para as fases 1 e 3, de baixa e alta faixa de concentração de fosfato no meio exterior, respectivamente.

Na concentração de fosfato  $1 \times 10^{-4}$  M e tempos 2, 15, 30, 60, 90 e 150 minutos, a absorção em função do tempo também se ajustou a uma

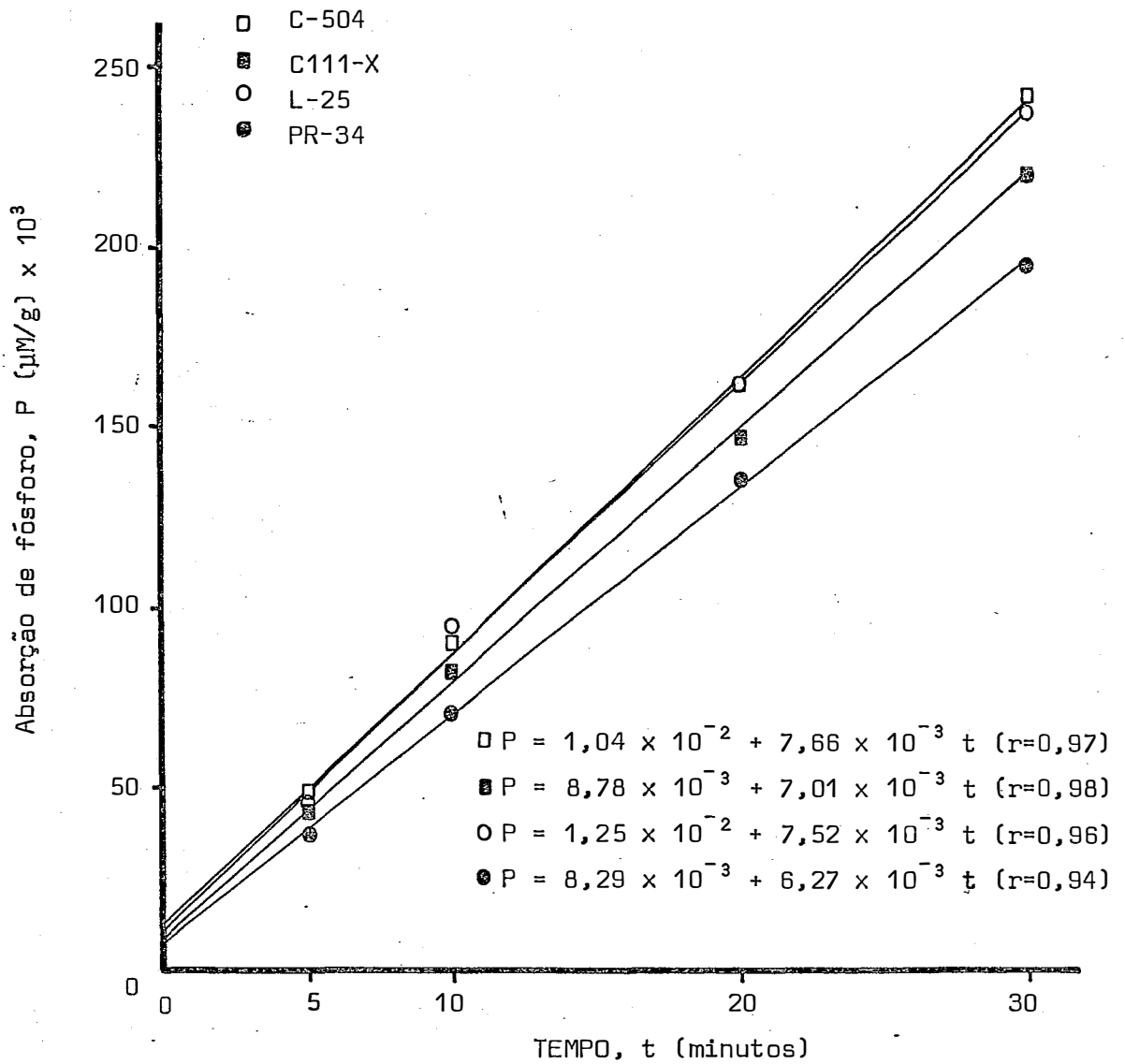


FIGURA 12: Fósforo absorvido em função do tempo, para os quatro cultivares, na concentração:  $1 \times 10^{-6}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

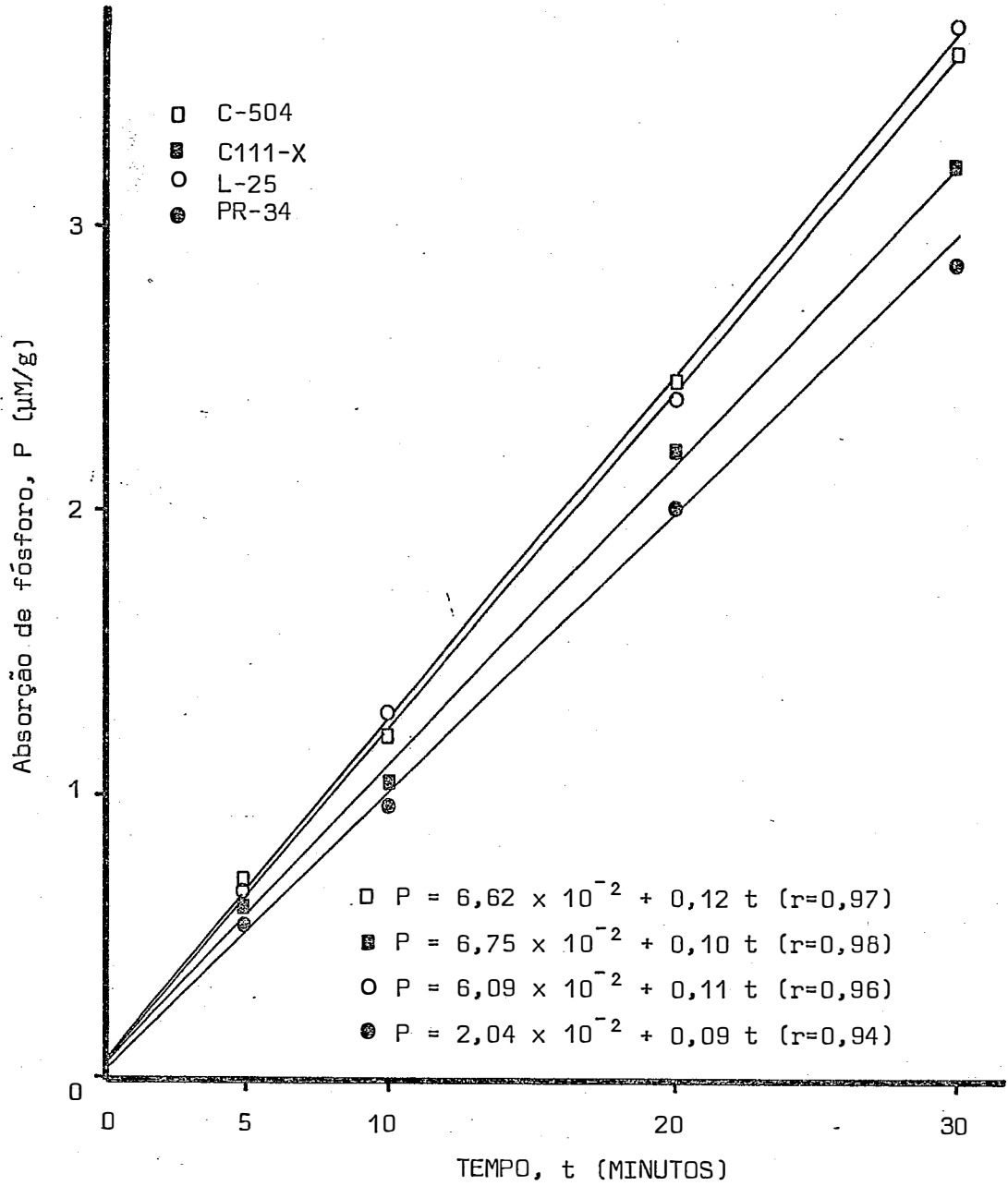


FIGURA 13: Fósforo absorvido em função do tempo, para os quatro cultivares na concentração de  $5 \times 10^{-4}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

Tabela 9 - Valores de t calculados para os coeficientes lineares ( $t_a$ ) e angulares ( $t_b$ ) usados para a comparação das equações dos cultivares na absorção em função do tempo, empregando as concentrações  $1 \times 10^{-6}$  e  $5 \times 10^{-4}$  M (as letras A, B, C e D representam os cultivares C-504, C111-X, L-25 e PR-34, respectivamente).

Cultivares	$t_b$	$t_a$
$[H_2PO_4^-] = 1 \times 10^{-6} \text{ M}$		
A versus B	0,734 ns	0,177 ns
A versus C	0,184 ns	0,256 ns
A versus D	1,713 +	0,251 ns
B versus C	0,611 ns	0,437 ns
B versus D	0,881 ns	0,056 ns
C versus D	1,669 +	0,546 ns
$[H_2PO_4^-] = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$		
A versus B	1,235 ns	0,011 ns
A versus C	0,205 ns	0,036 ns
A versus D	1,927 ++	0,324 ns
B versus C	1,294 ns	0,050 ns
B versus D	1,019 ns	0,366 ns
C versus D	1,239 ns	0,260 ns

ns - não significativo

+ - significativo ao nível de 20%

++ - significativo ao nível de 10%



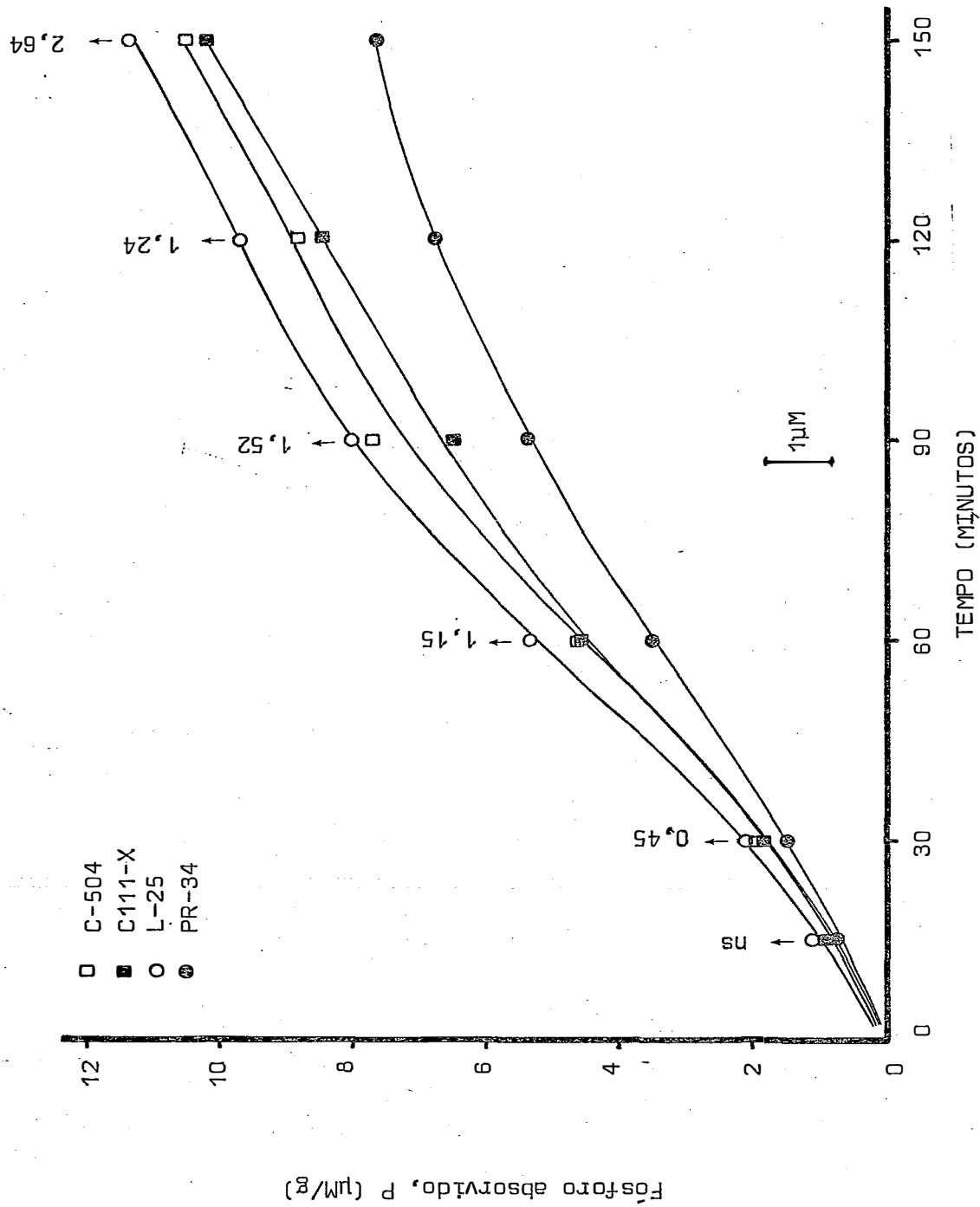


FIGURA 14: Absorção de fósforo em função do tempo, para os quatro cultivares, na concentração  $1 \times 10^{-4}$  M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (os valores indicados pelas setas representam  $\pm 5\%$ )

equação linear, embora na figura 14 as curvas foram traçadas com base nas absorções médias, por considerar que dão uma melhor idéia das tendências seguidas. A comparação das absorções individuais em cada tempo, indicaram que a linhagem PR-34 possuía a menor absorção entre todos os cultivares estatisticamente significativa ao nível de 5% para tempos de 30 minutos ou superiores. Os cultivares L-25, C-504 e C111-X não apresentaram diferenças entre si.

### 5.3. Efeito do alumínio

A absorção de fósforo como uma função da concentração de alumínio para os cultivares mais tolerantes (híbrido C111-X e linhagem PR-34) e menos tolerantes (híbrido C-504 e linhagem L-25) ao alumínio, é apresentada nas figuras 15 e 16, para soluções de absorção com pH não regulado e regulado ao valor 4, 5, respectivamente.

Como se pode observar nas figuras 15 e 16, a absorção de fósforo foi estimulada a baixas concentrações de alumínio e diminuiu nas concentrações mais altas. Esta estimulação, foi maior quando não se regulou o pH, (figura 15) do que quando este foi regulado a um valor constante igual a 4,5 (figura 16). No entanto em ambos os casos, as maiores absorções de fósforo foram encontradas quando a concentração de alumínio foi a mesma que a de fosfato ( $10^{-4}$  M) na solução de absorção.

A maior estimulação encontrada quando não se regulou o pH, pode ser atribuída ao efeito do pH na absorção. Assim, as soluções com alumínio nas concentrações em que se obtiveram as maiores absorções tive

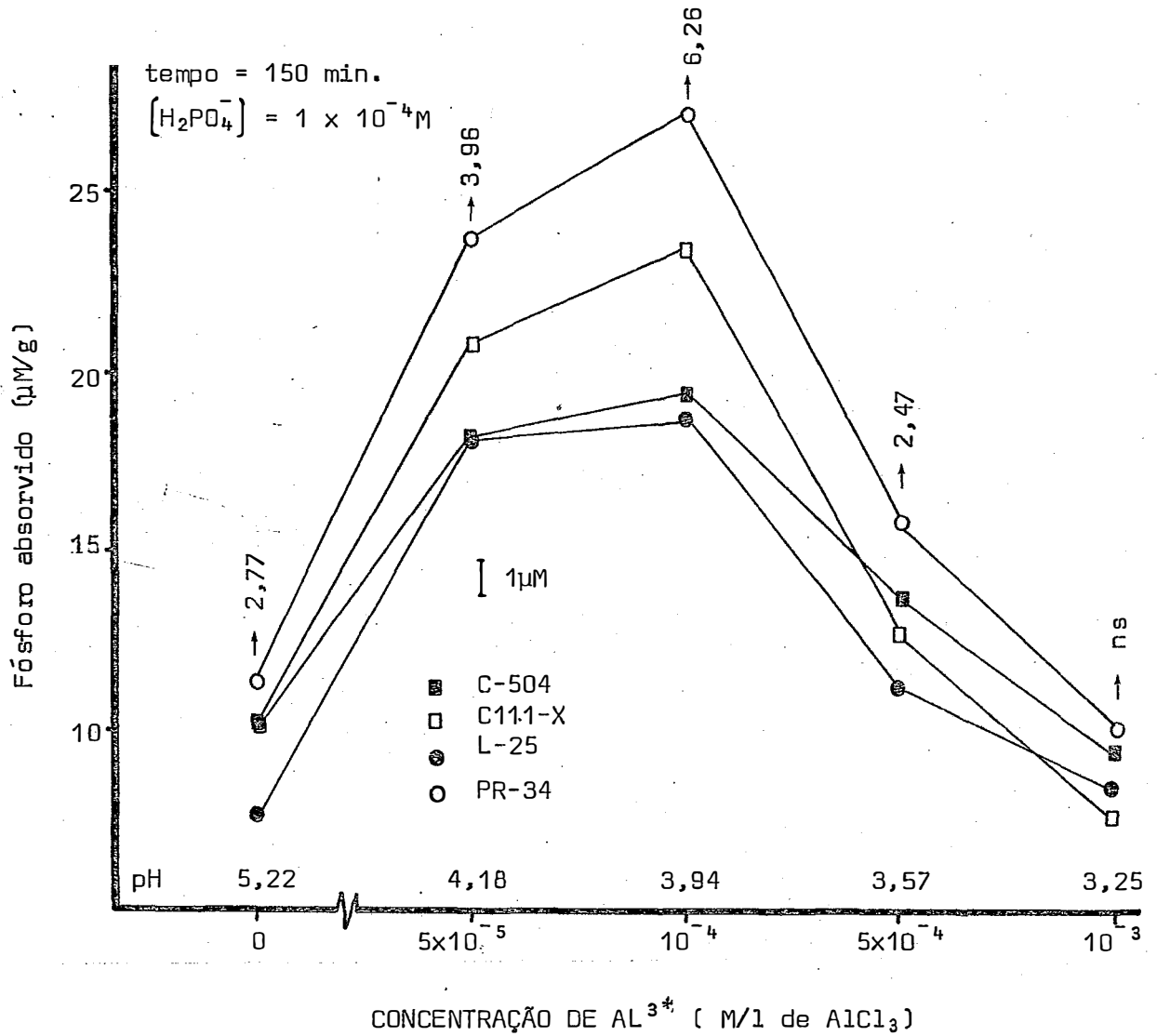


FIGURA 15: Absorção de fósforo em função da concentração do alumínio na solução de absorção sem regulagem do pH. As setas indicam valores de dms (5%).

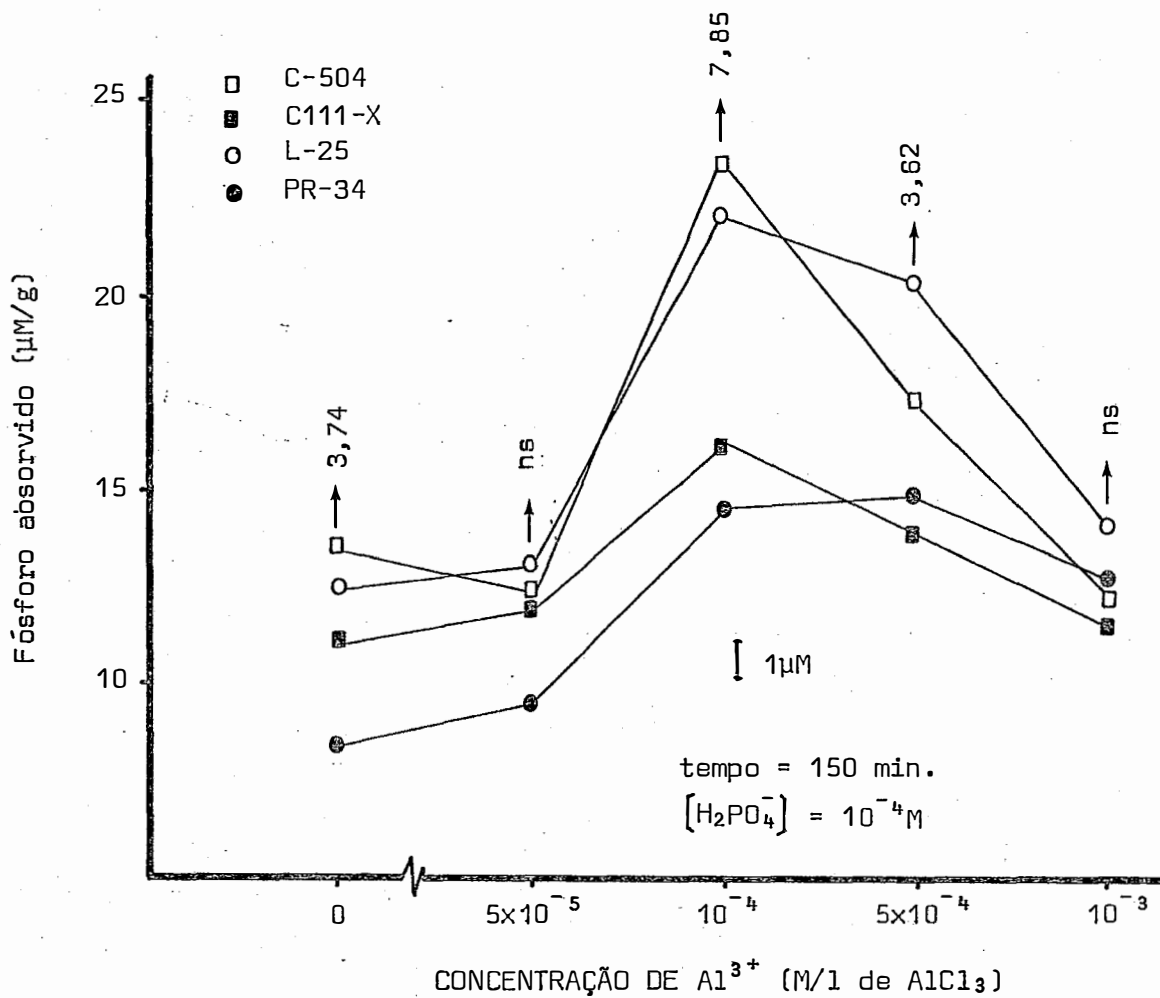


FIGURA 16: Absorção de fósforo em função da concentração de alumínio na solução de absorção a pH=4,5 (regulado com HCl ou KOH). As setas indicam valores de dms (5%).

ram pH próximos de 4, onde, de acordo com *HAGEN e HOPKIN, 1955*, o efeito competitivo do íon oxidrila ( $\text{OH}^-$ ) com o íon fosfato ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) é desprezível.

Comparando os quatro cultivares, verificou-se novamente uma similaridade entre as absorções dos cultivares C111-X e PR-34, mais tolerantes ao alumínio, e entre os cultivares C-504 e L-25, menos tolerantes ao alumínio. A diferença de absorção entre cultivares foi maior quando a estimulação do alumínio na absorção também foi maior, tendo havido diferenças estatísticas ao nível de 5% e/ou 1%, principalmente entre a linhagem PR-34 com os demais cultivares.

O efeito estimulante do alumínio ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) a baixas concentrações, pode estar associado a processos metabólicos e não metabólicos que ocorrem nas raízes. Assim, segundo *RANDALL e VOSE (1963)*, o processo é em parte metabólico, pelo fato que o emprego de inibidores da absorção, originou uma diminuição marcante da absorção de fósforo induzida pelo alumínio. Por outro lado, diversas pesquisas sobre interação fósforo-alumínio em raízes, indicam ocorrer uma reação de adsorção-precipitação na superfície celular e no espaço livre aparente (*CLARKSON, 1966; CRUZ et alii, 1967a; McCORMICK e BORDEN, 1972*). O fósforo pode ser adsorvido e precipitado pelas cargas positivas dos hidróxidos de alumínio amorfos na forma de  $\text{Al}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{PO}_4$  (*CLARKSON, 1967*). Esta hipótese tem sido reforçada por *RASMUNSEN (1968)* que verificou a presença de fosfatos e do alumínio, no mesmo local na superfície das células epidérmicas da raiz, e por *McCORMICK e BORDEN (1974)* que verificaram a ocorrência dos precipitados fosfato-alumínio, em glóbulos dispersos nas camadas mucilaginosas da superfície das raízes e na região intracelular das pontas das raízes.

A diminuição da absorção de fósforo a altos níveis de alumínio ( $10^{-3}M$ ) também é atribuída a diversas causas. Assim *RAGLAND e COLEMAN (1962)* em seus experimentos a relacionam ao produto de solubilidade do fosfato de alumínio. NO entanto *RANDALL e VOSE (1963)*, encontraram o mesmo efeito porém não relacionam ao produto de solubilidade do fosfato de alumínio mas sim, a uma inibição metabólica.

## 6. CONCLUSÕES

- i) Como era de se esperar, os quatro cultivares estudados apresentaram modelos de absorção de fósforo silimares, isto é, a absorção sempre aumentou com a concentração.
- ii) De modo geral, as maiores absorções de fósforo corresponderam aos cultivares menos tolerantes ao alumínio e as menores às mais tolerantes.
- iii) Os quatro cultivares apresentaram uma cinética de absorção de fósforo de acordo com o mecanismo multifásico, encontrando-se três fases na faixa de concentração  $1 \times 10^{-6}$  a  $1 \times 10^{-3}$  M de  $H_4PO_4$ .
- iv) Todas as fases seguiram a cinética simples de Michaelis e Menten e foram melhor estimadas através da transfor

mação de Lineweaver e Burk, do que através da transformação de Hofstee.

- v) A regularidade das faixas de concentração onde atuou cada fase, evidenciou que a natureza do carregador é a mesma para fases iguais dos cultivadores estudados.
- vi) As constantes cinéticas  $V_{max}$  e  $K_m$  evidenciaram um comportamento do carregador:
- similar entre os quatro cultivares para a fase 1;
  - mais semelhante entre híbridos duplos e entre linhagens, para a fase 2;
  - mais semelhante entre o híbrido C-504 e a linhagem L-25 (mais tolerante ao Al), e entre o híbrido C111-X e a linhagem PR-34 (menos tolerantes ao Al), para a fase 3.
- vii) A alumínio, a baixas concentrações ( $5 \times 10^{-5}$  a  $1 \times 10^{-4} M$ ), estimulou a absorção de fósforo, enquanto que, a altas concentrações ( $1 \times 10^{-3} M$ ), a inibiu.
- viii) As maiores diferenças de absorção de fósforo entre os cultivares mais tolerantes e menos tolerantes ao alumínio foram verificados quando a concentração do alumínio era igual a do fosfato ( $1 \times 10^{-4} M$ ).



## 7. SUMMARY

Two double hybrids (C-504 and C111-X) and two lines (L-25 and PR-34) of corn (*Zea mays L.*) were compared in excised root absorption experiments.

The absorption of Phosphorus was studied as follows:

1) absorption as a function of concentration in the range  $10^{-6}$  to  $10^{-3}$  M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 2) effect of time on the absorption; and 3) effect of Aluminum in concentrations in the range  $0.5 \times 10^{-4}$  to  $10^{-3}$  M  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , on Phosphorus absorption at a concentration  $10^{-4}$  M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Plants were grown in  $5 \times 10^{-5}$  M  $\text{CaCl}_2$  solution and samples of 0.5 gram were used in the absorption experiments.

The two hybrids and the two lines showed a multiphase absorption kinetics, indicating the presence of three absorption phases

in the concentration range used. All phases followed Michaelis-Menten kinetics and were better estimated when using Lineweaver-Burk's transformation, than using Hofstee's transformation.

When the absorption of Phosphorus were compared individually for each concentration, the hybrid C-504 and the line L-25, (lesstolerant to Aluminum) showed higher P absorptions than the hybrid C111-X and the line PR-34 (more tolerant to Aluminum), although only PR-34 was statistically different.

The Aluminum, at low concentrations, showed an stimulation of Phosphorus absorption whereas at higher concentrations showed an inhibition. The greatest absorption difference between plants of high and low Aluminum tolerance was observed for the same concentration of Phosphorus and Aluminum ( $1 \times 10^{-4} M$ ).

## 8. LITERATURA CITADA

ANDREW, C.S. 1966. A Kinetic Study of phosphate absorption by excised roots of *Stylosanthes humilis*, *Phaseolus lathyroides*, *Desmodium uncinatum*, *Medicago sativa* and *Hordeum vulgare*. Aust. J. Agric. Pes. Victoria. 17:611-24

ALAGARSWAMY, G; TANG VAN HAI; M.J. RISSEL; H. LAUDELOUT e A. RINGOET.

1972. Analysis of Response Curves to increased phosphate concentration in intact rice and Groundnut Plants. In: IAEA, Isotopes and radiation in Soil-Plant relationships including forestry. Vienna. pp. 87-93

AWERBUCH, T e Y. AVNIMELECH 1970. Counting of  $^{32}\text{P}$  in Plant Tissues using Cherenkov effect. Plant and Soil. The Hague. 33:260-4

BARBER, D.A. 1972. 'Dual isotherms' for the absorption of ion by plant tissue. New Phytol. Osney Mead. 71:255-62.

CALZADA, J.B. 1970. Métodos Estadísticos para la investigación. 3<sup>1a</sup>. Ed. Editorial Juridica S.A. Lima. p. 643.

CARTER, O.G. e D.J. LATHWELL, 1967. Effects of temperature on orthophosphate absorption by excised corn roots. Plant Physiol. Baltimore. 42:1407-12.

CHAPIN III, F.S. e D.F. HOLLEMAN, 1974. Radioassay of <sup>32</sup>P in intact plant roots using Cerenkov radiation detection. Inter. J. Appl. Radiat. Isotopes. New York. 25:568-70

CHASE, G.D. e J.L. RABINOWITZ, 1967. Principles of Radioisotope Methodology. Third Edition. Minneapolis, Birgeess Publishing Company. 633 p.

CLARKSON, D.T. 1966. Effect of Aluminum on The Uptake and Metabolism of Phosphorus by Barley Seedlings. Plant Physiol. Baltimore. 41:165-72

CLARKSON, D.T. 1967. Interactions Between Aluminium and Phosphorus on root surfaces and cell wall material. Plant and Soil. The Haghe. 27:347-56.

CLARKSON, D.T.; J. SANDERSON e R.S. RUSSELL 1968. Ion uptake and Root Age. Nature. Londres. 220:805-6.

- EPSTEIN, E.* 1955. Passive permeation and active transport of ions in Plant Roots. Plant Physiol. Baltimore. 30:529-35
- EPSTEIN, E.* 1975. Nutrição Mineral das Plantas. Princípios e Perspectivas. Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. e Editora da Universidade de São Paulo. S.P. (Trad. E. Malavolta). p. 341.
- EPSTEIN, E. e C.E. HAGEN,* 1952. A Kinetic Study of the absorption of alkali cations by barley roots. Plant Physiol. Baltimore. 27:457-74.
- EPSTEIN, E., D.W. RAINS e E. ELZAM,* 1963. Resolution of dual mechanisms of potassium absorption by barley roots. Proc. Nat. Acad. Sci. 49:684-92.
- EPSTEIN, E. e D.W. RAINS,* 1965. Carrier-mediated cation transport in barley roots: Kinetic evidence for a Spectrum of active sites. Proc. Nat. Acad. Sci. 53:1320-24.
- FRIC, F. e V. FINOCCHIARO,* 1975. The Cerenkov Counting efficiency of  $^{32}\text{P}$  increase, using anthanilic acid or quinine as a wavelength shifter. Radiochem. Radioanal. Letters. Lausanne. 21:205-10.
- FRIC, F. e V. FINOCCHIARO,* 1976. Counting of  $^{32}\text{P}$  in intact plant materials by Cerenkov radiation detection. Radiochem. Radianal. Letters Lausanne. 25: 187-96.

FRIC, F. e V. PALOVCIKOVA, 1975. Automatic liquid scintillation counting of  $^{32}\text{P}$  in Plant extracts by measuring the Cerenkov radiation in aqueous Solutions. Intern. J. Appl. Radiat. Isotopes, New York. 28:305-11.

FRIED, M. e J.C. NOGGLE, 1958. Multiple site uptake of individual cations by roots as affected by hydrogen ion. Plant Physiol. Baltimore. 33:139-44.

FRIED, M.; K., TENSHO e F., ZSOLDOS, 1965. Effect of reduced oxygen Tension on the uptake of inorganic ions by rice and borley. In: IAEA. Isotopes and radiation in Soil-Plant Nutrition Studies. Vienna. pag. 233-240.

FOY, C.D. e J.C., BROWN, 1964. Toxid factors in acid soils: II Differential Aluminum tolerance of Plant Species. Soil Sci. Soc. Am. Proc. Madison. 28:27-32.

FOY, C.D.; G.R. BORNS; J.C. BROWN e A.L. FLEMING, 1965. Differential Aluminum Tolerance of Two Wheat varieties associated with plant induced pH changes around their roots. Soil Sci. Soc. Am. Proc. Madison. 29:64-67.

FOY, C.D.; A.L. FLEMING; G.R. BORNS e W.H. ARMEGER, 1967. Characterization of Differential Aluminum Tolerance Among varieties of Wheat and Borley. Soil Sci. Soc. Am. Proc. Madison. 31:513-20.

- HAASBOEK, F.J. e V.D. LOTZ, 1967. Assay of  $^{32}\text{P}$  in biological materials using a Cerenkov counter. South Afric. J. Agr. Sci. 10:285-8.
- HAGEN, C.E. e H.T. HOPKINS, 1955. Ionic Species in orthophosphate absorption by Barley roots. Plant Physiol. Baltimore. 30:193-99.
- HAGEN, C.E.; J.E. LEGGET e P.C. JACKSON, 1957. The sites of orthophosphate uptake by barley roots. Proc. Nat. Acad. Sci. 43:496-506.
- HARTWELL, B.L. e R.R. PEMBER, 1918. The presence of aluminum as a reason for the difference in the effect of so-called acid soil on barley and rye. Soil Sci. Baltimore. 6:259-77.
- HOAGLAND, D.R. e T.C. BROYER, 1936. General Nature of the Process of Salt Accumulation by roots with Description of experimental Methods. Plant Physiol. Baltimore. 11(3):471-507.
- HOAGLAND, D.R. e T.C. BROYER, 1940. Hydrogen-ion effects and the Accumulation of Salt by Barley roots as influenced by Metabolism. Amer. Jour. Bot. Columbus. 27:173-85.
- HODGES, T.K., 1973. Ion absorption by plant roots. Adv. Agron. Madison 25:163-207.
- HOFSTEE, B.H.J. 1952. On the evaluation of the constants  $V_m$  and  $K_m$  in Enzyme reactions. Science. 116:329-34.

- HSU, P.H. e D.A. RENNIE, 1962. Reactions of phosphate in Aluminum Systems. II Precipitation of phosphate exchangeable aluminum on a cation exchange resin. Can. J. Soil Sci. Ottawa. 42:210-211.
- HUTCHINSON, G.W. 1960. CERENKOV detectors. In: FRISCH, O.R. ed. Nuclear Physics. London, Pergamon Press, 1960. v. 8, cap. 5, p. 195-236.
- IAEA. 1976. Ion uptake in: Tracer Manual on crops Soils. Vienna, p.163-75 (Technical reports series nº 171).
- JACKSON, M.L. 1964. Análisis Químico de Suelos. Ed. Omega S.A. Barcelona. p. 662.
- JACKSON, P.C.; S.B. HENDRICKS e B.M. BASTA, 1962. Phosphorylation by Barley root Mitochondria & Phosphate Absorption by Barley Roots. Plant Physiol. Baltimore. 37:8-17.
- JACOBSON, L.; R. OVERSTREET; R.M. CARLSON e J.K. CHASTAIN, 1957. The effect of pH and Temperatura on the absorption of Potassium and bromide by barley roots. Plant Physiol. Baltimore. 32:658-62.
- JUNGK, A. S.A. BARVER, 1975. Plant Age and the phosphorus uptake characteristics of Trimmed and Untrimmed corn root systems. Plant and Soil. The Hague. 42:227-39.
- LAUCHLI, A. 1969. Radioassay for  $\beta$ -emitters in Biological materials using Cerenkov Radiation. Intern. J. Appl. Radiat. Isotopes. New York. 20:265-70.



- LEE, C.R. 1971. Influence of aluminum on Plant Growth and Mineral Nutrition of Potatoes. Agron. J. Madison. 63:604-08.
- LINASK, J. e G.G. LATIES. 1973. Multiphasic Absorption of Glucose and 3-O-Methyl Glucose by Aged Potato Slices. Plant Physiol. Baltimore. 51:289-94.
- LINEWEAVER, H. e D. BURK, 1934. The determination of Enzyme dissociation constants. J. Amer. Chem. Soc. 56:658-66.
- LOURENÇO, S. 1967. Absorção de fósforo por raízes destacadas de cevada (*Hordeum vulgare*) em presença de Magnésio. Piracicaba, SP., p. 29. Dissertação (Mestre) ESALQ.
- LOUGHMAN, B.C. e G. RUSSEL, 1957. The absorption and utilization of phosphate by young barley plants. IV The inicial stages of phosphate. J. Exptl. Botany. 8:280-85.
- MacKENZIE, A.J. e L.A. DEAN, 1950. Measurement of  $^{32}\text{P}$  in plant material by use of briquets. Anal. Chem. Washington. 22:289-90.
- MacLEAN, A.A. e T.C. CHIASSON, 1966. Differential performance of two barley varieties to varying aluminum concentrations. Can. J. Soil Sci. Ottawa. 46:147-153.
- MacLEOD, L.B. e L.P. JACKSON, 1967. Aluminum tolerance of two Barley varieties in Nutrient Solution, Peat, and Soil Culture. Agron. J. Madison. 59:359-63.

- McCORMICK, L.H. e F.Y. BORDEN, 1972.* Phosphate fixation by aluminum in plant roots. Soil Sci. Soc. Am. Proc. Madison. 36:799-802.
- McCORMICK, L.H. e F.Y. BORDEN, 1974.* The occurrence of Aluminum-Phosphate Precipitate in Plant Roots. Soil Sci. Soc. Am. Proc. Madison. 38:931-34.
- MALAVOLTA, E. 1976.* Manual de Química Agrícola. Nutrição de Plantas e Fertilidade do Solo. Editora Agronomica Ceres Ltda. São Paulo. p. 528
- MALAVOLTA, E.; J.R. SARRUJE e V.C. BITTENCOURT, 1977.* Toxidez de Alumínio e de Manganês. In: IV Simpósio sobre o Cerrado. Ed. Itatiaia Ltda. Belo Horizonte. p. 275-301.
- MICHAELIS, L. e MENTEN, M. 1913.* Die Kinetik der Invertinwirkung. Biochem. Z. 49:333-69.
- MOYER, 1962.* A Survey of Cerenkov Counter Technique. In: SNELL, A.H. ed. Nuclear instruments and their uses. New York. John Wiley 1962 v. 1, cap. 3, p. 166-93.
- NASCIMENTO Fº, V.F. 1977a.* Utilização do efeito Cerenkov na detecção de radionuclídeos. Emissores de Radiações Beta. Piracicaba. CENA/PLAN FAP, 67 p.
- NASCIMENTO Fº, V.F. 1977b.* Fitting a  $^{60}\text{Co}$  External Source to a liquid scintillation system for the estimation of the  $^{32}\text{P}$  Cerenkov. Effect Detection Efficiency. Intern. J. Appl. Rad. Isotopes. New York. 28:789-90.

- NASCIMENTO FO, V.F. e LOBÃO, A.O.* 1976. Detecção de  $^{32}\text{P}$  em amostra de origem animal e vegetal por efeito Cerenkov, cintilação líquida e detector G.M. CENA-BC 048 (no prelo).
- NIEMANN, E.G.; W. CLAUSSEN e P. QUAST.* 1972. Influence of Root temperature and  $\text{O}_2$  supply on the phosphorus uptake of tomato seedlings. In: IAEA. Isotopes and radiation in Soil-Plant relationships including Forestry. Vienna. p. 41-47.
- NISSEN, P.* 1971. Uptake of Sulfate by roots and leaf Slices of barley: Mediated by Single Multiphasic Mechanisms. Physiol. Plant. Copenhagen 24:315-324.
- NISSEN, P.* 1973a. Kinetic of ion uptake in higher plants. Physiol. Plant Copenhagen. 28:113-120.
- NISSEN, P.* 1973b. Multiphasic uptake in plants. I. Phosphate and Sulfate Physiol. Plant. Copenhagen. 28:304-316.
- NISSEN, P.* 1973c. Multiphasic uptake in plants. II. Mineral cations, chloride, and boric acid. Physiol. Plant. Copenhagen. 29:298-354.
- NISSEN, P.* 1974. Uptake Mechanisms: Inorganic and organic. Ann. Rev. Plant Physiol. California. 25:53-79.
- NISSEN, P.* 1976. Multiphasic Hexose uptake in *Chorella*. Physiol. Plant Copenhagen. 36:321-324.

- NISSEN, P.* 1977. Ion uptake in Higher Plants and KCl stimulation of plasmalemma Adenosine Triphosphatase: Comparison of Models. Physiol. Plant. Copenhagen. 40:205-14.
- NOGGLE, J.C. e M. FRIED,* 1960. A Kinetic Analysis of Phosphate Absorption by Excised Roots of Millet, Barley, and Alfalfa. Soil Sci. Am. Soc. Proc. Madison. 24:33-35.
- NYE, P.H. e P.B. TINKER,* 1977. Solute Movement in the soil-root system. Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford-Londres. p. 342.
- PHILLIPS, J.W.; D.E. BAKER e C.O. CLAGETT.* 1971. Kinetics of P absorption by excised roots and leaves of corn hybrids. Agron. J. Madison. 63:517-20.
- PIMENTEL GOMES, F.* 1973. Estatística Experimental. 5<sup>ta</sup> Edição. Ed. Livraria Nobel S.A. São Paulo, p. 430.
- RAGLAND, J.L. e N.T. COLEMAN,* 1962. The influence of aluminum on phosphorus uptake by snap bean roots. Soil Sci. Soc. Am. Proc. Madison. 26:88-90.
- RAINS, D.W.; W.E. SCHMID e E. EPSTEIN,* 1964. Absorption of Cations by roots. Effects of hydrogen ions and essential role of calcium. Plant Physiol. Baltimore. 39:274-78.
- RANDALL, P.J. e P.B. VOSE,* 1963. Effect of Aluminum on uptake & translocation of phosphorus by Perennial Ryegrass. Plant Physiol. Baltimore. 38:403-9.

RASMUSSEN, H.P. 1968. The mode of entry and distribution of aluminum in *Zea mays*: electron microprobe X-Ray analysis. Planta. 81:28-37.

ROSS, H.H. e G.T. RASMUSSEN, 1974. Modern Techniques and applications in Cerenkov counting. In: STANLEY, P.E. e SCOGGINS, B.A., ed. Liquid Scintillation counting recent developments. New York. Academic Press p. 363-82.

STEEL, R.G.D. e J.H. TORRIE, 1960. Principles and Procedures of Statistics. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York, p. 484.

SARRUGE, J.R.; J. BIASI; P.R. CASTRO; B.V. DEFELIPO; F.J. KRUG e M. MOREL LI, 1973. Cinética da absorção de cálcio na presença de magnésio em células foliares de cafeeiro (*Coffea arabica* L. cv *Mundo Novo*). Anais da E.S.A. "Luiz de Queiróz". Piracicaba, SP. XXX:441-56.

TANADA, T. 1956. Effect of Ribonuclease on sol absorption by excised Mung Bean Roots. Plant Physiol. Baltimore. 31:251-53.

VANT FLEET, D.S. 1961. Histochemistry and Functions of the endodermis. Bot. Rev. New York. 27:165-220.

VOSE, P.B. 1963. Varietal Differences in Plant Nutrition. Herbage Abstrats. Farnham Royal. 33:1-13.

VOSE, P.B. 1965. The concept, application and investigation of Nutritional Variation withing crop species. In: IAEA, Isotopes in plant nutrition and physiology. Vienna. p. 539-47.

*WHITE, R.P. e B.J. ELLIS, 1968.* Routine Counting of  $^{32}\text{P}$  colored solutions from dry ashed plant samples utilizing Cerenkov radiation. Soil Sci. Soc. Am. Proc. Madison. 32:740-41.

A P E N D I C E

TABELA A-1: Absorção de fósforo por raízes destacadas de milho (cpm/g e  $\mu\text{M/g}$ ) usando-se o Geiger Muller (GM) e o efeito Cerenkov (E.C.) na detecção do  $^{32}\text{P}$ . Dados médios de 3 repetições.

Fósforo na solução de Absorção (M/l)	GEIGER MULLER		EFEITO CERENKOV		RELAÇÃO $\frac{\text{cpm(EC)}}{\text{cpm(GM)}}$
	cpm/g	$\mu\text{M/g}$	cpm/g	$\mu\text{M/g}$	
$1 \times 10^{-5}$	161.139	$1,21 \pm 0,42$	3.172.863	$1,73 \pm 0,45$	19,69
$1 \times 10^{-4}$	42.351	$3,16 \pm 0,31$	682.056	$3,74 \pm 0,51$	16,13
$1 \times 10^{-3}$	11.441	$8,53 \pm 0,32$	163.101	$10,01 \pm 0,77$	16,00

Tempo de absorção: 60 min.

Atividade das soluções de absorção:  $\sim 50 \mu\text{Ci/l}$



TABELA A-2: Absorção de fósforo ( $\mu\text{M}/\text{gl}$ ) em função de solução de crescimento, idade das raízes e solução de absorção. Dados médios de seis repetições.

IDADE (dias)	Sol. Crescimento : $\text{H}_2\text{O} + \text{CaCl}_2$		Sol. Crescimento : Nutritiva - P	
	Sol. Absorção $\text{H}_2\text{O} + \text{P}$	Sol. Absorção Nutritiva + P	Sol. Absorção $\text{H}_2\text{O} + \text{P}$	Sol. Absorção Nutritiva + P
15	$15,07 \pm 1,82$	$17,77 \pm 4,59$	$12,43 \pm 1,57$	$15,44 \pm 4,51$
20	$12,44 \pm 1,72$	$16,64 \pm 2,00$	$8,87 \pm 2,14$	$12,96 \pm 2,25$
25	$9,69 \pm 1,35$	$13,02 \pm 2,34$	$7,63 \pm 1,38$	$11,14 \pm 1,96$

Tempo de absorção: 150 min.

Concentração de P:  $1 \times 10^{-4}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

TABELA A-3: Absorção de fósforo em função do tempo, dos quatro cultivares de milho, para a concentração  $1 \times 10^{-6}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . (Médias de três repetições).

TEMPO (min)	Fósforo absorvido $\times 10^3$ ( $\mu\text{M/g}$ )					
	CULTIVARES				CV (%)	dms (5%)
	C-504	C111-X	L-25	PR-34		
5	48	43	45	37	19,17	ns
10	90	82	95	73	15,07	ns
20	161	147	161	136	14,43	ns
30	241	220	238	195	14,56	ns
CV (%)	16,58	19,35	13,62	18,02		
dms (5%)	47,58	50,67	38,91	42,26		
dms (1%)	62,90	66,85	51,33	55,76		

ns = não significativo

TABELA A-4: Absorção de fósforo em função do tempo dos quatro cultivares, da concentração,  $1 \times 10^{-4}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Médias de três repetições)

Fósforo absorvido ( $\mu\text{M/g}$ )						
TEMPO (min)	CULTIVARES				CV (%)	dms (5%)
	C-504	C111-X	L-25	PR-34		
2	0,16	0,14	0,19	0,13	20,56	ns
15	0,92	0,85	1,11	0,83	19,75	ns
30	1,87	1,76	2,09	1,47	11,89	0,45
60	4,55	4,57	5,27	3,59	12,02	1,15
90	7,82	6,47	7,98	5,94	10,18	1,52
120	8,72	8,43	9,69	6,71	7,00	1,24
150	10,66	10,22	11,36	7,61	12,46	2,64
CV (%)	13,51	16,62	14,67	12,59		
dms (5%)	0,51	0,58	0,60	0,36		
dms (1%)	0,63	0,73	0,74	0,46		

ns = não significativo

TABELA A-5: Absorção de fósforo em função do tempo, para os quatro cultivares na concentração  $5 \times 10^{-4}$  M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . (Média de três repetições).

Fósforo absorvido ( $\mu\text{M/g}$ )							
TEMPO (min)	CULTIVARES					CV (%)	dms (5%)
	C-504	C111-X	L-25	PR-34			
5	0,71	0,70	0,70	0,53	19,25	ns	
10	1,19	1,05	1,28	0,96	11,13	ns	
20	2,44	2,22	2,38	2,04	15,17	ns	
30	3,63	3,21	3,76	2,88	16,59	ns	
CV	15,20	13,25	19,33	23,83			
dms (5%)	0,67	0,49	0,83	0,77			
dms (1%)	0,89	0,65	1,10	1,02			

ns = não significativo

TABELA A-6: Absorção de fósforo em função da concentração de alumínio na solução de absorção ( $1 \times 10^{-4}$  M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), sem regulagem do pH. Dados médios de quatro repetições.

Fósforo absorvido ( $\mu\text{M/g}$ )						
[ $\text{AlCl}_3$ ] (M)	CULTIVARES					dms (5%)
	C-504	C111-X	L-25	PR-34	CV	
0	10,36	10,22	11,36	7,60	12,96	2,77
$5 \times 10^{-5}$	20,88	18,12	23,78	18,17	9,03	3,96
$1 \times 10^{-4}$	23,56	19,39	27,23	18,77	13,60	6,26
$5 \times 10^{-4}$	12,74	13,67	15,74	11,22	9,56	2,47
$1 \times 10^{-3}$	7,82	9,60	10,11	8,30	14,45	ns
CV	11,98	13,34	10,98	11,74		
dms (5%)	3,27	3,67	2,68	2,14		

ns = não significativo

tempo de absorção = 150 min.

TABELA A-7: Absorção de fósforo em função da concentração de alumínio na solução de absorção ( $1 \times 10^{-4}$  M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) a  $\text{pH}=4,5$  (regulado com  $\text{HCl}$  ou  $\text{KOH}$ ). Dados médios de quatro repetições.

Fósforo absorvido ( $\mu\text{M/g}$ )							
[ $\text{AlCl}_3$ ] (M)	CULTIVARES					CV	dms (5%)
	C-504	C111-X	L-25	PR-34			
0	13,77	10,42	12,72	8,52	14,51	3,74	
$5 \times 10^{-5}$	12,40	12,10	13,19	9,56	15,28	ns	
$1 \times 10^{-4}$	23,64	16,42	22,20	14,70	19,26	7,85	
$5 \times 10^{-4}$	17,44	14,02	20,50	15,00	10,97	3,62	
$1 \times 10^{-3}$	12,39	11,66	14,23	12,87	16,13	ns	
CV	13,08	16,87	15,17	14,39			
dms (5%)	4,65	4,49	4,85	3,40			

ns = não significativo

tempo de absorção = 150 min.