Universidade de São Paulo

Centro de Energia Nuclear na Agricultura

Mineralização de fósforo do adubo verde e sua absorção por plantas de arroz

Tatiana Marsola

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente.

Piracicaba
2008

Tatiana Marsola

Engenheiro Agrônomo

Mineralização de fósforo do adubo verde e sua absorção por plantas de arroz

Orientador: Prof. Dr. Takashi Muraoka

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente.

Piracicaba
2008

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Marsola, Tatiana
Mineralização de fósforo do adubo verde e sua absorção por plantas de arroz / Tatiana Marsola; orientador Takashi Muraoka. - - Piracicaba, 2008.
112 f. : fig.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Aveia forrageira 2. Crotalária 3. Fósforo 32 4. Fracionamento de fósforo 5. Marcadores isotópicos 6. Milheto 7. Nabo I. Título

CDU [631.874+581.133.5]:621.039.85

Dedico,

Aos meus pais, Dirceu e Lourdes, que sempre estiveram comigo e que foram capazes de compreender minha ausência em tantos momentos de suas vidas.

Às minhas queridas irmãs, Janaína e Daniele, que são meus amores, e aos meus sobrinhos João Vitor e Lucas, que são minha alegria.

Ao Fábio, que em todos os aspectos é o ponto forte da minha vida, dedico todo meu amor e carinho e agradeço pelo seu incentivo incondicional nas etapas mais difíceis deste trabalho.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Takashi Muraoka pela orientação, incentivo e grande amizade;

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura e a Universidade de São Paulo pela oportunidade de realização do curso;

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado;

Aos professores Dr. Antonio Enedi Boaretto (CENA/USP), Dr. Willian Natale (Unesp/Jaboticabal) e Dr. Raffaella Rosseto (APTA/Piracicaba) pelas preciosas discussões no exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. Fábio Rodrigo Piovezani Rocha, do Instituto de Química (IQ-USP), pelo grande auxílio na determinação das frações de fósforo e total dedicação à revisão do texto, meu carinhoso agradecimento;

À minha querida amiga Fernanda Latanze Mendes, que participou de todas as etapas deste trabalho, desde a coleta de solo a análise estatística e revisão do texto. Muito obrigada, pois sem você o trabalho seria muito mais tedioso;

Aos amigos Denis, Vinícius, Raul, Héctor, Freddy, Edson, Zaqueu e Felipe pelos momentos de alegria na "salinha";

Aos funcionários do Laboratório de Fertilidade de Solos, Marileuza, Sandra e João, pelo auxílio nas análises e grande amizade.

Às funcionárias Henriqueta e Fernanda Meucci pelo carinho e palavra amiga;

Às minhas queridas amigas Ana Cristi, Viviane e Ariana pela paciência nos momentos difíceis e carinho constante;

À família Piovezani, em especial a Mazé e Lita, que me acolheram em sua casa e me proporcionaram momentos tão felizes;

Aos mais novos amigos do Instituto de Química da Universidade de São Paulo: Wanessa, Mariana, Sidney, Diogo, Erlando, Carlos, Graziele, Cassiana, Juliana, Thiago e Pedro Vitoriano, por todos os momentos felizes;

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação do CENA pela prontidão nos serviços prestados.

Às tão queridas e eficientes funcionárias da biblioteca do CENA;

A todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Resumo

MARSOLA, T. **Mineralização de fósforo do adubo verde e sua absorção por plantas de arroz**. 2008. 112 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

Em sistemas de plantio direto, o material vegetal incorporado libera fósforo solúvel no solo, porém, sua absorção por plantas subseqüentes ainda é pouco conhecida. Parte do fósforo nos tecidos vegetais está na forma de compostos insolúveis, que precisam ser mineralizados para serem absorvidos pelas plantas. Os objetivos deste trabalho foram estabelecer a melhor época de aplicação de ^{32}P para marcação de plantas de adubo verde; determinar as formas de P nas plantas; determinar as principais formas de fósforo no solo após a incorporação de diferentes espécies de adubo verde; estimar a eficiência dos adubos verdes no fornecimento de P para plantas de arroz, e determinar a relação entre as formas de P nas plantas de adubo verde e sua mineralização no solo. Os experimentos foram conduzidos em duas etapas. Na Etapa 1 foram marcadas com ^{32}P plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro na semeadura e aos 14, 28 e 42 dias. Estas plantas foram incubadas e utilizadas como adubo verde no cultivo de arroz. As plantas de arroz apresentaram eficiência de utilização de P semelhantes para adubos verdes marcados até 28 dias, podendo ser utilizada uma atividade 75% menor para marcação dessas espécies. Na etapa 2 foram cultivadas plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P aos 14 dias. Foi verificado que a maioria do P nas plantas está na forma solúvel, correspondendo em média 67% do $^{32}P_t$. Essas plantas foram incubadas por 20, 40 e 60 dias e cultivadas plantas de arroz. A eficiência de utilização do P proveniente de adubo verde foi maior para incubação por 20 e 60

dias, diminuindo consideravelmente para incubação por 40 dias. Foram determinadas as frações de P no solo incubado com adubo verde nos diferentes períodos de incubação, utilizando o método de Hedley. A fração P_i-resina e P-$NaHCO_3$, que correspondem ao P-lábil, apresentaram as maiores atividades específicas, demonstrando que a maior parte do P solúvel do adubo verde são encontrados nessas frações. A fração P_o-NaOH apresentou as maiores concentrações de P, enquanto as menores foram encontradas na fração P-HCl.

Palavras-chave: Marcação de plantas, ^{32}P, Fracionamento de P, Períodos de incubação, Aveia-preta, Crotalária, Milheto, Nabo forrageiro.

Abstract

MARSOLA, T. **Mineralization of green manure phosphorus and its absorption by rice plants**. 2008. 112 f. Thesis (Doctoral) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

In no-tillage systems, plant materials incorporated into soil release soluble phosphorus, but its absorption by subsequent plants is not completely clarified. A fraction of phosphorus in vegetal tissues is in the form of insoluble species, which require mineralization to be absorbed by plants. The aims of this work were to establish the best period for ^{32}P application for green manure labeling; to determine the forms of P in plants and in soil after incorporation of different green manures; to estimate the efficiency of green manures for supplying phosphorus to rice plants and to determine the relationship between the P species in green manure and their mineralization in soil. The experiments were carried out in two steps. In the first, plants of black oat, millet and turnip were labeled with ^{32}P at sowing and after 14, 28 and 42 days. These plants were incubated and used as green manure for rice plants. The rice plants showed similar utilization efficiencies of P form green manure plants labeled up to 28 days, making possible the use of a 75% lower activity to label these plants. In step two, black oat, sunnyhemp and turnip plants labeled with ^{32}P after 14 days from sowing were grown. It was verified that the more significant fraction of P in plants is in the soluble form, corresponding in average 67% of $^{32}P_t$. These plants were incubated for 20, 40 and 60 days before culturing rice plants. The utilization efficiency of P from green manure sources was higher when the material was incubated for 20 and 60 days, being considerably reduced for 40 days incubation.

The P-fractions in the soil incubated with green manure in different periods were determined by the Hedley method. The P_i-resin and P-$NaHCO_3$ fractions, which correspond to labile P, showed the highest specific activities, because the most significant part of the soluble P was found in these fractions. The P_o-NaOH fraction showed the highest concentrations of P, while the lowest amounts were in the P-HCl fraction.

Keywords: Labelling with ^{32}P, P fractionation, Incubation periods, Black oat, Sunnyhemp, Millet, turnip.

Lista de Figuras

Figura 3.1 – Estrutura do di-fosfato éster de inositol 29

Figura 3.2 – Fluxo de fósforo do adubo verde no solo e absorção pela planta. 31

Figura 4.1 – Fluxograma das etapas do fracionamento de fósforo no solo. 54

Figura 4.2 – Diagrama de fluxos do módulo de análises para determinação das frações de P no solo. 58

Figura 5.1 – Produção de massa seca das plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. 60

Figura 5.2 – Atividades específicas das plantas de adubo verde marcadas com ^{32}P. 61

Figura 5.3 – Concentrações de P total, P total solúvel, P inorgânico solúvel e P orgânico solúvel em plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. 63

Figura 5.4 – Eficiência de utilização do fósforo nas plantas de arroz adubadas com aveia-preta, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. 65

Figura 5.5 – Massa seca da parte aérea das plantas de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro, marcadas e não-marcadas com ^{32}P e raiz das plantas não-marcadas. 68

Figura 5.6 – Concentração de P total, P total solúvel, P inorgânico solúvel e P orgânico solúvel nas misturas das repetições das plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. 72

Figura 5.7 – Atividade específica do P total e P total solúvel na parte aérea das plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. 74

Figura 5.8 – Concentração de P nas plantas de arroz adubadas com aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro. 76

Figura 5.9 – Eficiência de utilização de fósforo nas plantas de arroz adubadas com parte aérea de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. 78

Figura 5.10 – Concentração de matéria orgânica (a) e P-microbial (b) no solo incubado com aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro. 91

Lista de Tabelas

Tabela 3.1 – Variação da atividade de ^{32}P, espécie de adubo verde e períodos de cultivo para diferentes estudos com marcação de plantas. 42

Tabela 4.1 – Principais características químicas do solo (LVA) utilizado na produção e incubação de adubo verde e plantio de arroz. 45

Tabela 5.1 – Produção total de massa seca da parte aérea (PA) e raiz das plantas de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro. 70

Tabela 5.2 – Fósforo total aplicado no solo proveniente de parte aérea marcada com ^{32}P e parte aérea e raiz não-marcadas de plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro. 73

Tabela 5.3 – Concentração das frações de P e atividade específica das plantas de adubo verde marcadas com ^{32}P. 81

Tabela 5.4 – Concentração de P_i, extraído com resina, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal. 83

Tabela 5.5 – Atividade específica de ^{32}P, extraído com resina, no solo incubado com parte aérea de adubo verde marcado com ^{32}P. 83

Tabela 5.6 – Concentração de P, extraído com $NaHCO_3$, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal. 86

Tabela 5.7 – Atividade específica de ^{32}P, extraído com $NaHCO_3$, no solo incubado com parte aérea de adubo verde marcado com ^{32}P. 86

Tabela 5.8 – Concentração de P-microbial no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal. 89

Tabela 5.9 – Concentração de P inorgânico (P_i), extraído com NaOH, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal. 92

Tabela 5.10 – Concentração de P orgânico (P_o), extraído com NaOH, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal. 93

Tabela 5.11 – Atividade específica de ^{32}P, extraído com NaOH, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. 95

Tabela 5.12 – Concentração de P, extraído com HCl, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal. 96

Tabela 5.13 – Atividade específica de ^{32}P, extraído com HCl, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. 96

Tabela 5.14 – Concentração de P-residual no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal. 98

Tabela 5.15 – Atividade específica de ^{32}P-residual no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. 99

Lista de Abreviaturas

A – atividade

Ae – atividade específica

CTC – capacidade de troca catiônica

EU – eficiência de utilização

FIA – Análise por injeção em fluxo (*do inglês Flow injection analysis*)

LVA – latossolo vermelho amarelo

MO – matéria orgânica

P_i – fósforo inorgânico

P_{is} – fósforo inorgânico solúvel

P_o – fósforo orgânico

P_{os} – fósforo orgânico solúvel

P_t – fósforo total

P_{ts} – fósforo total solúvel

%Pppav – porcentagem de fósforo na planta proveniente do adubo verde

PRNT – poder real de neutralização total

QPpav – quantidade de fósforo na planta proveniente do adubo verde

SB – soma de bases

SFT – superfosfato triplo

V% - Saturação de bases

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 16

2 OBJETIVOS 19

3 REVISÃO DE LITERATURA 20

3.1 Sistemas de Plantio Direto e Adubação Verde 20

3.2 Fósforo em Plantas 22

3.2.1 Frações de Fósforo em Plantas 23

3.3 Fósforo em Plantas de Arroz 25

3.4 Fósforo no Solo 26

3.3.1 Fósforo Orgânico no Solo 28

3.3.2 Fracionamento de Fósforo no Solo 33

3.2 Uso de ^{32}P em Estudos de Fertilidade do Solo 40

3.3 Uso de ^{32}P em Estudos de Adubação Verde 41

4 MATERIAIS E MÉTODOS 45

4.1 Etapa 1 – Épocas de Aplicação de ^{32}P 45

4.1.1 Caracterização do solo utilizado nos experimentos 45

4.1.2 Marcação de Plantas de Adubo Verde 46

4.1.3. Frações de Fósforo nas Plantas de Adubo Verde 47

4.1.4 Determinação de ^{32}P nas Plantas de Adubo Verde.....48

4.1.5 Incubação das Plantas de Adubo Verde 49

4.1.6 Cultivo de Plantas de Arroz 49

4.2 Etapa 2 – Mineralização de Fósforo no Solo 51

4.2.1 Marcação de Plantas de Adubo Verde 51

4.2.2 Incubação das Plantas de Adubo Verde 52

4.2.3 Cultivo das Plantas de Arroz 53

4.2.4 Frações de Fósforo no Solo 53

4.3 Análise Estatística 58

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 59

5.1 Etapa 1 – Épocas de Aplicação de ^{32}P 59

5.1.1 Marcação de Plantas de Adubo Verde 59

5.1.2 Eficiência de Utilização de Fósforo nas Plantas de Arroz 64

5.2 Etapa 2 – Mineralização de Fósforo no Solo 67

5.2.1 Produção de Adubo Verde Marcado.....67
5.2.2 Absorção de Fósforo por Plantas de Arroz.....75
5.2.3 Frações de Fósforo no Solo.....81

6 CONCLUSÕES.....100

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....101

1 INTRODUÇÃO

Várias técnicas agrícolas têm sido desenvolvidas com o intuito de aumentar a produção de alimentos e diminuir o impacto ambiental. Uma das tecnologias desenvolvidas foi o sistema de plantio direto que consiste em manter o solo coberto pela palhada do cultivo anterior, minimizando o impacto causado pela aração e gradagem. Este biossistema fornece o ambiente adequado para decomposição do material vegetal e liberação dos nutrientes para as plantas subseqüentes.

O fósforo é um dos nutrientes mais limitantes em lavouras cultivadas em solos tropicais, devido a sua complexa dinâmica no solo, baixa mobilidade e baixo aproveitamento pelos vegetais. O P acumula-se na camada superficial em sistemas de plantio direto, porém, não se conhece a real contribuição dos adubos verdes no reservatório de P no solo.

Para outros nutrientes, como nitrogênio e enxofre, as técnicas isotópicas têm sido uma ferramenta imprescindível nos estudos da dinâmica no solo e da contribuição dos adubos verdes na nutrição de plantas cultivadas. Isto é possível, graças a disponibilidade de isótopos com características adequadas para experimentos de longa duração, o ^{15}N, estável e o radioisótopo ^{35}S com meia vida de 87,1 dias.

O radioisótopo ^{32}P tem permitido vários estudos sobre fertilidade do solo e nutrição de plantas, entretanto, devido à sua meia vida de 14,3 dias, o ^{32}P não permite experimentos de longa duração, como os requeridos em estudos de

adubação verde. Outro radioisótopo do fósforo é o ^{33}P (meia vida de 25,3 dias), que por se importado seu uso torna-se inviável.

São escassos os trabalhos envolvendo técnicas isotópicas no estudo da mineralização do fósforo proveniente da adubação verde, apesar da sua importância agronômica. Experimentos desta natureza necessitam de uma dose inicial de ^{32}P elevada, uma vez que o radioisótopo é fornecido na semeadura das plantas com o objetivo de obter marcação homogênea ao final de um período. Assim, torna-se evidente a necessidade da otimização das doses de ^{32}P empregadas na marcação de plantas de adubo verde.

Experimentos realizados anteriormente (MARSOLA, 2003) mostraram que a aplicação de ^{32}P 14 dias após a semeadura não afeta a homogeneidade de marcação em plantas de crotalária, mesmo empregando uma atividade até 50% menor. Entretanto, para outras espécies de adubo verde não se conhece o comportamento do ^{32}P nos tecidos, necessitando avaliar as atividades a serem aplicadas e a época de marcação para essas plantas. Desta forma, a marcação tardia seria uma alternativa à marcação na semeadura, otimizando a quantidade aplicada de radioisótopo.

O fracionamento de fósforo no solo se baseia na adição seqüencial de diferentes soluções, ácidas e básicas, numa mesma amostra, para a extração do fósforo ligado a diversos componentes do solo. Utilizando-se essa seqüência de extração podem-se distinguir P orgânico e inorgânico nas formas lábil, pouco lábil e não-lábil, determinando-se as quantidades de fósforo disponíveis ou não ás plantas.

As hípoteses deste trabalho baseiam-se nos fatos:

- plantas de adubo verde marcadas com ^{32}P em diferentes períodos de desenvolvimento são homogêneas quanto a distribuição de fósforo em seus tecidos. Portanto, a marcação tardia destas plantas seria uma alternativa à marcação na semeadura, otimizando a quantidade aplicada de radioisótopo;
- o material vegetal incorporado ao solo libera fósforo solúvel para as plantas posteriores, porém, este elemento pode ser rapidamente adsorvido às partículas de argila. Entretanto, parte do fósforo presente nas plantas de adubo verde está na forma insolúvel, como compostos fosfatados que precisam ser mineralizados para serem absorvidos pelas plantas. A determinação das frações de fósforo em plantas de adubo verde marcadas com ^{32}P, sua incubação e posterior análise das frações no solo e cultivo de uma planta teste, podem esclarecer os mecanismos de mineralização e dinâmica do fósforo proveniente de adubo verde.

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são estabelecer a melhor época de aplicação de ^{32}P para marcação de plantas de adubo verde; determinar as formas de P nas plantas; determinar as principais formas de fósforo no solo após a incorporação de diferentes espécies de adubo verde; estimar a eficiência dos adubos verdes no fornecimento de P para plantas de arroz, e determinar a relação entre as formas de P nas plantas de adubo verde e sua mineralização no solo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 SISTEMAS DE PLANTIO DIRETO E ADUBAÇÃO VERDE

A aração e a gradagem dos solos foram a principal prática agrícola brasileira até a década de 70, quando o sistema de plantio direto foi introduzido no Estado do Paraná. Este sistema surgiu com o intuito de minimizar o impacto causado pelo revolvimento do solo, visando diminuir a erodibilidade, melhorar o desenvolvimento das culturas e aumentar o teor de matéria orgânica e a disponibilidade de nutrientes ao longo do tempo (LOPES et al., 2004; MUZILLI, 1981).

O sistema de plantio direto consiste em manter os restos culturais do plantio anterior, sejam eles de uma cultura comercial ou adubos verdes. Segundo Calegari (1998), adubação verde é a utilização de plantas em rotação, sucessão ou consorciadas a outros cultivos, incorporando-as ao solo ou deixando-as em superfície. Esta cobertura do solo facilita o armazenamento de água, diminui a incidência de plantas daninhas, melhora a textura e a estrutura das partículas do solo e aumenta o teor de matéria orgânica do solo. A decomposição do material vegetal ocasiona a mineralização dos compostos orgânicos e liberação dos nutrientes minerais para as plantas cultivadas posteriormente. Dentre eles, destacam-se o nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre (AMBROSANO et al., 1997; CALEGARI, 1995; DERPSCH; CALEGARI, 1992; ATALLAH; LOPEZ-REAL, 1991;).

Diversos estudos têm comprovado o aumento da produção com a utilização de plantas de adubo verde. Derpsch e Calegari (1992) avaliaram a produção de milho, soja e feijão cultivados sobre várias espécies de adubo verde.

Concluíram que o maior rendimento da soja foi obtido sobre aveia preta (2670 kg ha^{-1}), superior aos demais tratamentos em 700 kg ha^{-1}. A produtividade de milho cultivado sobre tremoço branco atingiu 6410 kg ha^{-1}, sendo que o cultivo com pousio de inverno produziu 6110 kg ha^{-1}. A cultura do feijão sobre aveia preta superou o cultivo com pousio em 340 kg ha^{-1}.

Experimentos conduzidos por Derpsch e Florentin[1], citados por Calegari (1998), mostraram que diferentes espécies de adubos verdes apresentaram importantes efeitos residuais no solo e nos rendimentos dos cultivos posteriores. A produtividade da cultura do milho cultivado sobre mucuna-preta superou em 95% a produção obtida após pousio do solo. A produtividade de milho no ano agrícola 2001/2002 teve um acréscimo de 23% quando cultivado sobre crotalária (SILVA et al., 2006a). Entretanto, Silva et al. (2006b e 2006c) observaram um aumento de 13% na produtividade de milho cultivado em sucessão a crotalária em relação ao cultivo após pousio.

Outros estudos visando elucidar os mecanismos de decomposição e mineralização dos nutrientes provenientes dos adubos verdes também foram realizados. Ribeiro (1996) avaliou o efeito de puerária e mucuna preta, marcadas com ^{35}S e ^{15}N, usadas como adubo verde para cultura do arroz. Os materiais foram incubados por períodos de 0, 7, 15, 30, 60, 120 e 180 dias. As porcentagens médias de N e S no arroz proveniente da puerária foram 8,65 e 3,52%, respectivamente. A planta de mucuna forneceu maior quantidade de N quando incubada por 60 dias (11,56%), sendo que o fornecimento de S foi maior no tempo zero (7,38%).

---

[1] DERPSCH, R.; FLORENTIN, M.A. La mucuna y otras plantas de abono verde para pequenas propriedades. Asunción, Paraguay. **Publicación miscelânea**, n. 22. MAG. 1992. 44p.

Scivittaro et al. (2000) avaliaram a contribuição de mucuna preta e uréia, marcados com ^{15}N, no conteúdo de N em plantas de milho. Observou-se que a maior parte do N nas plantas de milho provém do solo, seguida de uréia (26,84%) e mucuna preta (7,99%).

Estudos conduzidos por Silva et al. (1997) demonstram a importância da matéria orgânica na diminuição da adsorção de fósforo no solo. Foi avaliada a capacidade máxima de adsorção de fósforo em solos submetidos a diferentes manejos rotacionados com cultivo de milho. Os tratamentos em ordem decrescente de adsorção máxima foram: solo descoberto > guandu > crotalária > mucuna preta > braquiária > cerrado nativo. A adsorção de fósforo é inversamente proporcional ao teor de matéria orgânica do solo e à taxa de decomposição dos resíduos vegetais. No cultivo em solo descoberto, grande parte da matéria orgânica sofre oxidação, liberando os sítios para adsorção de fosfatos. Por outro lado, o manejo com adubo verde e cerrado nativo, devido ao maior teor de matéria orgânica, possibilitou menor adsorção de fósforo pelas partículas de solo.

A utilização de técnicas de cultivo que propiciem melhoria nas características físicas e aumento no teor de matéria orgânica do solo é essencial para uma maior disponibilidade de P para plantas cultivadas.

3.2 FÓSFORO EM PLANTAS

O fósforo está presente em todos os organismos vivos compondo diversas biomoléculas. Os compostos fosfatados encontrados nas plantas apresentam-se geralmente na forma orgânica de fosfolipídios, ácidos nucléicos (DNA e RNA), fosfato de inositol e outros ésteres fosfatos (EPSTEIN; BLOOM, 2005; STEWART; TISSEN,

1987; BIELESKI; FERGUSON, 1983). Em tecidos de plantas, o P é responsável por 0,04% da massa úmida e 0,3% da massa seca (BIELESKI; FERGUSON, 1983).

Os níveis de fósforo nas plantas variam de acordo com a espécie, o ambiente e o tipo de solo onde são cultivadas. Estudos avaliaram o nível crítico de P em plantas de soja cultivadas em diferentes solos e observaram que plantas cultivadas em solos com maior capacidade máxima de adsorção de fósforo foram mais eficientes em utilizar o menor conteúdo de P no solo (MUNIZ et al., 1985). Esse fato comprova a adaptação das plantas a condições adversas de fósforo no solo.

O P inorgânico, prioritariamente o íon $H_2PO_4^-$, é absorvido da solução do solo pelas raízes e no ambiente celular adquire papel primordial no metabolismo e fisiologia das plantas, sendo essencial na cadeia fotossintética. Na fotossíntese é produzida a molécula $NADP^+$ (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) e através de processos bioquímicos ocorre a redução de $NADP^+$ a NADPH. A liberação da energia produzida na fotossíntese se inicia com a quebra da molécula de NADPH em ATP, um processo conhecido como fofosforilação e presente em todos os vegetais (EPSTEIN; BLOOM, 2005).

3.2.1 Frações de Fósforo em Plantas

Nas plantas, o P está na forma inorgânica, não metabolizado, ou orgânica fazendo parte de biomoléculas. Também distinguem-se o P solúvel, mais facilmente liberado, e o P insolúvel, fortemente ligado às moléculas orgânicas (FURTINI NETO et al., 1998). Geralmente, mais de 50% do P presente nos tecidos de plantas está na forma inorgânica variando entre 5 e 20 mmol L^{-1} (BIELESKI; FERGUSON, 1983).

Alguns trabalhos destacaram-se no estudo das frações de P em tecidos de plantas. Hogue e colaboradores (1970) propuseram uma seqüência de extrações capaz de solubilizar as frações de fósforo inorgânico e orgânico, dentre eles as moléculas de fosfolipídios, RNA, DNA e fosfoproteínas. A metodologia de extração inicia-se com a adição de 0,2 mol L^{-1} $HClO_4$ obtendo a primeira fração de P inorgânico (P_{is}) e P orgânico solúvel (P_{os}), seguindo-se a extração com uma mistura de etanol, éter e clorofórmio a 50 ^oC, 0,5 mol L^{-1} KOH e 5% $HClO_4$, obtendo-se as frações P-fosfolipídio, P-RNA e P-DNA. Neste estudo, avaliaram-se as frações de P em tecidos de plantas de tomate e comprovou-se que quando aumenta a adubação fosfatada (50 a 400 mg kg^{-1} de P) o teor de P_i no tecido também aumenta (400 a 4000 mg kg^{-1} de P). Entretanto, as frações de P_o (DNA, RNA e fosfolipídios) permanecem constantes, não ultrapassando 600 mg kg^{-1}.

Furtini Neto et al. (1998) estudaram o comportamento de mudas de eucalipto cultivadas em solução nutritiva na presença e ausência de fósforo. A participação do fósforo inorgânico na fração do fósforo total solúvel (P_{ts}) diminuiu à medida que aumentou o tempo de omissão de P na solução de cultivo, porém ocorreu uma maior participação do fósforo orgânico nos compartimentos das plantas. Isso demonstra que algumas plantas mobilizam sua reserva de fósforo inorgânico para manter a taxa de crescimento.

Fabres (1986) avaliou o efeito das doses de fósforo e características do solo sobre as frações de P_{ts}, P_i e P_o em plantas de alface. Observou-se que o teor de argila nos solos é inversamente proporcional ao P total e suas frações nas plantas. As porcentagens de P_o e P_i nas plantas de alface foram 25 e 69% do fósforo total solúvel, respectivamente.

A metodologia de extração de P_{is} descrita pelos autores citados seguiu o fracionamento de Hogue utilizando 0,2 mol L^{-1} $HClO_4$ e para determinação de P_{ts} fez-se a digestão nitroperclórica dos extratos. Entretanto, tratamento com água e agitação por 10 minutos foi proposta por Maruchi e Rocha (2006) para extrair P_{is}, enquanto o P_{ts} foi determinado após fotodegradação na presença de perssulfato. Foram avaliadas as frações de P solúvel em tecidos de plantas de *Crotalária juncea* obtendo-se 1,35 mg g^{-1} de P_{is} e 1,82 mg g^{-1} de P_{ts}.

A absorção de P_i do solo pela planta é constante e realizada por vários sistemas de transporte através das membranas celulares. A manutenção de P_i no citoplasma é essencial para as reações fotossintéticas que envolvem enzimas fosfatadas. O equilíbrio das espécies de P depende da combinação do transporte de membrana e das trocas intracelulares dos compostos de P (SCHACHTMAN; REID; AYLING, 1998). Assim, as formas de P, suas quantidades e localização na célula podem mudar de acordo com a espécie da planta e a disponibilidade de P no solo.

3.3 Fósforo em Plantas de Arroz

A cultura do arroz se destaca entre as mais importantes no mundo, pois este cereal faz parte da dieta básica de metade da população mundial, sendo que os maiores produtores e consumidores são os países asiáticos. No Brasil, o arroz pode ser cultivado no sistema com irrigação artificial, arroz irrigado, ou arroz de terras altas, chamado de arroz aeróbico. O arroz irrigado apresenta produtividade cerca de três vezes maior que o arroz de terras altas, alcançando 5.299 kg ha^{-1} na safra 2001/2002. Entretanto, o arroz de terras altas vem aumentando suas áreas

principalmente nos Estados do Mato Grosso, Maranhão, Pará, Goiás, Piauí e Tocantins (Fageria et al., 2004).

Nessas áreas, o ecossistema predominante é o de Cerrado com latossolos que apresentam grande deficiência nutricional, principalmente de fósforo, o elemento mais limitante. Esses solos apresentam baixa CTC, baixa MO e alta capacidade de adsorção de fósforo, sendo que aproximadamente 85% do P solúvel está fixado às partículas de argila. Em experimentos conduzidos por Fageria et al. (2004) em solos do Cerrado observou-se que a menor produção de grãos de arroz foi obtida nos tratamento com ausência de fósforo.

O fósforo contribui com o aumento do número de panículas, crescimento radicular, enchimento e maturação dos grãos. A eficiência agronômica na cultura de arroz é de aproximadamente 30 kg de grãos por kg de fósforo aplicado, entretanto em solos de Cerrado as plantas aproveitam apenas 10% do P_t aplicado (Fageria et al., 2004). Fageria (2001) observou aumento na produção de massa seca, produção de grãos e no número de panículas em arroz de terras altas cultivadas em solo com doses crescentes de fósforo. Matias (2006), avaliando fontes de fósforo na produção de massa seca da parte aérea de diferentes variedades de arroz, comprovou que as fontes mais eficientes foram fosfato monocálcico e multifosfato magnesiano em detrimento ao termofosfato e fosfato natural de Arad.

3.4 FÓSFORO NO SOLO

Nos sistemas geológicos, o fósforo é encontrado principalmente como sais de cálcio insolúveis, enquanto nos sistemas biológicos está na forma iônica ou em variadas formas de éster-fosfato (BIELESKI; FERGUSON, 1983). A fração total de P

no solo pode variar em função do material de origem, grau de intemperismo e teor de matéria orgânica (MEURER, 2006), porém, grande parte desta fração apresenta-se fixada às partículas de argila.

O fósforo no solo pode ser encontrado tanto na forma orgânica como inorgânica. Na solução do solo, encontra-se fósforo inorgânico nas formas H_3PO_4, $H_2PO_4^-$ e HPO_4^{2-}, dependendo do pH. O cultivo das plantas é indicado na faixa de pH entre 5,0 e 6,5 onde predomina o íon monovalente $H_2PO_4^-$ (HAVLIN et al., 2005). Nas plantas, o íon $H_2PO_4^-$ é prioritariamente absorvido da solução do solo (Malavolta, 2006).

Embora o teor total de P seja em torno de 200 a 3000 mg kg^{-1}, menos de 0,1% encontra-se na solução do solo, variando de 0,002 a 2 mg kg^{-1} (NOVAIS; SMYTH, 1999), sendo que a maioria das plantas absorve entre 0,003 e 0,3 mg kg^{-1} de P (HAVLIN et al., 2005). O processo de adsorção de P é o principal responsável pelos baixos teores de fosfato na solução do solo. A adsorção refere-se ao acúmulo de P na superfície dos componentes do solo e envolve vários fatores físicos e químicos como: pH da solução do solo, tipo de mineral de origem, presença de íons, teor de matéria orgânica, temperatura e tempo de contato com as partículas do solo (HAVLIN et al., 2005; SANYAL; DATTA, 1991).

Em solos ácidos, a adsorção é geralmente atribuída aos óxidos e hidróxidos de Fe e Al, ao baixo pH da solução e à matéria orgânica. No início da adsorção de P ocorre atração eletrostática e na seqüência a troca de ligantes entre os óxidos e hidróxidos (OH^-) e íons fosfato ($H_2PO_4^-$ e HPO_4^{2-}, principalmente), gerando uma adsorção específica. Essa atração se intensifica com o baixo pH da solução do solo e maior conteúdo de argilas do tipo 1:1 como a caulinita, abundante

nos latossolos brasileiros (HAVLIN et al., 2005; NOVAIS; SMYTH, 1999; SANYAL; DATTA, 1991).

Alguns autores (NOVAIS; SMYTH, 1999; SANYAL; DATTA, 1991) relatam que a matéria orgânica tem correlação positiva com adsorção de P no solo, devido aos ânions presentes que retiram P da solução via pontes de cátions. Por outro lado, a degradação da matéria orgânica libera ácidos orgânicos como citrato, tartarato e malato que podem reagir com óxidos ou hidróxidos, bloqueando seus sítios de adsorção e aumentando a disponibilidade de P em solução (HAVLIN et al., 2005).

3.3.1 Fósforo Orgânico no Solo

A fração orgânica do solo constitui-se de materiais vivos como raízes, fauna do solo e microrganismos, responsáveis por até 4% do C orgânico total; e materiais mortos como resíduos vegetais em vários estágios de decomposição e húmus, contribuindo com cerca de 98% do C orgânico total. O húmus é formado por substâncias húmicas (70%) e não-húmicas (30%). As substâncias húmicas são macromoléculas com propriedades químicas ainda não totalmente caracterizadas, que podem ser divididas em ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina. Essas substâncias encontram-se adsorvidas às partículas de argila e formam complexos com íons metálicos, sendo resistentes a biodegradação. As substâncias não húmicas são constituídas por carboidratos, lipídios, ácidos orgânicos e proteínas (MENDONÇA; OLIVEIRA, 2000).

O fósforo orgânico está localizado principalmente na fração ácido fúlvico e ligado às formas de éster de ácido ortofosfórico e outras estruturas de mono e diéster (Figura 3.1) (MENDONÇA; OLIVEIRA, 2000). Os ésteres de ortofosfato

($H_2PO_4^-$) têm sido classificados em fosfato de inositol, fosfolipídio, ácidos nucléicos, nucleotídeos e glicose-fosfato. Os fosfatos de inositol podem apresentar-se nas formas de monofosfato até hexafosfato (ácido fítico), dependendo do número de grupos fosfato ligados ao anel benzênico (ANDERSON, 1980). Cerca de 60% do fósforo orgânico do solo está na forma de fosfato de inositol, e são encontradas pequenas quantidades de fosfolipídios (5%) e nucleotídeos (2,5%) e traços de açúcar-fosfato, fosfoproteínas e glicerol-fosfato. Uma grande proporção do P orgânico remanescente não é identificada, mas provavelmente está presente em complexos insolúveis com minerais de argila e matéria orgânica (HAVLIN et al., 2005; TATE, 1984).

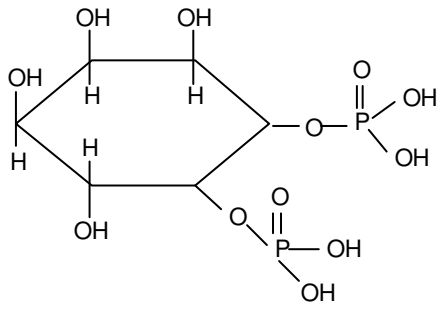

Figura 3.1 – Estrutura do di-fosfato éster de inositol (MENDONÇA; OLIVEIRA, 2000).

A quantidade de P orgânico nos solos pode variar de traços, em regiões áridas, a 70% em solos agricultáveis, sendo que em áreas sob floresta estes valores podem ser superiores (BIELESKI, 1973). Guerra et al. (1996) avaliaram que em 17 amostras de solo o P_o total variou de 7 a 272 mg kg^{-1} para neossolos quartzarênico e chernossolos, enquanto o P_o lábil variou de 6 a 35 mg kg^{-1} para neossolos quartzarênico e argissolos. A liberação do P da matéria orgânica na solução do solo

ocorre através do processo de mineralização, ou seja, transformação do P orgânico em P inorgânico, enquanto o processo inverso é denominado imobilização. A mineralização é catalisada pelas enzimas do tipo fosfatase, produzida por plantas, fungos e bactérias e localizada principalmente na rizosfera. O tipo da enzima varia de acordo com o pH do solo e o composto a ser degradado, denominando-se fosfatase ácida, com pH ótimo de atividade catalítica na faixa de 4 a 6 e fosfatase básica com maior eficiência na faixa de 9 a 11 (TURNER; MCKELVIE; HAYGARTH, 2002; FERNANDES et al., 2000; NOVAIS; SMYTH, 1999; STEWART; TIESSEN, 1987).

Os processos de imobilização/mineralização são influenciados pela temperatura, homogeneidade do material vegetal, aeração, tipo de cultivo e pH da solução do solo (STEWART; TIESSEN, 1987). A taxa de mineralização de fósforo é maior quando o solo apresenta grande quantidade de P_o, entretanto a imobilização do P_i é inversamente proporcional ao conteúdo de P_o. Em solos com alta razão $C:P_o$, a imobilização predomina, evidenciando a influência do carbono orgânico nesse processo. Em solo com razão $C:P_o$ menor que 200 prevalece o processo de mineralização, enquanto em valores maiores que 300 predomina a imobilização de P. Nos primeiros estágios de decomposição dos resíduos de plantas ocorre imobilização e com o decorrer do tempo a razão $C:P_o$ diminui, aumentando a mineralização (HAVLIN et al., 2005).

As proporções relativas de fósforo orgânico e inorgânico variam em função de características físicas, químicas e biológicas do solo. Solos com alto teor de húmus apresentam grandes quantidades de P orgânico, fazendo com que os processos de decomposição sejam muito importantes para a nutrição das plantas (BIELESKI;

FERGUSON, 1983; DIEST; BLACK, 1959). A Figura 3.2 representa simplificadamente o ciclo do P orgânico no sistema solo/planta.

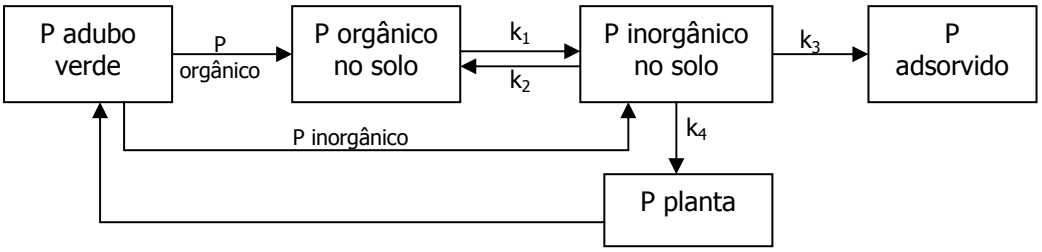

Figura 3.2 – Fluxo de fósforo do adubo verde no solo e absorção pela planta. k_1: mineralização, k_2: imobilização, k_3: fixação, k_4: absorção (adaptado de BLAIR; BOLAND, 1978).

A quantificação do P orgânico do solo se dá por métodos indiretos, utilizando combustão ou soluções extratoras. No método da combustão, as amostras são submetidas a temperaturas que variam de 200 a 600°C, com posterior extração do P total com soluções ácidas. O P_o é estimado calculando-se a diferença do P total extraído da amostra calcinada e não-calcinada. A principal vantagem desse método é a possibilidade de processamento simultâneo de diversas amostras, entretanto, podem ocorrer erros devido a oxidação incompleta, perda de P por volatilização e alterações na solubilidade de P inorgânico (CONDRON et al., 1990).

Bornemisza e Igue (1967) compararam dois métodos de combustão (LEGG; BLACK, 1955; SAUNDERS; WILLIANS; 1955) e um de extração (MEHTA et al., 1954) para determinar P_o. Os métodos de combustão utilizaram temperaturas de 240 °C (seguida de extração com ácido clorídrico concentrado) e 550 °C (extração

com 0,1 mol L^{-1} H_2SO_4), enquanto o método de extração utilizou ácido clorídrico concentrado e 0,5 mol L^{-1} NaOH. Para todos os solos analisados, quantidades maiores de P_o foram determinadas por extração, seguido por combustão a 550 ^oC e a 240 ^oC, indicando que temperaturas menores são ineficientes para a decomposição total do P_o. Os menores valores de P_o determinados pela técnica de combustão podem ser explicados pela formação de sesquióxidos de alumínio durante o processo de queima, diminuído o P_o do solo. Valores negativos de P_o foram encontrados por Scivittaro (1993) utilizando o método de Saunders e Williams, demonstrando os erros associados ao método analítico.

As soluções extratoras de P_o também solubilizam formas inorgânicas, sendo necessária a determinação do P total para calcular o P_o por diferença. Os extratores mais eficientes para formas orgânicas são os alcalinos, destacando-se o NaOH e o $NaHCO_3$ (HEDLEY; STEWART, 1982; BOWMAN; COLE, 1978; MEHTA et al., 1954), pois aumentam as cargas negativas, repelindo íons fosfato e trocando cátions polivalentes por monovalentes. A eficiência da extração alcalina pode ser aumentada com pré-tratamento ácido que remove as ligações com cátions polivalentes e dissolve ésteres fosfatos, pouco solúveis em meio básico (TURNER et al., 2005).

Os primeiros a determinar P orgânico por meio de soluções extratoras foram Mehta et al. (1954), utilizando HCl concentrado seguido de duas extrações com 0,5 mol L^{-1} NaOH, uma a temperatura ambiente por 1 hora e outra a 90^oC por 8 horas. Alterações dessa metodologia foram propostas por Bowman (1989), substituindo-se HCl por H_2SO_4, seguido por apenas uma extração com NaOH por 2 horas. Amostras de solo foram analisadas pelo método proposto e os resultados foram comparados com os obtidos pelas metodologias de Mehta e Saunders–

Williams. A quantidade de P_o determinada pelo método proposto superou em média 4% e 17% os valores obtidos pelas metodologias propostas por Mehta e Saunders–Williams.

Condron et al. (1990) analisaram o P_o de solos tropicais de acordo com as metodologias de Saunders e Williams (1955), Anderson (1960) e Bowman (1989). Os autores observaram maiores valores para o método de combustão, contrapondo-se aos resultados obtidos por Bowman (1989) e Bornemisza e Igue (1967), que observaram maiores concentrações de P_o utilizando soluções extratoras. O método da combustão promove um aumento de solubilidade dos fosfatos inorgânicos do solo, principalmente em solos tropicais intemperizados, superestimando os resultados (TURNER et al., 2005).

Cunha e colaboradores (2007) avaliaram P_o total em solos sob floresta e pastagens adjacentes, observando teores médios de 160 e 70 mg kg^{-1}, respectivamente. O P_o contribuiu com aproximadamente 80% da fração P lábil nos solos florestais, comprovando as maiores concentrações de P_o nesse manejo e a possível mineralização e disponibilidade no solo.

3.3.2 Fracionamento de Fósforo no Solo

Um dos primeiros métodos para o fracionamento de fósforo no solo foi desenvolvido por Chang e Jackson (1957), no qual as diferentes formas de fósforo no solo são removidas através de uma seqüência de extratores. O fracionamento se inicia com adição de solução 1,0 mol L^{-1} NH_4Cl e agitação por 30 minutos para extração de P solúvel em água (P-H_2O). Na seqüência, adiciona-se solução 0,5 mol L^{-1} NH_4F e agita-se por 1 hora para extração de fósforo ligado ao alumínio (P-Al). A

adição de 0,1 mol L^{-1} NaOH e agitação por 17 horas extrai fósforo ligado a ferro (P-Fe) e para extração do fósforo ligado a cálcio (P-Ca) utiliza-se solução 0,25 mol L^{-1} H_2SO_4. Previamente às extrações com NaOH e H_2SO_4, as amostras são lavadas com solução de NaCl saturado para retirada dos possíveis resíduos dos extratos anteriores. Esse procedimento foi utilizado por vários autores para determinar frações de P em diferentes tipos de solo fertilizados com diferentes fontes de fósforo (DORAHY et. al., 2007; MUUKKONEN et al., 2007; ROBOREDO; COUTINHO, 2006; NIEMINEN; PENTTILÄ, 2004; SCIVITTARO, 1993).

No Brasil, Catani e Bataglia (1968) foram os primeiros a fracionar P, usando o método de Chang e Jackson, nos solos dos Estados de São Paulo e Paraná. Os autores avaliaram 8 amostras de Latossolo Vermelho e observaram baixas concentrações de P solúvel em água; pouca variação na fração P-Al (22,7 a 47 mg kg^{-1}) na maioria das amostras e uma quantidade razoável de P-Ca (45,3 a 162,5 mg kg^{-1}) devido ao alto teor de cálcio trocável nas amostras. Entretanto, baixas quantidades de P-Ca (1,0 mg kg^{-1}) foram encontradas por Scivittaro (1993) em amostras de Latossolo Vermelho-Amarelo também do Estado de São Paulo.

Dorahy et al. (2007) avaliaram a disponibilidade de P para plantas de algodão em solos alcalinos da Austrália e observaram que 49% do P do solo foi extraído com 0,5 mol L^{-1} NH_4F. Esses resultados são importantes, pois segundo os autores, essa fração está disponível para algodoeiro cultivado em solos alcalinos.

O fracionamento de Chang e Jackson foi utilizado para determinar P em diferentes regiões de turfas e áreas alagadas do norte da Finlândia. Observou-se que os sítios eutróficos apresentaram de 4 a 6 vezes mais Ca ligado a P orgânico e de 2 a 3 vezes mais Ca ligado a P inorgânico que as outras áreas de estudo. As maiores

concentrações de P orgânico (139 a 220 mg kg^{-1}) encontravam-se ligadas a Fe em todas as áreas de estudo (NIEMINEN; PENTTILÄ, 2004).

Sharpley e Smith (1985) utilizaram o fracionamento de Chang e Jackson para avaliar P_o e P_i em solos cultivados, não-cultivados e com ou sem aplicação de calcário. As frações de P foram semelhantes para solos cultivados e seus adjacentes não cultivados. Entretanto, em solos com aplicação de calcário a maior parte da fração P_i estava ligada a Ca, indisponível para as plantas, sendo que nos solos sem calcário foram observados apenas traços dessa fração.

Frações de P em solos com cultivo convencional e plantio direto foram determinadas no perfil do solo pelo método de Chang e Jackson. Observaram que P-H_2O foi maior na camada superficial (0-5 cm) no sistema de plantio direto, enquanto as frações P-Al e P-Fe foram semelhantes até 20 cm para ambos os sistemas de manejo. Maiores quantidades de P-lábil foram coincidentes com o aumento do carbono orgânico, comprovando que a concorrência do fosfato e dos ácidos orgânicos pelos mesmos sítios de adsorção aumenta a disponibilidade de P no solo (MUUKKONEN et al., 2007).

Solos do Estado do Rio Grande do Sul foram submetidos ao fracionamento de Chang e Jackson (MACHADO; BRAUNER; VIANNA, 1993), detectando-se baixos conteúdos de P-Ca em comparação a P-Fe e P-Al, com exceção ao solo da região de Aceguá, considerado jovem e com pH mais elevado, que apresentou as maiores concentrações de P-Ca. O P-lábil, compreendendo as formas P-Fe, P-Al e P-Ca, foi estimado em cerca de 30% do P total, enquanto o P não-lábil, P_o e P_i remanescentes, correspondem a aproximadamente 70%.

Scivittaro (1993) avaliou a contribuição de fontes fosfatadas incubadas em latossolo vermelho amarelo, encontrando maiores quantidades de P disponível nas frações P-Al e P-Fe, e menores nas frações P-H_2O, P-Ca e P-ocluído. A fonte superfosfato triplo apresentou maior disponibilidade de fósforo quando comparada com ácido fosfórico, fosfato monoamônico e suspensão coloidal 10-30-00.

O fracionamento seqüencial de Hedley foi desenvolvido em 1982 para observar variações de P orgânico no solo em períodos curtos de incubação (CROSS; SCHLESINGER, 1995; HEDLEY et al., 1982). A primeira fração extraída é fósforo inorgânico lábil, através de resina de troca aniônica na forma de bicarbonato, seguida de P_o, P_i e P microbial, extraídos com bicarbonato de sódio (0,5 mol L^{-1}) e clorofórmio. As frações de P_i e P_o adsorvidos a Fe e Al são extraídas com hidróxido de sódio (0,1 mol L^{-1}) e, posteriormente, através de ultra-som + hidróxido de sódio são solubilizados P_i e P_o ligados à superfície interna dos agregados do solo. A extração com 1,0 mol L^{-1} HCl remove P-mineral e P-ocluso no solo intemperizado. Finalmente, as formas de P_o mais estáveis e P_i insolúvel são dissolvidas por oxidação e digestão com H_2O_2 e H_2SO_4, resultando no P residual.

Diversos autores modificaram a metodologia de Hedley, dentre eles Tiessen e Moir (1993), que omitiram as etapas de extração de P microbial com clorofórmio, NaOH + ultra-som e acrescentaram uma extração com HCl concentrado aquecido a 80 ^oC. Neufeldt et al. (2000) também simplificaram a metodologia de Hedley excluindo as extrações com resina, $NaHCO_3$ + clorofórmio e NaOH + ultra-som. Em experimentos conduzidos para avaliar as frações de P na toposseqüencia do nordeste brasileiro alterou-se a concentração de HCl de 1,0 para 0,1 mol L^{-1} (AGBENIN; TIESSEN, 1995). Guppy e colaboradores (2000) acrescentaram NaCl para

diminuir o tempo e a velocidade de centrifugação, pois o sal facilita a floculação das partículas de argila.

O fracionamento seqüencial de Hedley pode ser utilizado para determinação de P em solos naturais (não fertilizados) e cultivados. Foi realizado um estudo na toposseqüencia do nordeste brasileiro relacionando o tamanho das partículas de solo com as frações de P. Foi observado que a quantidade de P foi maior em declive mais acentuado e nas partículas menores, destacando-se as grandes quantidades P-Ca encontradas nas partículas de argila e silte (92 e 54% do total) nas áreas mais altas (800 m). Entretanto, quantidades menores de P-Ca (9%) foram encontradas nas áreas baixas e altamente intemperizadas (AGBENIN; TIESSEN, 1995).

Neufeldt et al. (2000) aplicaram a metodologia de Hedley para avaliar as alterações de P em solos arenosos e argilosos de cerrado após implantação de lavouras, pastagem e extração florestal. O P orgânico extraído com NaOH, ou seja P_o ligado Fe e Al, constitui até 24% do P total em solo com extração florestal (*Pinus caribaea*) e essa fração varia pouco para os diferentes tipos de manejo (17 a 24%). O fósforo ligado a Ca contribuiu com até 23% do P total para solos arenosos e 37% nos argilosos. Desta forma, o fósforo tende a acumular na forma não-lábil em solos argilosos devido à presença de caulinita e gipsita, ricas em hidróxidos de Fe e Al, enquanto nos solos arenosos o quartzo é o mineral predominante. Entretanto, Neufeldt et al. (2000) seguiram a metodologia de fracionamento de Hedley alterada por Tiessen e Moir (1993), incluindo a etapa de extração com HCl concentrado e aquecido a 80 ^{o}C. Desta forma, as quantidades de P-Ca neste trabalho são bastante superiores às encontradas em outros estudos com solos ácidos que utilizaram apenas

o extrator 1,0 mol L^{-1} HCl (PAVAN; CHAVES, 1996; PAVAN; ANDROCIOLI FILHO, 1995).

Nziguheba et al. (1998) também aplicaram o fracionamento de Hedley modificado por Tiessen e Moir (1993), entretanto as frações ácidas não foram determinadas. Os autores avaliaram a aplicação de adubo verde (*Tithonia diversifolia* – girassol mexicano) e resíduo de milho conjuntamente à adubação mineral (SFT) por 16 semanas. Observou-se que o adubo verde aplicado individualmente ou com adubação mineral aumentou a fração P-lábil do solo, devido à liberação de P do material vegetal e à diminuição da capacidade de adsorção de P pelo solo.

Em estudos conduzidos no norte do Paraná em lavouras de café foi utilizado o fracionamento de Hedley para avaliar a distribuição das frações de P no solo. Pavan e Androcioli Filho (1995) avaliaram adubação mineral (NPK), adubo verde (*Vignia ungulculata*), composto orgânico e a combinação destes adubos quanto às formas de P no solo e sua disponibilidade para o cafeeiro. Os tratamentos com materiais orgânicos e adubo mineral aumentaram o P-lábil, extraível com resina e bicarbonato de sódio (P_i e P_o), e P-pouco lábil, extraível com hidróxido de sódio (P_i e P_o), concordando com os resultados descritos por Nziguheba et al. (1998). A maior contribuição ao P-lábil foi a fração P_i -$NaHCO_3$ (2,5 a 25 $\mu g\ g^{-1}$), principal fonte de P para o cafeeiro, enquanto o P-microbial encontra-se em menor proporção (0,2 a 0,9 $\mu g\ g^{-1}$).

Solos de lavoura de café com diferentes densidades populacionais e doses de adubação fosfatada foram submetidos ao fracionamento de Hedley. Apesar do aumento da densidade populacional proporcionar acúmulo de matéria orgânica, a fração P_o-lábil foi baixa, até 1% do P total e 14% do P-lábil. As maiores frações de P

no solo foram o P-residual e P_i-NaOH, enquanto as menores foram P-microbial e P_o-$NaHCO_3$. Devido ao solo ser altamente intemperizado, Latossolo Vermelho Distróférico, a fração P-HCl foi baixa, aproximadamente 1,3 kg ha^{-1} e o P-residual contribuiu com a maior proporção do P total (63%) (PAVAN; CHAVES, 1996).

Pavan e Leal (1995) conduziram um experimento em laboratório para avaliar a disponibilidade de P em Latossolo Vermelho Distroférico e Latossolo Vermelho, incubados com diferentes doses de resíduo de leucena (*Leucaena leucocephala*). O P-lábil do Latossolo Vermelho Distroférico aumentou com o acréscimo da dose de leucena, enquanto no Latossolo Vermelho manteve-se estável. Entretanto, aumento significativo do P-microbial foi encontrado no Latossolo Vermelho (de 0,4 para 1,6 mg kg^{-1}), indicando que o resíduo de leucena provocou um estímulo na atividade microbiana, imobilizando o Pi para formas orgânicas. Assim como no estudo de Pavan e Chaves (1996), a fração P-HCl teve baixa contribuição na fração P-não lábil, enquanto o P-residual tem maior representação, devido ao pH dos solos que não ultrapassou 4,3, estimulando a adsorção de P por compostos de Fe e Al. Em solos básicos, a principal ligação do P-não lábil é com compostos de Ca, aumentando a fração P-HCl (AGBENIN; TIESSEN, 1995; YANG; JACOBSEN, 1990; SHARPLEY; SMITH, 1985).

O fósforo inorgânico nas frações é geralmente determinado pelo método espectrofotométrico baseado na formação do azul de molibdênio, utilizando ácido ascórbico como redutor (MURPHY; RILEY, 1962). Entretanto, Gupp et al. (2000) empregaram o reagente verde de malaquita, devido à maior sensibilidade do procedimento. A reação do fosfato com o molibdato ocorre em meio ácido, dificultando a determinação direta de P nos extratos básicos, que precisam ser

acidificados previamente à análise. Considerando o fracionamento de Chang e Jackson, a presença de íons fluoreto no extrator NH_4F impede a determinação de P, sendo necessária a adição de ácido bórico (MATT, 1970). Sendo assim, a determinação de P nas frações é uma etapa crítica do fracionamento e muito propensa a erros devido a grande manipulação das amostras.

3.2 USO DE ^{32}P EM ESTUDOS DE FERTILIDADE DO SOLO

A eficiência agronômica de fertilizantes fosfatados, nas formas minerais ou orgânicas, depende da taxa de liberação de fósforo para as plantas (MALAVOLTA, 2006; SCHACHTMAN; REID; AYLING, 1998). As transformações de fósforo orgânico em formas biologicamente disponíveis são complexas no ecossistema, tornando difíceis as medições diretas da disponibilidade deste nutriente (FRIESEN; BLAIR, 1988; DALAL, 1979).

Uma melhor avaliação da mineralização do fósforo no solo é obtida com o uso de técnicas isotópicas empregando o radioisótopo ^{32}P. As principais técnicas utilizadas são a diluição isotópica, na qual marca-se o P inorgânico do solo com ^{32}P, e a marcação direta, na qual marca-se a fonte de P.

O radioisótopo ^{32}P tem sido largamente utilizado em estudos de fertilidade do solo e ciclagem de fósforo no Brasil (FRANZINI; 2006; MENDES, 2006; SCIVITTARO; BOARETTO; MURAOKA, 1997; MURAOKA, 1991). A principal limitação ao uso de ^{32}P é sua meia vida curta (14,3 dias) que limita a condução de experimentos longos. Entretanto, esta característica é vantajosa do ponto de vista ambiental, pois o decaimento rápido evita o acúmulo de lixo radioativo. A emissão de partículas β^- de alta energia (1,71 MeV) representa um perigo considerável, exigindo

cuidados adicionais no seu manuseio, porém, tem a vantagem de ser detectada por efeito Cerenkov, dispensando o uso de solução cintiladora (VOSE, 1980).

Dorahy et al. (2007) avaliaram a disponibilidade de P para plantas de algodão cultivado em solo alcalino. O solo foi marcado com ^{32}P enquanto a fonte mineral, $(NH_4)H_2PO_4$, com ^{33}P e as frações de P foram determinadas pela metodologia de Chang e Jackson. Todo o ^{33}P aplicado foi recuperado na forma inorgânica, sendo distribuído na fração P-Al e P-Fe, enquanto não foi detectado P marcado na fração orgânica.

Franzini (2006) avaliou a disponibilidade de fosfatos naturais para plantas de soja e milho, utilizando a técnica da diluição isotópica com ^{32}P. O uso conjunto de SFT e fosfato natural aumentou o aproveitamento para ambas as plantas, sendo que a compactação do fosfato natural com SFT foi superior à aplicação localizada para as plantas.

3.3 Uso de ^{32}P em Estudos de Adubação Verde

As técnicas isotópicas, empregando o radioisótopo ^{32}P, são uma alternativa nos estudos da mineralização de fontes orgânicas no solo, como adubo verde e restos culturais. Entretanto, ainda são restritos os trabalhos envolvendo marcação de plantas com ^{32}P, pois é necessária atividade inicial alta para detectar o radioisótopo ao final do experimento. Esse procedimento torna-se inviável se considerado o período de produção de adubo verde marcado, o tempo de incubação e o cultivo de planta teste, pois a atividade de ^{32}P a ser aplicada inviabiliza o estudo do ponto de vista da segurança pessoal.

Os estudos envolvendo adubação verde e ^{32}P apresentam divergências quanto à atividade de ^{32}P aplicada e o tempo de cultivo das plantas (Tabela 3.1). Em trabalhos que utilizam alta atividade (FRIESEN; BLAIR, 1988; BLAIR; BOLAND, 1978) o período de cultivo do adubo verde foi baixo, contrapondo-se aos experimentos com atividade menor e períodos mais longos (JONER; JAKOBSEN, 1995; DALAL, 1979).

Tabela 3.1 – Variação da atividade de ^{32}P, espécie de adubo verde e períodos de cultivo para diferentes estudos com marcação de plantas.

Autores	^{32}P (MBq)	adubo verde	dias de cultivo
Blair e Boland (1978)	362	trevo	19
Till e Blair (1978)	111	trevo	56
Dalal (1979)	15	trevo	40
Friesen e Blair (1988)	370	aveia	21
Joner e Jakobsen (1995)	7,4	trevo e azevém	5

Visando otimizar a atividade de ^{32}P, foi avaliada a aplicação do radioisótopo em *Crotalária juncea* aos 0, 14, 28 e 42 dias após semeadura. Foi verificado que é possível marcar plantas aos 14 dias sem alterar a homogeneidade da marcação, reduzindo a atividade inicial em 50% (MARSOLA, 2003). Entretanto, é necessária a otimização para outras espécies de adubo verde, visando minimizar as doses de ^{32}P e a aumentar a segurança pessoal.

O grupo liderado por G. J. Blair, na Austrália, foi o primeiro a marcar plantas com ^{32}P para estudar a liberação do P de material vegetal adicionado ao solo (BLAIR; BOLAND, 1978). Foram marcadas plantas de trevo branco, utilizadas como adubo verde para aveia. O experimento foi conduzido por diferentes períodos (0 a 48 dias) e com teores alto (25 mg kg^{-1}) e baixo (8 mg kg^{-1}) de P no solo. A máxima

porcentagem de ^{32}P absorvido pelas plantas foi observada aos 36 dias de cultivo, sendo 26% para solo com alto teor de P e apenas 1,5% para solo com baixo P.

Dalal (1979) conduziu um experimento de dupla marcação com ^{32}P e ^{14}C em trevo para cultura subseqüente de plantas de aveia. Aplicou-se ^{32}P na semeadura das plantas de trevo que foram colhidas aos 40 dias, incubadas e utilizadas como adubo verde para aveia. A absorção de ^{32}P pela aveia foi avaliada por até 70 dias, sendo que 42% do P total aplicado foi assimilado pelas raízes e 38% pela parte aérea.

O efeito da temperatura na liberação de enxofre e fósforo de trevo marcado com ^{35}S e ^{32}P foi avaliado por Till e Blair (1978). Plantas de trevo recém podadas receberam solução contendo os radioisótopos, sendo cultivadas por 20 dias. Após esse período, o material vegetal foi aplicado no solo, no qual foi cultivado grama-tapete (*Axonopus affinis*) por períodos de 6 a 56 dias. A maior porcentagem de recuperação do ^{32}P pelas plantas subseqüentes ocorreu aos 56 dias sendo: 3,6% na parte aérea e 18,6% nas raízes, com temperatura de 10-15 ºC; e 11,0% na parte aérea e 17,3% nas raízes, com temperatura entre 22 e 28 ºC. O fósforo mineralizado do adubo verde foi obtido pela soma do ^{32}P inorgânico do solo, ^{32}P da parte aérea e ^{32}P das raízes, totalizando 41,3% para temperatura de 10-15 ºC e 49,9% para temperatura de 22-28 ºC. Este experimento comprovou que a decomposição de materiais vegetais é superior em temperaturas mais elevadas, liberando maior quantidade de fósforo para as plantas subseqüentes.

Em experimento utilizando marcação de trevo e azevém em solução nutritiva, foi aplicado ^{32}P livre de carregador aos 30 dias de desenvolvimento das plantas, colhidas após 5 dias. O adubo verde foi incorporado ao solo inoculado e

não-inoculado com micorrizas e cultivou-se trevo por 23 dias. As plantas micorrizadas utilizaram maior quantidade de P liberado da matéria orgânica que as não-micorrizadas (JONER; JAKOBSEN, 1995).

Estudos conduzidos por Friesen e Blair (1988) permitiram observar a liberação de fósforo do adubo verde e a mineralização do P_o no solo. Utilizaram os radioisótopos ^{33}P (marcação do solo) e ^{32}P (marcação de adubo verde) na presença e ausência de cultura subseqüente. O solo foi marcado com ^{33}P e incubado por 21 dias para atingir o equilíbrio isotópico, enquanto plantas de aveia foram cultivadas pelo mesmo período em solo contendo ^{32}P. As plantas de aveia (^{32}P) foram misturadas ao solo (^{33}P) e cultivou-se novas plantas de aveia por períodos de 11 a 51 dias. Foram determinadas as frações de P pelo método de Chang e Jackson e observou-se que o P-não lábil (^{33}P) foi superior a 30% e quantidades similares de ^{32}P foram liberadas dos resíduos de plantas. Aproximadamente 50% de ^{32}P do resíduo de planta foi transformado em P inorgânico aos 11 dias, devido à presença de P inorgânico solúvel nos resíduos de plantas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ETAPA 1 – ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE ^{32}P

4.1.1 Caracterização do solo utilizado nos experimentos

Todos os experimentos foram realizados utilizando um Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA), coletado no município de Piracicaba-SP, da camada de 0 a 20 cm de profundidade. A análise granulométrica detectou 280, 70 e 650 g kg^{-1} de argila, silte e areia, respectivamente. Amostras de terra foram secas ao ar, passadas em peneira 35 mesh e procedeu-se a extração com resina de troca iônica. Determinou-se P por espectrofotometria pelo método azul de molibdênio; K por fotometria de chama; Ca e Mg por espectrofotometria de absorção atômica com chama; pH em $CaCl_2$ e matéria orgânica pela oxidação do carbono orgânico por via úmida (Tabela 4.1) (RAIJ et al., 1987). A terra foi passada em peneira de 0,5 cm para retirada das raízes e materiais vegetais, acondicionada em vasos e corrigido e adubado com calcário dolomítico (PRNT = 90,4%) e superfosfato triplo.

Tabela 4.1 – Principais características químicas do solo (Latossolo Vermelho Amarelo) utilizado na produção e incubação de adubo verde e plantio de arroz.

pH	MO	P	K	Ca	Mg	Al+H	SB	CTC	V%
	g dm^{-3}	mg dm^{-3}	----------	----------	mmol$_c$ dm^{-3}	----------	----------	----------	%
4,7	20	6	0,8	12,9	6,4	31,2	20,1	51,3	39,2

4.1.2 Marcação de Plantas de Adubo Verde

Esta etapa do experimento foi realizada entre os meses de junho e agosto de 2005 em casa de vegetação do Laboratório de Fertilidade do Solo. Os tratamentos foram conduzidos com 3 repetições e utilizou-se 36 vasos contendo 2 kg de terra (Tabela 4.1). Foram semeadas 6 sementes de aveia-preta (*Avena strigosa*, cultivar Comum), milheto (*Pennisetum glaucum*, cultivar BN-2) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus*, cultivar CATI-AL 1000) que germinaram entre o 3º e o 5º dia. Os vasos foram conduzidos com 6 plantas até 5 dias após a germinação quando foram desbastadas e mantidas 3 plantas por vaso.

Os vasos receberam dose de 7,4 MBq de ^{32}P (H_3PO_4) na semeadura juntamente com 100 mg kg^{-1} de carregador (KH_2PO_4). Aos 14, 28 e 42 dias após a semeadura, as plantas receberam carregador + dose de ^{32}P equivalentes à dose aplicada na semeadura, levando-se em conta o decaimento do radioisótopo (Tabela 4.2). O ^{32}P foi aplicado na forma de solução, utilizando um frasco de erlemeyer com um tubo flexível acoplados à parte inferior, possibilitando dispensar a solução radioativa com mínimos riscos de contaminação pessoal. Nos vasos com plantas em crescimento (14, 28 e 42 dias), o solo foi perfurado (6 orifícios) com bastão de vidro para melhor penetração da solução de ^{32}P e, após a marcação, os orifícios foram preenchidos com areia lavada.

Tabela 4.2 – Descrição dos tratamentos para marcação de plantas de adubo verde.

Tratamentos	Aplicação de ^{32}P (dias após semeadura)	Atividade ^{32}P (MBq)
T_1	0	7,4
T_2	14	3,7
T_3	28	1,8
T_4	42	0,9

As plantas foram regadas diariamente com água destilada e, aos 34 dias de desenvolvimento, foram aplicados 50 mg kg^{-1} de N e K. As plantas foram colhidas aos 60 dias, secas em estufa 60 ºC, pesadas e passadas em moinho de faca com peneira 30 mesh. Nas plantas de adubo verde foram determinados P total (P_t), P total solúvel (P_{ts}), P inorgânico solúvel (P_{is}) e ^{32}P e estimados o P orgânico solúvel P_{os}) e P insolúvel.

4.1.3. Frações de Fósforo nas Plantas de Adubo Verde

Para determinação de P total digeriu-se 0,25 g de amostra vegetal seca com 6 mL da mistura dos ácidos perclórico e nítrico na proporção 1:5 (v/v) em bloco digestor, aumentando-se gradualmente a temperatura até 250 ºC. Após a completa decomposição da amostra e evaporação dos ácidos (*ca.* 3 horas), completou-se o volume com água destilada para 25 mL. A concentração de P total foi determinada por espectrofotometria pelo método do vanadato/molibdato empregando sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) (SILVA et al., 1998).

O fracionamento do fósforo solúvel seguiu a metodologia descrita por Hogue et al. (1970) com algumas modificações necessárias para este estudo. Foram pesados 0,300 g de planta e extraído o P total solúvel com 30 mL de solução

0,2 mol L^{-1} $HClO_4$ e adicionou-se 0,2 g de carvão ativo para remover as substâncias que conferem cor à solução. A mistura foi centrifugada a 5000 rpm por 10 minutos (Sorval RC2-B) e procedeu-se a filtragem do sobrenadante, no qual determinou-se P inorgânico solúvel pelo método vanadato/molibdato empregando sistema FIA (SILVA et al., 1998).

A análise de P total solúvel foi realizada a partir da digestão de 10 mL do extrato obtido anteriormente. Esse volume foi reduzido por evaporação para aproximadamente 1 mL e adicionou-se 3 mL da mistura nitroperclórica (1:5 v/v) procedendo-se a digestão em bloco, de acordo com o procedimento descrito anteriormente. O volume foi completado com água destilada para 25 mL e determinou-se o P_{ts} pelo sistema FIA (SILVA et al., 1998), sendo que o P_{os} foi estimado pela diferença entre o P_{ts} e o P_{is}.

4.1.4 Determinação de ^{32}P nas Plantas de Adubo Verde

Foram digeridas 0,25 g de amostra vegetal seca em 6 mL da mistura nitroperclórica (1:5 v/v) em bloco digestor, de acordo com o procedimento descrito no item 4.1.3, sendo o volume completado com água destilada para 25 mL. A contagem de ^{32}P foi realizada em 20 mL desta solução por efeito Cerenkov, em contador de Cintilação Líquida Walac (VOSE, 1980). A atividade específica foi calculada segundo a equação 1 (DI; CONDRON; FROSSARD, 1997).

$$Ae = \frac{A}{P\ total\ (mg)} \qquad (1)$$

onde:

Ae = atividade específica;

A = atividade da amostra em Bequerel (Bq).

4.1.5 Incubação das Plantas de Adubo Verde

As plantas moídas referentes às repetições dos tratamentos foram misturadas para compor amostras homogêneas de cada repetição e essas misturas foram analisadas como descrito nos itens 4.1.3 e 4.1.4. Foram aplicados 3,0 g de material vegetal em 0,5 kg de LVA (Tabela 4.1) acondicionados em vasos protegidos por sacos plásticos. O solo foi incubado por 30 dias, sendo umedecido periodicamente com água destilada.

4.1.6 Cultivo de Plantas de Arroz

Sementes de arroz, cultivar IAC-202, foram semeadas em bandejas com areia lavada para a pré-germinação e, após 15 dias, 4 plantas foram transplantadas para os vasos incubados. As plantas foram diariamente regadas com água destilada e receberam solução nutritiva com N e K (20 mg kg^{-1}) aos 16 dias. As plantas foram colhidas aos 30 dias, secas em estufa a 60 ºC por 72 horas e pesadas.

As plantas foram picadas para o procedimento de digestão, pois a produção de massa foi inferior a 1 g/vaso, dificultando a moagem do material vegetal. A massa total das plantas foi digerida com 6 mL da mistura nitroperclórica

1:5 (v/v) e completou-se o volume com água destilada para 25 mL. Nesta solução, determinou-se o P total em sistema FIA com detecção por espectrofotometria (SILVA et al., 1998). A contagem de ^{32}P foi realizada por efeito Cerenkov em Contador de Cintilação Liquida Walac (VOSE, 1980), sendo o cálculo da atividade específica realizado de acordo com a equação 1.

Para o cálculo da eficiência da utilização do adubo verde, foram empregadas as seguintes equações (DI; CONDRON; FROSSARD, 1997):

$$\%Pppav = \frac{Ae\ arroz}{Ae\ av}\ x\ 100 \qquad (2)$$

onde:

%Pppav = porcentagem de P na planta de arroz proveniente do adubo verde;

Ae arroz = atividade específica do arroz;

Ae av = atividade específica do adubo verde.

$$QPppav = \frac{\%Pppav\ x\ Pt\ arroz}{100} \qquad (3)$$

onde:

QPppav = quantidade de P na planta de arroz proveniente do adubo verde;

P_t arroz = P total na planta de arroz.

$$\%EU = \frac{QPppav\ x\ 100}{Pav} \qquad (4)$$

onde:

%EU = eficiência de utilização do adubo verde;

Pav = P total aplicado na forma de adubo verde.

4.2 ETAPA 2 – MINERALIZAÇÃO DE FÓSFORO NO SOLO

Estes experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fertilidade do Solo entre os meses de maio de 2006 e março de 2007. O primeiro cultivo de plantas de adubo verde foi realizado entre os meses de maio e agosto de 2006 com o objetivo de produzir plantas marcadas em quantidades suficientes para avaliar a absorção de ^{32}P por plantas de arroz e para o fracionamento de fósforo no solo. Entretanto, devido a problemas ambientais, foi necessário um segundo cultivo de plantas de adubo verde, que ocorreu entre os meses de novembro e dezembro de 2006, visando a incubação para o fracionamento do fósforo no solo.

4.2.1 Marcação de Plantas de Adubo Verde

Foram cultivadas plantas de aveia-preta (cultivar Comum), crotalária (*Crotalaria juncea*, cultivar IAC-KR1), milheto (cultivar BN-2) e nabo forrageiro (cultivar CATI-AL 1000) em vasos contendo 4 kg de LVA (Tabela 4.1). Foram semeadas 6 sementes de cada espécie por vaso, desbastadas no 10º dia, mantendo-se 3 plantas por vaso. Aplicou-se 30 MBq de ^{32}P e 100 mg kg^{-1} de carregador (KH_2PO_4) por vaso aos 14 dias após a semeadura, utilizando um erlenmeyer com um

tubo flexível na parte inferior. Manteve-se 2 vasos para cada espécie sem aplicação de ^{32}P para posterior comparação, enquanto os tratamentos com aplicação de ^{32}P foram conduzidos com 4 repetições.

As plantas foram regadas diariamente com água destilada e aplicou-se 50 mg kg^{-1} de N e K aos 50 dias de desenvolvimento, sendo as plantas colhidas aos 68 dias. Somente as raízes das plantas não-marcadas foram utilizadas nos experimentos de incubação e produção de arroz, uma vez que raízes radioativas são de difícil manipulação. A parte aérea e as raízes das plantas foram secas em estufa a 60 ºC, pesadas e processadas em moinho de faca com peneira 30 mesh. As repetições da mesma espécie de planta foram misturadas, parte aérea e raiz separadamente, para compor amostras homogêneas. Determinou-se P total na parte aérea e raiz das plantas não-marcadas e P total, frações de P (P_{ts}, P_{is} e P_{os}) e ^{32}P na parte aérea das plantas marcadas com ^{32}P de acordo com os itens 4.1.3 e 4.1.4.

4.2.2 Incubação das Plantas de Adubo Verde

A parte aérea e as raízes das plantas não-marcadas e apenas a parte aérea das plantas marcadas com ^{32}P foram utilizadas na incubação. Os tratamentos com a parte aérea das plantas foram conduzidos com 3 repetições, enquanto os das raízes apenas com 1 repetição, devido à baixa produção de massa seca. O material vegetal (1,0 g) foi misturado a 0,5 kg de LVA (Tabela 4.1) e mantido incubado por 20, 40 e 60 dias, iniciando-se pelo período mais longo (60 dias) de modo que o final da incubação fosse coincidente. Devido à baixa produção de matéria seca, não foram incubadas raízes de milheto e a parte aérea e as raízes de aveia-preta foram incubadas somente por 20 e 40 dias.

4.2.3 Cultivo das Plantas de Arroz

Foram cultivadas plantas de arroz (IAC-202) em bandejas com areia lavada por 15 dias e 4 plantas foram transplantadas para os vasos incubados. As plantas foram regadas diariamente com água destilada e receberam solução nutritiva de N e K (30 mg kg^{-1}) 10 dias após o transplante. As plantas foram colhidas aos 30 dias, secas em estufa a 60 ºC por 72 horas, pesadas e moídas. Para o procedimento de digestão foram pesadas 0,50 g de planta e analisados P total e ^{32}P de acordo com o item 4.1.6.

4.2.4 Frações de Fósforo no Solo

Devido à baixa produção de massa das plantas de adubo verde (item 4.2.1), foi necessário o cultivo de novas plantas marcadas para o experimento de incubação e fracionamento de fósforo. Plantas de crotalária, aveia preta, milheto e nabo forrageiro foram cultivadas entre os meses de novembro e dezembro de 2006, com 2 repetições, em vasos contendo 4 kg de LVA (Tabela 4.1) de acordo com o item 4.2.1. As plantas foram cultivadas por apenas 36 dias devido ao inicio do florescimento e foram analisadas as frações de P nas plantas e o ^{32}P de acordo com os itens 4.1.3 e 4.1.4.

4.2.4.1 Incubação de adubo verde

As repetições das mesmas espécies foram misturas para obter amostras homogêneas e 5,0 g de planta, que foram misturadas com 0,5 kg de solo (Tabela 4.1) e incubadas em vasos plásticos. As amostras de solo foram coletadas aos 20, 40

e 60 dias, secas em estufa 40 °C e processadas em peneira 35 mesh e procedeu-se o fracionamento de fósforo.

4.2.4.2 Metodologia de fracionamento de fósforo no solo (HEDLEY et al. 1982)

O fracionamento de fósforo no solo seguiu a metodologia descrita por Hedley com algumas modificações, utilizando 0,5 g de solo e 3 repetições para cada espécie de planta incubada. Na Figura 4.1 está esquematizado o fluxograma das etapas de fracionamento de P no solo.

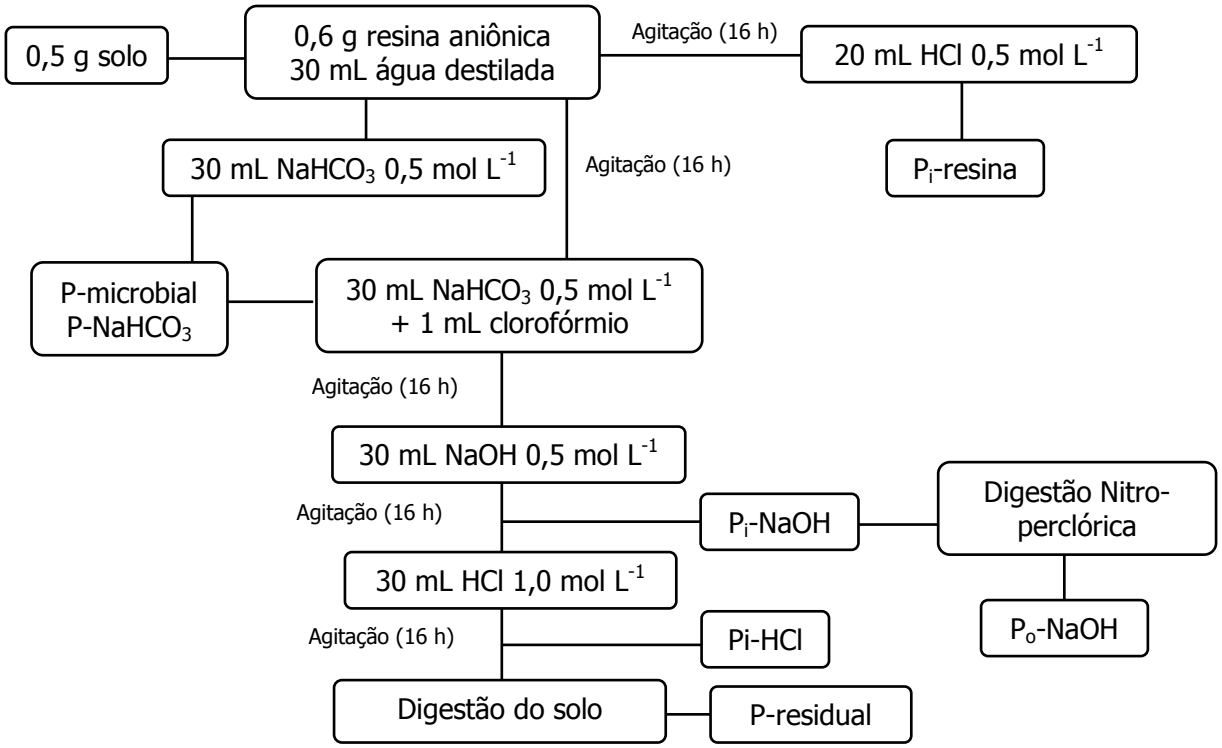

Figura 4.1 – Fluxograma das etapas do fracionamento de fósforo no solo modificado de Hedley et al. (1982).

O solo foi acondicionado em tubos de centrifuga de 50 mL e adicionou-se 0,6 g de resina aniônica (Amberlite IRA-400) e 30 mL de água destilada, sendo a mistura agitada por 16 horas. O solo e a resina foram separados com peneira (40 mesh) e o fósforo adsorvido à resina foi eluído com 20 mL de 0,5 mol L^{-1} HCl e determinou-se ^{32}P por efeito Cerenkov em Contador de Cintilação Liquida Walac (VOSE, 1980) e P inorgânico segundo o item 4.2.4.3.

A próxima etapa de extração foi conduzida em duplicata, utilizando 0,5 mol L^{-1} $NaHCO_3$ pH 8,5 e clorofórmio para determinar a fração P microbial. Em uma das amostras do solo residual, adicionou-se 1 mL de clorofórmio para lise das células microbianas e liberação do P ligado. Seguiu-se a extração com 30 mL de 0,5 mol L^{-1} $NaHCO_3$ pH 8,5 para as amostras com e sem clorofórmio sob agitação por 16 horas. As amostras foram centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos em centrifuga Sorval RC2-B e determinou-se P no sobrenadante (item 4.2.4.3). A diferença entre as concentrações de fósforo das amostras com e sem clorofórmio corresponde ao P proveniente das células microbianas (P-microbial).

Ao solo residual, foi adicionado 30 mL de 0,5 mol L^{-1} NaOH, mantido sob agitação por 16 horas e centrifugação por 15 minutos a 5000 rpm (Sorval RC2-B). O sobrenadante foi separado para determinação de P (item 4.2.4.3) e o solo residual recebeu 30 mL de 1,0 mol L^{-1} HCl. As amostras foram agitadas por 16 horas e centrifugadas por 15 minutos a 5000 rpm (Sorval RC2-B) e determinou-se P no sobrenadante (Item 4.2.4.3).

O solo residual foi digerido com mistura de 5 mL de ácido fluorídrico, 5 mL de ácido nítrico e 2 mL de ácido perclórico em cadinhos de teflon em banho de areia aquecidos até 200 ^{o}C (HESSE, 1971). O volume final foi ajustado para 25 mL com

solução de 0,1 mol L^{-1} HCl e determinou-se ^{32}P por efeito Cerenkov em Contador de Cintilação Liquida Walac (VOSE, 1980) e P total segundo o item 4.2.4.3.

Os extratos obtidos com as soluções de $NaHCO_3$, NaOH e HCl apresentaram coloração, interferindo na leitura direta de ^{32}P, sendo necessária a digestão dos extratos. Para isto, utilizou-se 20 mL de cada amostra, reduzindo-se o volume para aproximadamente 1 mL por evaporação em estufa. Adicionou-se 3 mL da mistura nitroperclórica (1:5 v/v), procedendo-se a digestão em bloco e ajustando-se o volume para 25 mL com água destilada. Determinou-se ^{32}P em 20 mL do extrato digerido por efeito Cerenkov em Contador de Cintilação Liquida Walac (VOSE, 1980) e P total segundo o item 4.2.4.3. O P orgânico da fração NaOH foi calculado subtraindo o P inorgânico, determinado diretamente no extrato, e o P total do extrato digerido. As atividades específicas de ^{32}P das diferentes frações foram corrigidas para a data da primeira coleta de solo (15 de janeiro de 2007) para comparação entre os diferentes períodos de incubação. A metodologia do fracionamento de fósforo também foi aplicada ao solo sem adição de adubo verde, sendo os resultados utilizados como testemunha.

4.2.4.3 Determinação de P nos extratos

Determinou-se P nos extratos por espectrofotometria pelo método do azul de molibdênio empregando o sistema FIA ilustrado na Figura 4.2. Foram utilizados os reagentes molibdato de amônio 4,0 mmol L^{-1} preparado em 1,0 mol L^{-1} HNO_3 e cloreto estanoso 4,4 mmol L^{-1} preparado em 0,3 mol L^{-1} HCl, ambos fluindo a vazão de 1 mL min^{-1} (ROCHA; MARTELLI; REIS, 2004). As soluções transportadoras utilizadas foram as mesmas soluções extratoras ou de digestão (0,1 mol L^{-1} HCl para

solo e 0,25 mol L^{-1} $HClO_4$ para extrato digerido), sendo substituídas de acordo com o meio das amostras analisadas, visando evitar perturbações por efeito Schlieren (ROCHA; NÓBREGA, 1996) e efeitos de matriz (ZAGATTO et. al., 2001). Para a determinação de P nos extratos alcalinos, alíquotas de 10 mL e 5 mL dos extratos obtidos em meio de $NaHCO_3$ e NaOH, respectivamente, foram acidificadas pela adição de 1 mL HCl 6 mol L^{-1}. As soluções transportadoras foram preparadas misturando 42 g $NaHCO_3$ ou 20 g NaOH, previamente dissolvidos em 500 mL de água, com 50 mL HCl concentrado, sendo o volume final completado para 1 L com água. As soluções padrão de P foram preparadas por diluição de uma solução estoque em alíquotas das soluções transportadoras. Este procedimento foi necessário pois a reação do método azul de molibdênio ocorre em meio ácido. A determinação de P nos extratos de $NaHCO_3$ foi realizada no dia seguinte à acidificação das amostras, visando o completo desprendimento de CO_2. Para todos os extratos, as curvas de calibração foram preparadas com a concentração de P variando de 0,1 a 2,0 mg L^{-1} de P.

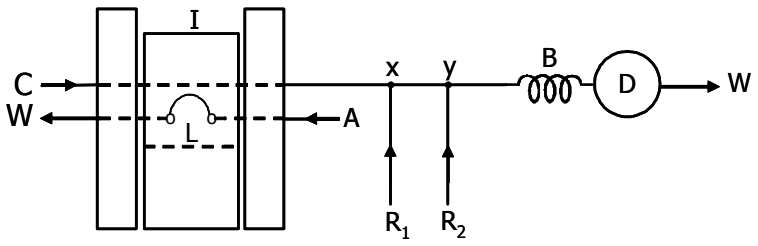

Figura 4.2 – Diagrama de fluxos do módulo de análises para determinação das frações de P no solo. I=injetor comutador, A=amostra, C=transportador (4 mL min^{-1}), L=alça de amostragem de 80 cm (400μL), R_1=molibdato de amônio 4,0 mmol L^{-1} em 1,0 mol L^{-1} HNO_3 (1,0 mL min^{-1}), R_2=$SnCl_2$ 1,0 mmol L^{-1} em 0,3 mol L^{-1} HCl (1,0 mL min^{-1}), B=bobina de 100 cm, x e y= pontos de confluência, D=detector (λ=680 nm) e W=descarte.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos à análise de variância (teste t a 5% de probabilidade) utilizando o aplicativo "Statical Analysis System" (SAS INSTITUTE, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ETAPA 1 – ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE ^{32}P

Em experimentos realizados anteriormente (MARSOLA, 2003), observou-se que a aplicação de ^{32}P em plantas de crotalária realizada aos 14 dias após a semeadura não altera a homogeneidade de marcação da planta. Porém, outras plantas de adubo verde não foram testadas para este fim. Desta forma, foi realizado um experimento para determinar a atividade necessária e a melhor época de aplicação de ^{32}P para as plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro, visando a marcação homogênea das plantas. Os resultados obtidos serviram de suporte para a Etapa 2 deste trabalho.

5.1.1 Marcação de Plantas de Adubo Verde

A produção de massa seca pelas plantas de adubo verde pode ser observada na Figura 5.1. Nota-se maior produção de massa pelas plantas de nabo forrageiro, superando 11,0 g/vaso quando marcadas aos 14 dias, enquanto as plantas de aveia e milheto não ultrapassaram 8,0 g/vaso. Observou-se diferença significativa (teste t a 5%) apenas para as plantas de milheto marcadas aos 42 dias após a semeadura. Esses dados comprovam que a utilização de bastão de vidro para perfurar o solo, apesar de ser uma técnica agressiva às raízes, não prejudicou a produção de massa das plantas marcadas com ^{32}P durante seu desenvolvimento.

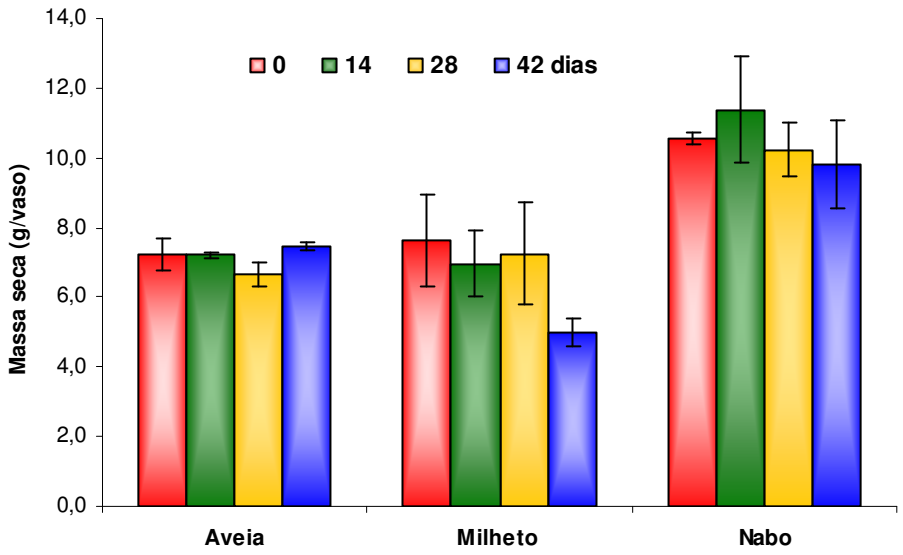

Figura 5.1 – Produção de massa seca das plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro, marcadas com ^{32}P na semeadura e aos 14, 28 e 42 dias. As barras de erro indicam a estimativa de desvio padrão.

Na Figura 5.2, pode ser observado que a atividade específica das plantas diminui quando aplica-se ^{32}P aos 28 e 42 dias de desenvolvimento. A aplicação de ^{32}P aos 42 dias tem maior interferência na atividade específica, sendo 26, 22 e 33% menores que na aplicação na semeadura, respectivamente, para plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro. Desta forma, sugere-se que o equilíbrio isotópico no solo não teria se completado, diminuindo a absorção de ^{32}P pelas plantas de adubo verde marcadas aos 42 dias de desenvolvimento.

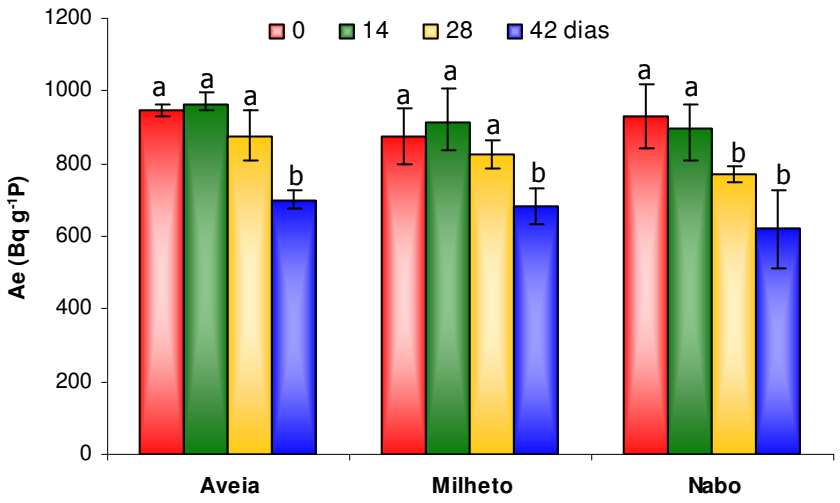

Figura 5.2 – Atividades específicas das plantas de adubo verde marcadas com ^{32}P na semeadura e aos 14, 28 e 42 dias. As barras de erro indicam a estimativa de desvio padrão. Letras iguais dentro da mesma espécie de planta não diferem pelo teste t a 5%.

Foi realizado teste t para comparação das médias de atividade específica de uma mesma planta marcada em diferentes períodos. Letras iguais dentro de uma mesma espécie de adubo verde indicam que não houve diferença significativa com probabilidade de 5%. Para plantas de aveia-preta e milheto marcadas na semeadura e aos 14 e 28 dias, a atividade específica manteve-se constante, demonstrando que a aplicação de ^{32}P neste estádio de desenvolvimento não afetou a homogeneidade de marcação das plantas. Para as plantas de nabo forrageiro marcadas aos 28 dias a atividade específica foi significativamente diferente das marcações na semeadura e aos 14 dias. A marcação de todas as espécies de plantas aos 42 dias apresentou diferença significativa na atividade específica, comprovando que a aplicação tardia de ^{32}P interferiu na homogeneidade de marcação para as espécies forrageiras. Entretanto, é necessário avaliar a absorção do P contido no adubo verde por plantas

subseqüentes, sem o qual não seria possível uma conclusão sobre a melhor época de marcação das plantas.

O conhecimento das frações fosfatadas em plantas de adubo verde permite prever a quantidade de fósforo prontamente liberado no solo. Na Figura 5.3, estão apresentados os teores de P_t, P_{ts}, P_{is} e P_{os} em plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P.

A quantidade de fósforo insolúvel do material vegetal foi calculada pela diferença entre o P_t e o P_{ts}. Nas plantas de adubo verde analisadas, aproximadamente 33% das espécies de fósforo dos tecidos é insolúvel no extrator empregado, sendo que esta fração necessita da ação de microorganismos para ser decomposta e liberar os nutrientes para as plantas subseqüentes.

Observa-se que as quantidades totais de P nas plantas de aveia-preta e nabo forrageiro foram maiores que as encontradas nas plantas de milheto. O fósforo total solúvel das plantas é composto por P_{os} e P_{is} distribuídos no citoplasma, vacúolo, apoplasto e núcleo. Entretanto, de acordo com os resultados apresentados na Figura 5.3, pode ser observado que praticamente todo fósforo solúvel está na forma inorgânica, encontrando-se quantidades pouco significativas na fração P_{os}. Isto ocorre devido ao acúmulo predominante de P_i no vacúolo das células, denominado reservatório não-metabólico, que pode corresponder de 85 a 95% do fósforo inorgânico total da planta (BIELESKI; FERGUSON, 1983).

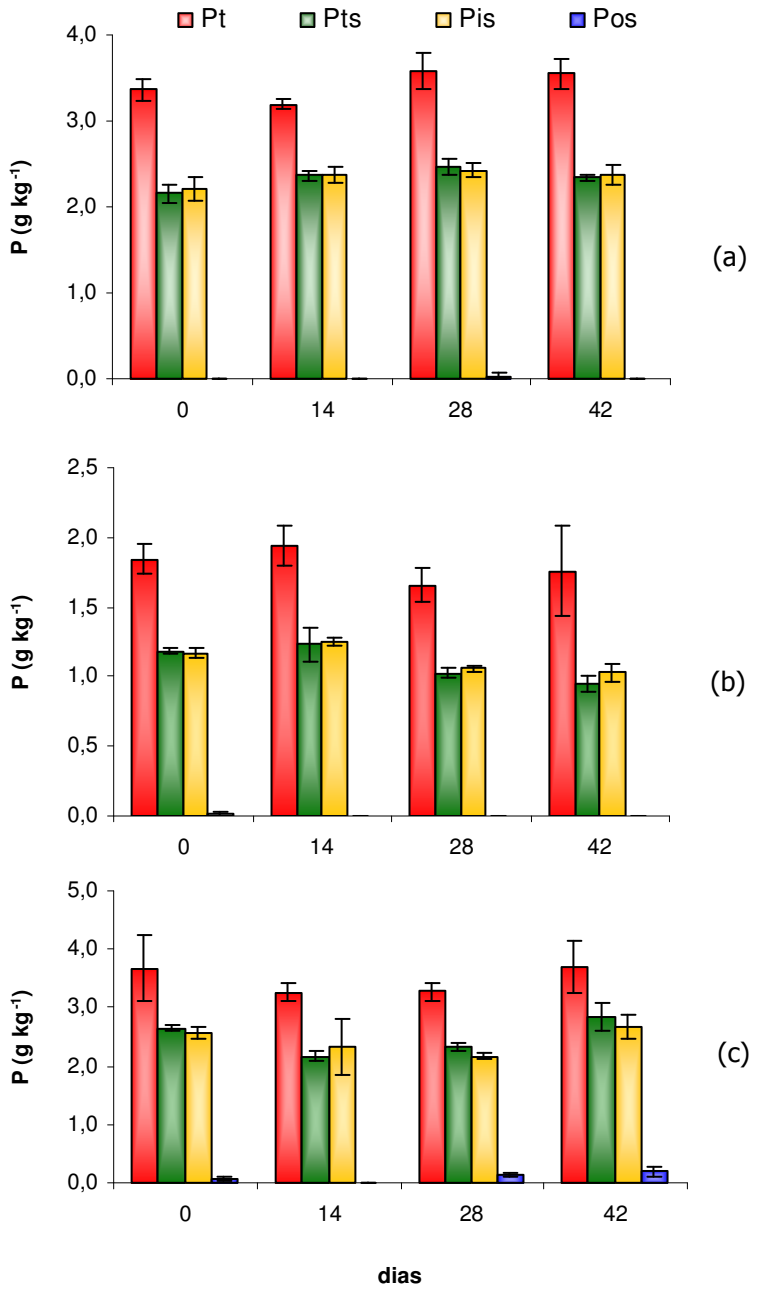

Figura 5.3 – Concentrações de P total (P_t), P total solúvel (P_{ts}), P inorgânico solúvel (P_{is}) e P orgânico solúvel (P_{os}) em plantas de aveia-preta (a), milheto (b) e nabo forrageiro (c) marcadas com ^{32}P. As barras de erro indicam a estimativa de desvio padrão.

O fósforo inorgânico solúvel é prontamente disponível no solo quando estas plantas são utilizadas como adubo verde. Entretanto, em solos tropicais intemperizados pode ocorrer rápida adsorção das espécies de fósforo nas partículas de argila, tornando-as indisponíveis para plantas subseqüentes (NOVAIS, 1999).

5.1.2 Eficiência de Utilização de Fósforo nas Plantas de Arroz

A eficiência de utilização de fósforo foi calculada segundo a equação 4 levando em consideração a porcentagem (Equação 2) e a quantidade (Equação 3) de fósforo no arroz proveniente do adubo verde (%Pppav e QPppav). Esse parâmetro indica a eficiência das plantas de arroz em absorver P do material vegetal aplicado no solo.

Na Figura 5.4 são apresentadas as variações na eficiência de absorção de fósforo nas plantas de arroz adubadas com os materiais vegetais marcados em diferentes períodos de desenvolvimento. Foi realizado teste t para comparação das médias da eficiência de utilização de fósforo para plantas de arroz adubadas com a mesma espécie, marcada em diferentes períodos. Letras iguais dentro de uma mesma espécie de adubo verde indicam que não houve diferença significativa pelo teste t a 5%.

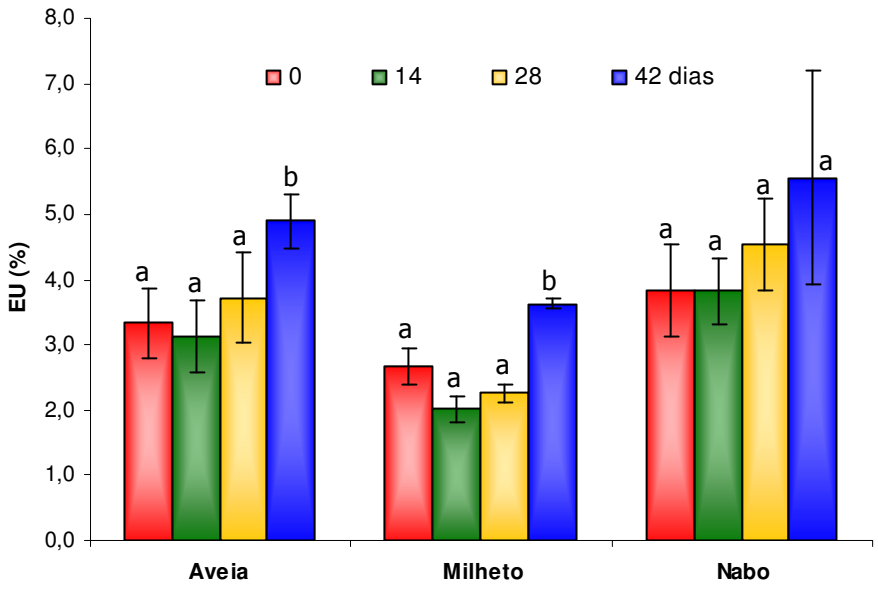

Figura 5.4 – Eficiência de utilização do fósforo (EU) nas plantas de arroz adubadas com aveia-preta, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P na semeadura e aos 14, 28 e 42 dias. As barras de erro indicam a estimativa de desvio padrão. Letras iguais dentro da mesma espécie de planta não diferem pelo teste t a 5%.

As plantas de adubo verde marcadas com ^{32}P na semeadura foram tomadas como referência pois, teoricamente, o radioisótopo é absorvido durante todo o ciclo e se distribui homogeneamente nos tecidos. O material vegetal marcado com ^{32}P com as plantas em desenvolvimento pode apresentar alterações na absorção e distribuição do fósforo radioativo (BIELESKI; FERGUSON, 1983). Quando isso ocorre, o ^{32}P não se distribui homogeneamente nos tecidos das plantas de adubo verde, podendo ser incorretamente estimada a eficiência deste material no fornecimento de fósforo para plantas subseqüentes.

Nas plantas de arroz cultivadas em solo adubado com aveia-preta e milheto, ocorreu aumento da concentração de P proveniente das plantas marcadas

aos 42 dias, sendo 4,9% e 3,6%, respectivamente. A marcação de plantas de aveia preta e milheto até os 28 dias de desenvolvimento não interferiu na eficiência de absorção de P para plantas de arroz. A análise estatística não demonstrou diferença significativa na eficiência de utilização de P para plantas de arroz adubadas com nabo forrageiro marcado na semeadura e aos 14, 28 e 42 dias. Entretanto, o desvio padrão para as plantas marcadas aos 42 dias foi alto, interferindo no resultado estatístico.

Este estudo comprovou que a marcação das plantas de aveia-preta e milheto aos 42 dias afetou a distribuição de fósforo na planta e, conseqüentemente, a liberação e absorção de fósforo por plantas subseqüentes. Nessas condições, o fósforo não é igualmente incorporado nos tecidos vegetais, comprometendo os estudos de decomposição e mineralização de fósforo. As plantas de adubo verde marcadas aos 42 dias têm menor tempo para que o ^{32}P seja absorvido e incorporado aos seus tecidos, mantendo-se na forma P_{is}, principal fração de P encontrada na análise das plantas de adubo verde (Figura 5.3). Quando o adubo verde é incubado, a fração solúvel torna-se prontamente disponível para as plantas subseqüentes, justificando a maior eficiência de absorção pelas plantas de arroz observada na Figura 5.4. Portanto, plantas de aveia-preta e milheto podem ser marcadas com ^{32}P até os 28 dias de desenvolvimento, sem comprometer a homogeneidade da marcação. Para as plantas de nabo forrageiro a análise estatística demonstrou que a marcação com ^{32}P também é possível aos 42 dias, entretanto, devido ao alto desvio padrão desse tratamento, será definida como melhor época de aplicação aos 28 dias. Estudos dessa natureza, utilizando plantas de crotalária, comprovaram que é possível

aplicar ^{32}P aos 14 dias de desenvolvimento, otimizando em 50% a atividade do radioisótopo (MARSOLA, 2003).

5.2 ETAPA 2 – MINERALIZAÇÃO DE FÓSFORO NO SOLO

No cultivo de plantas realizado entre os meses de maio e agosto de 2006, a produção de massa seca foi pequena, devido às baixas temperaturas ocorridas nesses meses, suficiente apenas para o experimento de absorção de P por plantas de arroz, inviabilizando o experimento de incubação para o fracionamento de fósforo. Para condução desse experimento, foram marcadas novas plantas, cultivadas entre os meses de novembro e dezembro de 2006.

5.2.1 Produção de Adubo Verde Marcado

Esta etapa do trabalho incluiu a produção de aveia preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. De acordo com os resultados obtidos na Etapa 1, as plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro podem ser marcadas aos 28 dias de desenvolvimento sem comprometer a distribuição de P, porém, para plantas de crotalária o melhor período seria aos 14 dias (MARSOLA, 2003). Desta forma, optou-se por aplicar ^{32}P aos 14 dias de desenvolvimento das plantas de adubo verde, visando a uniformidade do experimento.

Na Figura 5.5 observa-se a produção média de massa seca (g/vaso) das plantas de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro. Foi realizado análise estatística para comparar a produção média de massa seca, dentro da mesma espécie, da parte aérea de plantas marcadas e não marcadas com ^{32}P. Letras iguais para uma mesma planta não apresentou diferença significativa pelo teste t a 5%. As

plantas de nabo forrageiro apresentaram maior produção de massa seca, seguida de crotalária, aveia-preta e milheto. A produção de massa seca da parte aérea das plantas marcadas e não-marcadas não apresentaram diferença significativa pelo teste t, comprovando que a radiação não interferiu no desenvolvimento dessas. Resultados semelhantes foram observados por Blume (1952) aplicando até 460 MBq de ^{32}P em plantas de aveia sem alteração na produção de massa seca ou conteúdo de P.

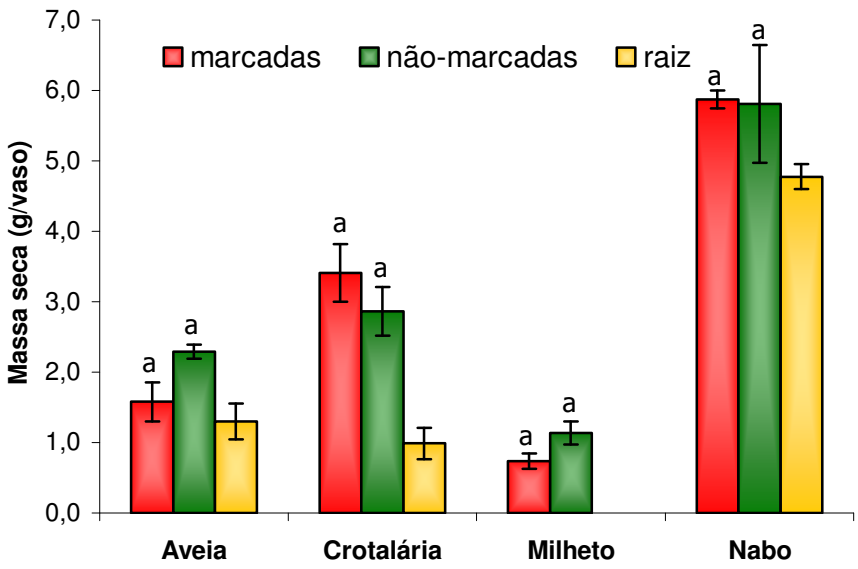

Figura 5.5 – Massa seca da parte aérea das plantas de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro, marcadas e não-marcadas com ^{32}P e raiz das plantas não-marcadas. As barras de erro indicam a estimativa de desvio padrão. Letras iguais dentro da mesma espécie de planta não diferem pelo teste t a 5%.

Segundo Calegari (1998) a aveia-preta e o nabo forrageiro podem ser cultivados no campo entre os meses de março e junho (outono/inverno), enquanto a crotalária e o milheto de setembro a dezembro (primavera/verão). Entretanto, as

temperaturas em casa de vegetação são mais altas, atenuando as baixas temperaturas do inverno, o que possibilita o cultivo de plantas típicas de verão no período de maio a agosto. Desta forma, optou-se por cultivar as diferentes espécies de plantas na mesma época para facilitar e uniformizar a condução das próximas etapas experimentais.

Comparando-se a produção de massa seca das plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro deste experimento com o anterior (Figura 5.1, plantas marcadas aos 14 dias) notou-se um decréscimo de 78, 90 e 48%, respectivamente. Essa baixa produção de massa não era esperada, uma vez que foram utilizados os mesmos tipos de solo, adubo e corretivo do experimento anterior, inclusive a mesma época de cultivo (durante o inverno). Entretanto, no ano de 2006, o inverno foi rigoroso até mesmo no interior da casa de vegetação, com temperaturas mínimas na faixa de 8 a 12 ^{o}C, prejudicando o desenvolvimento vegetativo das plantas. Observou-se que inclusive as plantas de aveia-preta apresentaram baixa produção de massa, apenas 2,3 g/vaso, apesar do seu cultivo ter sido realizado na época recomendada na literatura (CALEGARI, 1998).

A massa seca das repetições de cada espécie de planta foi somada e a massa total produzida está apresentada na Tabela 5.1. Observa-se que mesmo somando-se as repetições as massas da parte aérea e raízes das plantas de aveia-preta e milheto foram muito baixas. Sendo assim, optou-se por não utilizar plantas de milheto no experimento de incubação e cultivo de arroz e as plantas de aveia-preta foram incubadas por períodos menores (20 e 40 dias).

Tabela 5.1 – Produção total de massa seca da parte aérea (PA) e raiz das plantas de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro.

	PA marcada	PA não-marcada	raiz não-marcada
	---------- massa total (g) ----------		
Aveia-preta	6,31	4,58	2,60
Crotalária	13,63	11,44	3,95
Milheto	2,95	2,27	–
Nabo forrageiro	23,48	11,62	9,55

Determinou-se P total na parte aérea e nas raízes das misturas das repetições das plantas não-marcadas com ^{32}P, com exceção às plantas de milheto que, devido à baixa produção de massa seca, não foram analisadas. Foram observadas baixas concentrações de P total na parte aérea, sendo 1,7; 1,2 e 0,8 g kg^{-1} P, respectivamente, para aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro. Esses resultados, apesar de inferiores, seguem a mesma tendência dos apresentados por Calegari (1998), que observou maiores concentrações de P nas plantas de aveia-preta (2,8 g kg^{-1}), seguida de crotalária (1,9 g kg^{-1}) e nabo forrageiro (1,7 g kg^{-1}).

As concentrações de P nas raízes foram 0,94; 1,04 e 1,63 g kg^{-1}, respectivamente, para aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro não-marcados com ^{32}P. Notou-se que nas plantas de nabo forrageiro as maiores concentrações de P foram observadas nas raízes, com 53% mais P que na parte aérea. Considerando a produção de massa seca das raízes (4,8 g/vaso) e da parte aérea (5,8 g/vaso) de nabo forrageiro, observou-se que as raízes contribuíram com a maior parte do P,

totalizando 7,8 mg de P, contrapondo-se a 4,6 mg de P na parte aérea. Além do aporte nutricional, as raízes profundas do nabo contribuem também com a descompactação e oxigenação, melhorando as características físicas do solo (DERPSCH; CALEGARI, 1992).

Nas plantas marcadas com ^{32}P foram determinados P total e as frações solúveis de P, apresentados na Figura 5.6. Esses parâmetros não foram determinados nas plantas de milheto devido à baixa produção de massa seca. Foram observadas maiores concentrações de P nas plantas de aveia-preta, pois devido à menor produção de massa seca, ocorreu um acúmulo desse nutriente nos tecidos. As plantas apresentaram grandes quantidades de P solúvel, sendo que a maior parte encontra-se no vacúolo das células na forma inorgânica, denominada de "reservatório não-metabólico" (BIELESKI; FERGUSON, 1983). O "reservatório metabólico", de acordo com Bieleski e Ferguson (1983), corresponde ao éster-fosfato encontrado no citoplasma e organelas da célula. Na Figura 5.6, esse reservatório é representado pela diferença entre o P_t e P_{ts}, denominado de P insolúvel. Essa fração corresponde a 42, 48 e 40% do P total das plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro, respectivamente. A fração P insolúvel é representada principalmente pelo P metabolizado pela planta na forma orgânica de éster, DNA, RNA e NADPH (SCHACHTMAN; REID; AYLING, 1998). Furtini Neto et al. (1998), avaliaram as frações de P em mudas de eucalipto e observaram valores maiores de P_{ts}, entretanto esses valores são expressos em massa fresca, impedindo a comparação direta com os resultados obtidos neste experimento.

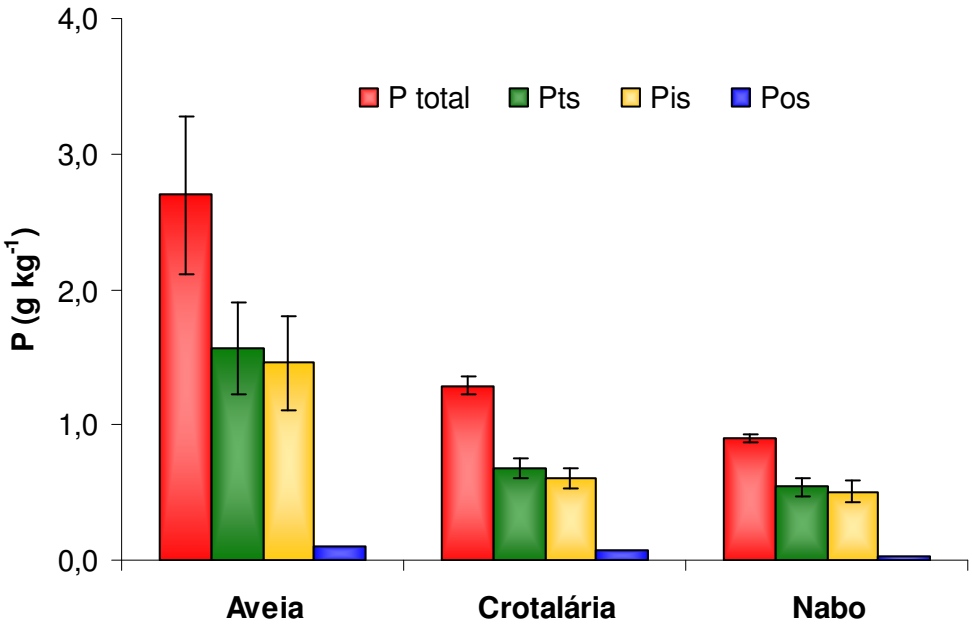

Figura 5.6 – Concentração de P total (P_t), P total solúvel (P_{ts}), P inorgânico solúvel (P_{is}) e P orgânico solúvel (P_{os}) nas misturas das repetições das plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. As barras de erro indicam a estimativa de desvio padrão.

Assim como a produção de massa seca, a concentração de P nas plantas foi inferior à obtida na primeira etapa do experimento (Figura 5.3). A maior redução na concentração de P ocorreu nas plantas de nabo forrageiro nas frações P_t (72%) e P_{ts} (75%). As plantas de aveia-preta apresentaram a menor redução na concentração de P_t (15%), enquanto a redução da fração P_{ts} foi de 35%.

Com base nas concentrações de P nas plantas de adubo verde foram efetuados os cálculos da quantidade de P aplicado no solo para incubação e cultivo de plantas de arroz. Na Tabela 5.2, são apresentados o P total aplicado no solo, considerando a adição de 1,0 g de matéria seca de adubo verde por vaso (0,5 g de terra). Os vasos dos tratamentos com parte aérea de nabo forrageiro receberam

menores quantidades de P, contrapondo-se aos tratamentos com as raízes dessa planta.

Tabela 5.2 – Fósforo total aplicado no solo proveniente de parte aérea marcada com ^{32}P e parte aérea e raiz não-marcadas de plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro.

	PA marcada	PA não-marcada	raiz não-marcada
	---------- P total aplicado (mg/vaso) ----------		
Aveia-preta	2,7	1,7	0,9
Crotalária	1,3	1,2	1,0
Nabo forrageiro	0,9	0,8	1,6

A atividade específica do P_t e P_{ts} das plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro é apresentada na Figura 5.7. Nas plantas de milheto, não foram determinadas a atividade específica devido à baixa produção de massa. O radioisótopo absorvido pelas plantas e ainda não metabolizado encontra-se na fração $^{32}P_{ts}$, que compõe a maior parte do $^{32}P_t$ das plantas, correspondendo a 71, 69 e 61% do ^{32}P total das plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro, respectivamente.

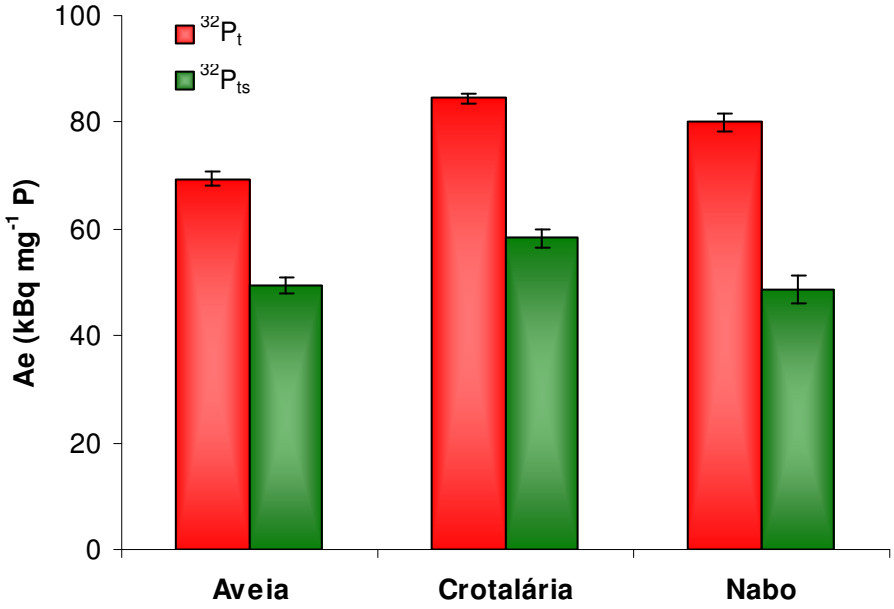

Figura 5.7 – Atividade específica do P total ($^{32}P_t$) e P total solúvel ($^{32}P_{ts}$) na parte aérea das plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P. As barras de erro indicam a estimativa de desvio padrão.

Quando as plantas marcadas são utilizadas como adubo verde, o radioisótopo presente na fração solúvel está prontamente disponível no solo e facilmente absorvido por plantas subseqüentes. Por outro lado, essa fração pode ser rapidamente adsorvida as partículas de argila, acumulando-se na fração não-lábil ou pouco-lábil, interferindo na absorção imediata do P (NOVAIS; SMYTH, 1999). A diferença entre o $^{32}P_t$ e o $^{32}P_{ts}$ corresponde ao ^{32}P insolúvel, ou seja, metabolizado pela planta. Esta fração não está prontamente disponível e precisa ser decomposta por microorganismos para liberar o isótopo marcado para plantas subseqüentes. O cálculo da atividade específica da fração insolúvel resultou: 7,9; 10,5 e 12,5 kBq mg^{-1} P, respectivamente, para aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro. Pelo teste t a 5%

observou-se que não houve diferença significativa entre o ^{32}P metabolizado (P insolúvel) das plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro.

5.2.2 Absorção de Fósforo por Plantas de Arroz

As plantas de arroz foram cultivadas em solo incubado com parte aérea de adubo verde marcado com ^{32}P e parte aérea e raiz não-marcadas, sendo as concentrações de P nas plantas de arroz apresentadas na Figura 5.8. Devido à baixa produção de massa seca, não foram cultivadas plantas de arroz em solo incubado por 60 dias com aveia-preta marcada com ^{32}P.

As concentrações de P nas plantas de arroz cultivadas após incubação de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro foram semelhantes, entretanto, esperava-se menor absorção de P pelas plantas cultivadas em solo incubado com parte aérea de nabo forrageiro, devido a baixa concentração de P (Tabela 5.2) nesse material (0,8 g kg^{-1}). Por outro lado, devido aos maiores teores de P nas raízes de nabo forrageiro (1,63 g kg^{-1}), eram esperadas maiores concentrações de P no arroz cultivado em solo incubado com esta parte do material vegetal. Entretanto, as concentrações foram semelhantes para incubação de raízes de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro.

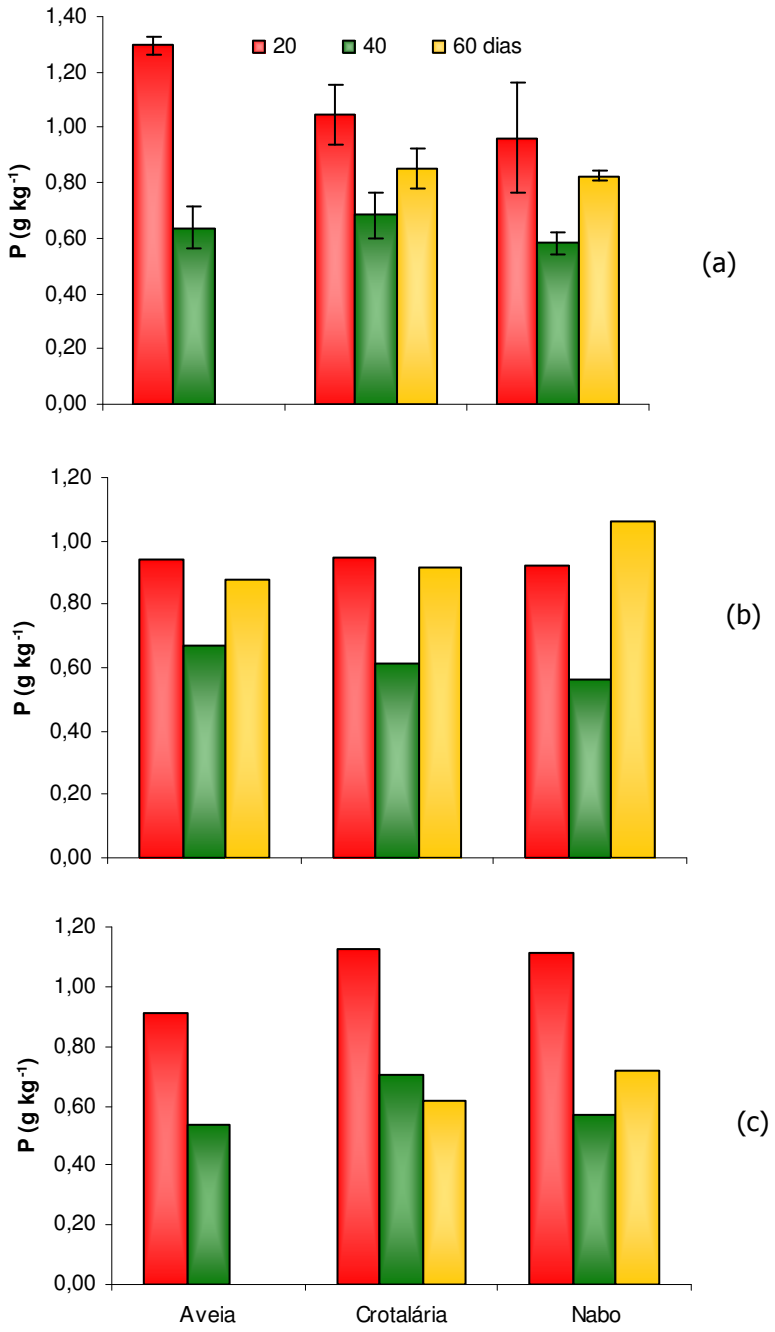

Figura 5.8 – Concentração de P nas plantas de arroz adubadas com aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro. (a) parte aérea marcada com ^{32}P; (b) parte aérea não-marcada e (c) raiz não-marcada.

As quantidades de P aplicado no solo via adubo verde foram baixas (Tabela 5.2), portanto as semelhanças entre as concentrações de P no arroz

adubado com aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro eram esperadas. Matias (2006) também cultivou arroz em casa de vegetação sem adubação, utilizando Latossolo Vermelho Amarelo com 3,0 mg kg^{-1} de P, e observou concentrações de P variando de 0,33 a 0,43 g kg^{-1}, menores que as encontradas neste experimento (Figura 5.8). Entretanto, em cultivo de arroz utilizando Planossolo Háplico, com concentrações semelhantes de P, Francisco (2006) observou valores maiores (0,98 g kg^{-1}).

A eficiência de recuperação ou eficiência de utilização é definida como a quantidade de nutriente acumulado na planta por unidade de nutriente aplicado. Esse parâmetro foi calculado segundo a equação 4 (item 4.1.6), considerando-se a porcentagem e a quantidade de ^{32}P no arroz proveniente do adubo verde. Na Figura 5.9, encontram-se as eficiências de utilização de P por plantas de arroz incubadas com aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro por 20, 40 e 60 dias. Não foi cultivado arroz adubado com aveia-preta incubada por 60 dias devido à baixa produção de massa dessa espécie de adubo verde.

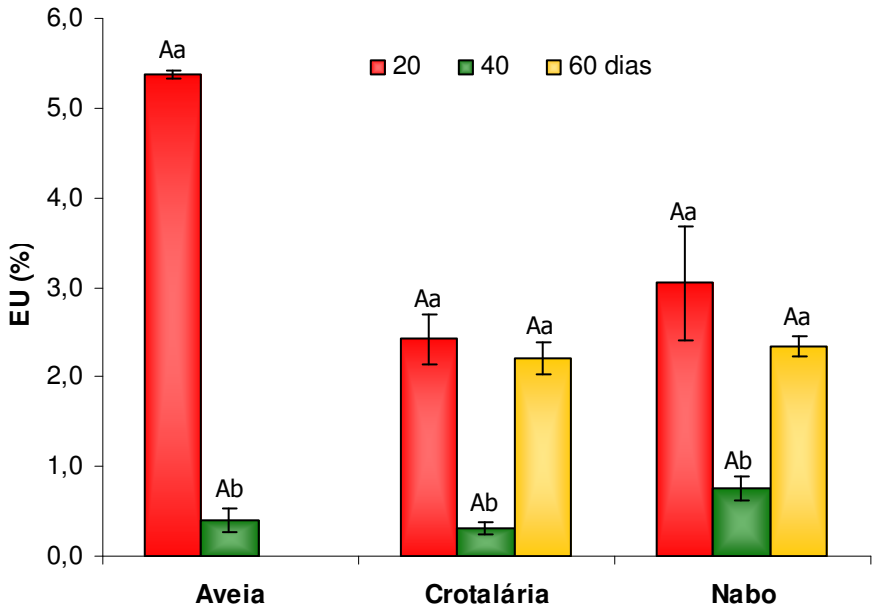

Figura 5.9 – Eficiência de utilização de fósforo (EU) nas plantas de arroz adubadas com parte aérea de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e incubadas por 20, 40 e 60 dias. As barras de erro indicam a estimativa de desvio padrão. Letras MAIÚSCULAS iguais dentro dos períodos de incubação e letras MINÚSCULAS iguais dentro da mesma espécie de adubo verde não diferem pelo teste t a 5%.

De acordo com as análises estatísticas, as maiores %EU foram observadas nas plantas de arroz cultivadas em solo incubado por 20 e 60 dias, sendo que as plantas cultivadas em solo incubado por 40 dias apresentaram eficiências bastante inferiores. Notou-se que o arroz adubado com aveia preta incubada por 20 dias apresentou a maior %EU (5,4%), decaindo no tratamento incubado por 40 dias (0,4%). Entretanto, devido aos problemas experimentais anteriormente discutidos, não foi possível observar a evolução deste parâmetro para incubação de aveia-preta por 60 dias.

A %EU do ^{32}P proveniente do adubo verde foi baixa, alcançando o máximo no tratamento com aveia-preta incubada por 20 dias (5,4%). Esses valores são semelhantes aos encontrados por Till e Blair (1978), sendo 3,6% na parte aérea de capim tapete cultivado em solo adubado com trevo marcado com ^{32}P, incubado à temperatura de 10-15 ^{o}C. Entretanto, no mesmo experimento, foi estimada %EU de 11,0% na parte aérea de capim tapete para plantas de trevo incubadas em temperaturas de 22 a 28 ^{o}C. A análise das raízes das plantas de capim tapete também apresentou alta %EU, 18,6% para incubação de 10-15 ^{o}C e 17,3% para 22-28 ^{o}C. Entretanto, esses valores são questionáveis, pois a determinação de ^{32}P em raízes pode ser superestimada devido à presença de partículas de argila de difícil remoção. Portanto, no presente experimento, foi analisada apenas a parte aérea das plantas de arroz, evitando o manuseio direto do ^{32}P do solo, priorizando aspectos de segurança. McLaughlin e Alston (1986), em estudos com *Medicago trunculata* como adubo verde para plantas de trigo, observaram 4,2% de EU, semelhante ao encontrado neste experimento. McLaughlin et al. (1988), em experimento semelhante ao desenvolvido em 1986, observaram que aos 18 dias de cultivo, 7% do P na planta era derivado de resíduo vegetal, sendo que esta porcentagem se manteve constante até o 81° dia de cultivo.

O fósforo absorvido pelas plantas é armazenado em seus tecidos na forma orgânica ou inorgânica. Quando o material vegetal é utilizado como adubo verde, o fósforo armazenado é liberado na solução do solo. Esse processo pode ser imediato ou a longo prazo, dependendo da quantidade de P orgânico e inorgânico presente no material vegetal. A fração inorgânica é prontamente disponível para plantas

subseqüentes, devido à alta solubilidade na solução do solo, enquanto a fração orgânica necessita ser mineralizada para posterior absorção (TATE, 1984).

As plantas de adubo verde utilizadas neste experimento apresentaram grandes quantidades de P_{is} (Figura 5.6) e $^{32}P_{ts}$ (Figura 5.7), prontamente liberados na solução do solo, possibilitando maior absorção de P no primeiro período de incubação. À medida que o P_{is} é liberado, as espécies podem ser absorvidas pelas plantas subseqüentes ou fixadas às partículas de argila, diminuindo sua disponibilidade no solo. Nos tratamentos onde o solo foi incubado por 40 dias, o P_{is} liberado não foi absorvido imediatamente, pois o cultivo das plantas de arroz se deu após este período, tempo suficiente para tornar indisponível o P_{is} e diminuir a %EU de fósforo.

O material vegetal incubado por períodos mais longos libera a maioria do P solúvel no início da incubação, entretanto parte do fósforo é fixada às partículas de argila. O material vegetal em contato com o solo por maior tempo sofre ação dos microorganismos e fosfatases, degradando os compostos orgânicos (fração P insolúvel) e liberando P mineralizado na solução do solo. McLaughlin e Alston (1986) observaram um aumento de 124% na atividade microbiana do solo na presença de material vegetal, comprovando a importância deste na mineralização de fósforo orgânico. Considerando esta hipótese, a maior %EU nos tratamentos com adubo verde incubado por 60 dias (Figura 5.9) deve-se à mineralização e posterior absorção do fósforo por plantas de arroz.

5.2.3 Frações de Fósforo no Solo

Para realização deste experimento foram cultivadas, entre os meses de novembro e dezembro de 2006, plantas de adubo verde marcadas com ^{32}P. A concentração das frações de P e a atividade específica na parte aérea das plantas encontra-se na Tabela 5.3. Foram observadas concentrações de P superiores as encontradas nas plantas de adubo verde cultivadas para o experimento de absorção de P por plantas de arroz. Isso ocorreu devido às melhores condições ambientais em que se desenvolveram as plantas, resultando também em maior produção de massa seca, sendo 5,5; 19,8; 12,2 e 7,0 g/vaso para aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro, respectivamente.

Tabela 5.3 – Concentração das frações de P e atividade específica das plantas de adubo verde marcadas com ^{32}P.

Adubo verde	P_t	P_{ts}	P_{is}	P_{os}	$^{32}P_t$	$^{32}P_{ts}$
	---------- g kg^{-1} ----------				Ae (kBq mg^{-1})	
Aveia-preta	7,3	3, 6	2,8	0,7	9,9	7,8
Crotalária	5,1	2,0	1,7	0,3	9,3	4,4
Milheto	4,4	2,2	1,5	0,7	10,0	7,0
Nabo	9,8	4,3	3,9	0,4	9,7	9,1

P_t - P total; P_{ts} - P total solúvel; P_{is} - P inorgânico solúvel e P_{os}- P orgânico solúvel.

As atividades específicas das plantas (Tabela 5.3), entretanto, diminuíram, devido a diluição ocorrida pelo aumento da produção de massa. Desta forma, incubou-se 5,0 g (10,0 g kg^{-1} solo) de adubo verde para minimizar o efeito da baixa atividade específica das plantas. Apesar da quantidade de material vegetal incubada

ser 5 vezes maior que a utilizada no experimento de absorção de P por plantas de arroz (2,0 g kg^{-1}), esse valor é bastante inferior ao aplicado no solo em condições de campo. A produção de massa seca de plantas de crotalária, por exemplo, atinge 15 t ha^{-1} (CALEGARI, 1998) correspondendo à quantidade aproximada de 150 g kg^{-1} de solo, superiores às empregadas neste experimento.

As concentrações de P_i na fração extraída com resina de troca iônica e a atividade específica de ^{32}P são apresentadas nas Tabelas 5.4 e 5.5, respectivamente. Também são apresentadas as concentrações obtidas na análise do solo sem incubação de adubo verde. Foram realizadas análises estatísticas (teste t a 5%) para comparar as médias das concentrações de P e a atividade específica de ^{32}P em uma mesma espécie, incubada por 20, 40 e 60 dias e diferentes espécies incubadas por um mesmo período. A concentração de P no solo sem incubação, utilizado como testemunha, foi comparada com as médias para uma mesma espécie nos diferentes períodos de incubação.

Tabela 5.4 – Concentração de P_i, extraído com resina, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal.

Adubo verde	sem adubo verde	dias de incubação 20	40	60
	---------- mg kg^{-1} ----------			
Aveia-preta	5,21 ± 0,26 C	19,39 ± 2,29 Aa	16,22 ± 1,62 Ba	14,59 ± 0,54 Bb
Crotalária	5,21 ± 0,26 C	10,52 ± 0,55 Ab	7,91 ± 1,70 Bb	9,76 ± 1,59 ABc
Milheto	5,21± 0,26 C	10,47 ± 0,72 Ab	7,09 ± 0,64 Bb	9,60 ± 0,45 Ac
Nabo forrageiro	5,21 ± 0,26 C	20,46 ± 1,66 Aa	14,51 ± 1,57 Ba	19,01 ± 3,38Aa

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha e MINÚSCULAS iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t a 5%.

Tabela 5.5 – Atividade específica de ^{32}P, extraído com resina, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P.

Adubo verde	dias de incubação 20	40	60
	---------- dpm mg^{-1} ----------		
Aveia-preta	265,16 ± 17,61 Aa	202,10 ± 17,05 Bb	201,77 ± 12,34 Bb
Crotalária	142,42 ± 5,10 Ac	122,25 ± 6,49 Bc	118,16 ± 9,22 Bd
Milheto	173,06 ± 10,95 Ab	136,36 ± 1,01 Bc	147,24 ± 7,56 Bc
Nabo forrageiro	278,09 ± 6,06 Aa	234,70 ± 6,95 Ba	224,21 ± 3,27 Ba

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha e MINÚSCULAS iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t a 5%.

A concentração de P_i da fração resina (Tabela 5.4) nos solos adubados com aveia-preta foi maior aos 20 dias de incubação, diferindo dos períodos de 40 e 60 dias, que não apresentaram diferença significativa entre si. A incubação com

plantas de crotalária, milheto e nabo forrageiro não apresentaram diferença significativa para os períodos de 20 e 60 dias, enquanto a incubação por 40 dias apresentou menor concentração de P. A atividade específica de ^{32}P na fração P-resina (Tabela 5.5) seguiu a mesma tendência da concentração de P, com maiores valores para incubação do solo por 20 dias, entretanto os valores de Ae para incubação por 40 e 60 dias não apresentaram diferença significativa para todas as plantas. No solo incubado com crotalária, milheto e nabo forrageiro, o decréscimo na fração P_i-resina no período de 40 dias (Tabela 5.4) pode ter ocorrido devido à maior liberação de P no início do processo de incubação com posterior fixação do P às partículas de argila, diminuindo a fração P-lábil aos 40 dias de incubação. Este fato pode ser explicado pela degradação do material vegetal, aumentando P na solução do solo. Entretanto, os resultados de Ae aos 60 dias não diferiram dos valores obtidos aos 40 dias de incubação, demonstrando que o incremento da concentração de P_i-resina não provém do material vegetal marcado com ^{32}P. Provavelmente houve liberação do fósforo presente no solo estimulado pela presença de material vegetal e microorganismos.

Foram observadas altas concentrações da fração P_i-resina para todos os resíduos de plantas avaliados, contrapondo-se ao solo sem resíduo com apenas 5,21 mg kg^{-1} de solo (Tabela 5.4), que apresentou diferença significativa dos demais tratamentos. As maiores concentrações de P e atividade específica de ^{32}P foram encontradas no solo incubado com aveia-preta e nabo forrageiro, devido às maiores quantidades de P nessas espécies de plantas (Tabela 5.3). Esses dados sugerem que a aplicação de adubo verde aumenta consideravelmente o P-lábil, devido à presença de P solúvel nos tecidos vegetais, liberando mais facilmente o P na solução do solo.

Esta hipótese é reforçada pelos maiores valores de atividade específica encontrados no solo incubado por 20 dias.

O aumento do P-lábil no solo na presença de adubo verde foi observado por vários autores (NZIGUHEBA et al., 1998; PAVAN; LEAL, 1995; MCLAUGHLIN; ALSTON, 1986). Entretanto, o tipo de solo, a temperatura de incubação e o material vegetal utilizado são fatores que podem interferir na disponibilidade do P na solução do solo. Basamba et al. (2006), avaliando solos colombianos com diferentes manejos, observaram que o uso de adubo verde na rotação de cultura com milho e soja aumentou em 42% a fração P_i-resina, em comparação à testemunha e concluiram que os adubos verdes aumentaram a disponibilidade de P e a fertilidade do solo.

A concentração de P no solo, obtido na fração $NaHCO_3$, está apresentada na Tabela 5.6 e a atividade específica de ^{32}P nessa fração encontra-se na Tabela 5.7. Foram realizados teste t a 5% para avaliar a diferença estatística das médias das concentrações de P e da atividade específica de ^{32}P para uma mesma espécie, comparando-se os diferentes dias de incubação e para comparar diferentes espécies incubadas por um mesmo período. A concentração de P no solo sem adubo verde foi comparada com os diferentes períodos de incubação na mesma planta para avaliar o incremento de P nessa fração obtido com material vegetal.

Tabela 5.6 – Concentração de P, extraído com $NaHCO_3$, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal.

Adubo verde	sem adubo verde	dias de incubação 20	40	60
	---------- mg kg^{-1} ----------			
Aveia-preta	10,06±0,10 C	21,44±1,54 Aab	15,15±0,24 Bab	16,46±0,56 Bb
Crotalária	10,06±0,10 C	18,10±0,67 Ab	13,13±2,17 BCb	14,30±0,14 Bc
Milheto	10,06±0,10 C	19,40±1,54 Ab	12,66±0,47 Bb	14,60±0,66 Bbc
Nabo forrageiro	10,06±0,10 C	24,51±1,25 Aa	17,88±0,05 Ba	18,72±1,04 Ba

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha e MINÚSCULAS iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t a 5%.

Tabela 5.7 – Atividade específica de ^{32}P, extraído com $NaHCO_3$, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P.

Adubo verde	dias de incubação 20	40	60
	---------- dpm mg^{-1} ----------		
Aveia-preta	143,72 ± 7,35 Cb	163,55 ± 0,79 Ba	176,35 ± 2,23 Aa
Crotalária	148,10 ± 1,95 Ab	97,13 ± 30,28 Bb	118,94 ± 12,96 Bb
Milheto	100,70 ± 5,60 Ac	108,55 ± 7,70 Ab	72,91 ± 26,7 Bc
Nabo forrageiro	168,99 ± 4,30 Ca	174,30 ± 0,55 Ba	201,24 ± 4,71 Aa

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha e MINÚSCULAS iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t a 5%.

A fração de P extraída com $NaHCO_3$, juntamente com a fração resina, compõe o P-lábil do solo, prontamente disponível para as plantas. Comparando-se os

períodos de incubação observou-se que as plantas de aveia-preta e nabo forrageiro apresentaram maiores concentrações da fração P-$NaHCO_3$ nos períodos de 20 e 40 dias, enquanto o nabo foi superior a todas as espécies no período de 60 dias (Tabela 5.6). Para incubação aos 20 e 40 dias, as plantas de aveia-preta, crotalária e milheto não apresentaram diferença significativa, enquanto para incubação aos 60 dias, observou-se semelhança entre as plantas de crotalária e milheto, sendo que esta espécie também foi semelhante a aveia-preta.

A concentração de P-$NaHCO_3$ para todas as espécies incubadas foi maior no período de 20 dias, sendo que as concentrações nos períodos de 40 e 60 dias são semelhantes para todas as espécies avaliadas (Tabela 5.6). Entretanto, a incubação com plantas de crotalária por 40 dias não apresentou diferença significativa comparada ao solo sem adubo verde. A atividade específica de ^{32}P-$NaHCO_3$ foi maior no período de incubação de 20 e 40 dias para as plantas de milheto, enquanto para plantas de aveia-preta e nabo forrageiro as maiores atividades foram observadas no período de 60 dias (Tabela 5.7).

A fração P-$NaHCO_3$ foi a maior responsável pelo P-lábil do solo, variando entre 48 e 65% do P-lábil total, embora na literatura tenham sido observados resultados inferiores, de 17 a 18% (PAVAN; CHAVES, 1996) e superiores, média de 90% (NZIGUHEBA et al., 1998). Valores semelhantes ao encontrado neste trabalho foram apresentados por Basamba et al. (2006) em estudos de fracionamento em solos de plantio direto.

Observou-se um decréscimo da concentração de P-$NaHCO_3$ para os períodos mais longos de incubação (40 e 60 dias) (Tabela 5.6). Esse decréscimo também foi observado na fração P_i-resina aos 40 dias (Tabela 5.4), entretanto, para

o períodos de 60 dias houve um aumento da concentração de P_i-resina, o que não foi observado na fração P-$NaHCO_3$. Provavelmente, isto ocorreu devido à imobilização do P solúvel para formas mais estáveis, diminuindo o P-lábil do solo.

A concentração de P-$NaHCO_3$ no solo sem adubo verde foi inferior à maioria dos tratamentos com material vegetal (Tabela 5.6), com exceção à crotalária incubada por 40 dias que apresentou valores superiores de concentração de P-$NaHCO_3$, entretanto devido ao alto desvio padrão das médias, não foi observada diferença significativa em comparação ao solo sem adubo verde. Desta forma, pode-se comprovar o incremento da fração P-$NaHCO_3$ com o uso de adubo verde. Entretanto, estudos conduzidos por McLaughlin e Alston (1986) não observaram diferença na concentração da fração P-$NaHCO_3$ no solo tratado com resíduo vegetal e o controle.

Na Tabela 5.8 são apresentadas as concentrações da fração P-microbial do solo incubado com aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro por 20, 40 e 60 dias. A comparação das médias foi realizada pelo teste t a 5%, variando-se as espécies de plantas para o mesmo período de incubação e o período de incubação para uma mesma planta. A concentração de P-microbial no solo sem adubo verde foi comparada com os diferentes períodos de incubação para uma mesma espécie para avaliar o incremento obtido com a aplicação do material vegetal. Não foi possível calcular a atividade específica de ^{32}P nestas frações, pois as contagens nos extratos foram baixas.

Tabela 5.8 – Concentração de P-microbial no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal.

Adubo verde	sem adubo verde	dias de incubação 20	40	60
	---------- mg kg^{-1} ----------			
Aveia-preta	2,22 ± 0,10 B	6,53 ± 1,54 A	1,50 ± 0,24 B	1,60 ± 0,56 B
Crotalária	2,22 ± 0,10	3,94 ± 0,67	3,06 ± 2,17	2,23 ± 0,14
Milheto	2,22 ± 0,10 B	5,36 ± 1,54 A	1,86 ± 0,47 B	2,60 ± 0,66 B
Nabo forrageiro	2,22 ± 0,10 B	7,25 ± 1,25 A	nd	1,13 B

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha não diferem pelo teste t a 5%. nd- não detectado.

O P-microbial foi calculado subtraindo-se os valores de P-$NaHCO_3$ e P-$NaHCO_3$ + clorofórmio, responsável pela lise de fungos e bactérias, liberando o P desses microorganismos no extrato. A incubação do material vegetal por 20 dias apresentou maiores concentrações de P-microbial para as plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro (Tabela 5.8). Entretanto, para o solo incubado com crotalária não foi observada alteração na fração P-microbial para os diferentes períodos de incubação e para o solo sem adubo verde. Não foram observadas diferenças significativas na comparação das diferentes espécies de adubo verde para cada período de incubação.

As concentrações de P-microbial obtidos neste experimento (Tabela 5.8) são, no mínimo, duas vezes maiores às encontradas em solos brasileiros, aproximadamente 0,8 mg kg^{-1} de P em lavouras de café do norte do Estado do Paraná (PAVAN; CHAVES, 1996; PAVAN; ANDROCIOLI FILHO, 1995). Entretanto, valores superiores foram observados por McLaughlin e Alston (1986) (8,0 a 12,2

mg kg^{-1}) e Nziguheba et al. (1998) (5,0 a 20 mg kg^{-1}), avaliando solos com maiores valores de pH. A metodologia utilizada neste experimento para determinar P-microbial foi desenvolvida inicialmente por Hedley e Stewart (1982), que aferiram o método utilizando solo com pH 7,4 e adição conhecida de microorganismos. Concluíram que a porcentagem de recuperação de P-microbial varia em função do tipo de solo, capacidade de adsorção de P e pH, sendo que em seus experimentos foi recuperado de 32 a 47% dos microorganismos adicionados. Desta forma, os autores recomendam que os valores de P-microbial obtidos sejam divididos por 0,4 (fator *Kp*) em solos com pH na faixa de 6,2 a 8,2. Entretanto, Hedley e Stewart (1982) afirmaram que para solos intemperizados, com alta adsorção de P e baixo pH, a recuperação do P-microbial seja inferior. Assim, os valores de P-microbial obtidos neste experimento (Tabela 5.8) são subestimados, devido às características do solo utilizado e a incerteza da porcentagem de recuperação.

Os mecanismos de mineralização/imobilização variam principalmente devido à razão $C:P_o$ no solo, sendo que em solos com razão alta ocorre preferencialmente a imobilização e a medida que a razão diminui, a mineralização prevalece (HAVLIN et al., 2005). Desta forma, em solos com menores quantidades de P_o ocorre a conversão de formas inorgânicas para orgânicas. Na Figura 5.10, são apresentadas as concentrações de matéria orgânica (RAIJ et al., 1987) e P-microbial dos solos incubados com adubo verde nos diferentes períodos. O aumento de carbono orgânico no solo (MO) nos períodos de incubação mais longos coincide com a diminuição do P-microbial, indicando maior razão $C:P_o$, portanto a imobilização é o principal mecanismo regulador.

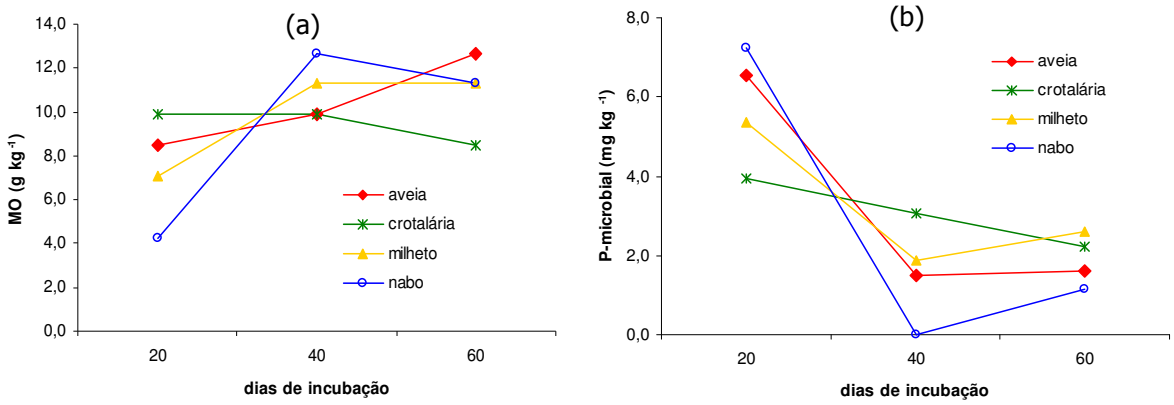

Figura 5.10 – Concentração de matéria orgânica (a) e P-microbial (b) no solo incubado com aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro por períodos de 20, 40 e 60 dias.

As concentrações de P_i, P_o e a atividade específica de ^{32}P na fração de P no solo extraída com NaOH, são apresentadas nas Tabelas 5.9, 5.10 e 5.11, respectivamente. A concentração de P_o e atividade específica de ^{32}P para o período de 40 dias não foram avaliadas devido a problemas ocorridos com a digestão do extrato. A comparação das médias foi realizada pelo teste t a 5%, variando-se os períodos de incubação para uma mesma planta e as espécies de plantas para o mesmo período de incubação. A concentração de P_i e P_o-NaOH no solo sem adubo verde foi comparada com os diferentes períodos de incubação para a mesma espécie para avaliar o incremento obtido com a aplicação do material vegetal.

Tabela 5.9 – Concentração de P inorgânico (P_i), extraído com NaOH, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal.

Adubo verde	sem adubo verde	dias de incubação 20	40	60
	---------- mg kg^{-1} ----------			
Aveia-preta	16,78 ± 1,13 B	22,53 ± 0,85 A	22,37 ± 0,84 Ab	22,44 ± 1,99 Aa
Crotalária	16,78 ± 1,13	17,68 ± 3,67	21,18 ± 0,45 bc	21,50 ± 0,15 b
Milheto	16,78 ± 1,13 B	21,58 ± 0,99 A	20,12 ± 0,25 Ac	21,00 ± 0,97 Ab
Nabo forrageiro	16,78 ± 1,13 C	23,05 ± 0,74 B	24,80±0,40 ABa	25,50 ± 0,61 Aa

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha e MINÚSCULAS iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t a 5%.

O fósforo extraído com NaOH representa a fração moderadamente lábil no solo, associada principalmente a compostos de Fe e Al. A incubação do solo com plantas de aveia-preta, crotalária e milheto não alterou a fração de P_i-NaOH nos diferentes períodos de incubação (Tabela 5.9). Entretanto, a adição de material vegetal apresentou diferença significativa na fração P_i-NaOH quando comparada ao solo sem adubo verde, demonstrando o incremento dessa fração na presença de material vegetal. Para incubação com plantas de crotalária, a fração P_i-NaOH não apresentou diferença significativa quando comparada ao solo sem adubo verde, indicando que o uso dessas plantas não interferiu na quantidade de P ligado a Fe e Al. Yang e Jacobsen (1990) também não observaram alterações na P-NaOH em solos adubados com doses crescentes de P em diferentes períodos de incubação.

A incubação com plantas de nabo forrageiro aumentou a fração P_i-NaOH em comparação ao solo sem adubo verde. A concentração de P_i foi maior no período

de incubação de 60 dias, sendo que a incubação por 40 dias foi semelhante a ambos os períodos. As plantas de nabo forrageiro apresentaram as maiores concentrações de P_i-NaOH no período de 40 dias e para o período de 60 dias as plantas de aveia-preta e nabo forrageiro não apresentaram diferença significativa. Para o período de 20 dias não foram observadas diferença significativa para todas as espécies avaliadas.

Tabela 5.10 – Concentração de P orgânico (P_o), extraído com NaOH, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal.

Adubo verde	sem adubo verde	dias de incubação	
		20	60
	---------- mg kg^{-1} ----------		
Aveia-preta	62,51 ± 3,21	60,65 ± 8,84 b	62,68 ± 0,92 c
Crotalária	62,51 ± 3,21	54,74 ± 3,72 bc	63,39 ± 3,38 c
Milheto	62,51 ± 3,21 B	42,57 ± 7,34 Cc	82,54 ± 3,12 Aa
Nabo forrageiro	62,51 ± 3,21 B	79,73 ± 0,74 Aa	72,06 ± 2,78 Ab

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha e MINÚSCULAS iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t a 5%.

O fósforo orgânico extraído com NaOH está ligado a Fe a Al, juntamente à fração húmus do solo, formando complexo com a matéria orgânica. A concentração de P_o-NaOH nos solos, incubados com plantas de aveia-preta e crotalária, não apresentou diferença significativa, pelo teste t a 5%, para os períodos de 20 e 60 e o solo sem adubo verde (Tabela 5.10), concluindo que a aplicação dessas espécies não interferiu nessa fração de fósforo. A incubação com plantas de nabo, entretanto,

aumentou a fração P_o-NaOH do solo em comparação ao solo sem incubação. Plantas de milheto apresentaram maior fração P_o-NaOH no período de incubação de 60 dias.

Comparando-se as concentrações de P_o e P_i extraídos com NaOH (Tabelas 5.9 e 5.10) observou-se que as concentrações de P_o são em média 3 vezes maiores que a concentração de P_i. Resultados ainda superiores foram encontrados por McLaughlin e Alston (1986) e Nziguheba et al. (1998), em estudo com resíduo de planta associado a fertilizante mineral. Entretanto, em estudos desenvolvidos em solos do Estado do Paraná foram observadas maiores concentrações de P_i em comparação a P_o (PAVAN; CHAVES, 1996; PAVAN; ANDROCIOLI FILHO, 1995; PAVAN; LEAL, 1995).

A atividade específica de ^{32}P na fração extraída com NaOH em solo incubado com plantas de crotalária e milheto foram semelhantes para os períodos avaliados (Tabela 5.11). Para incubação de aveia preta e nabo forrageiro a atividade específica foi maior no período de 60 dias, demonstrando que o ^{32}P das plantas foi incorporado a esta fração. As plantas de nabo forrageiro apresentaram maior atividade específica de ^{32}P comparando-se o período de incubação para as diferentes espécies. Observando-se as Tabelas 5.5, 5.7 e 5.11 de atividade específica de ^{32}P para os extratos P-resina, P-$NaHCO_3$ e P-NaOH, respectivamente, notou-se que a atividade específica na extração P-NaOH foram menores que as obtidas nos extratos anteriores. Desta forma, esses dados sugerem que o adubo verde incorporado ao solo tem maior contribuição nas frações lábeis de fósforo que nas formas pouco lábeis.

Tabela 5.11 – Atividade específica de ^{32}P, extraído com NaOH, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P.

Adubo verde	dias de incubação 20	60
	---------- dpm mg^{-1} ----------	
Aveia-preta	73,37 ± 3,49 Bab	104,46 ± 4,03 Ab
Crotalária	63,54 ± 7,39 b	73,76 ± 0,41 c
Milheto	62,52 ± 6,45 b	49,78 ± 12,03 d
Nabo forrageiro	82,34 ± 1,37 Ba	123,49 ± 3,13 Aa

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha e MINÚSCULAS iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t a 5%.

Nas Tabelas 5.12 e 5.13 são apresentadas, respectivamente, as concentrações e as atividades específicas da fração de P extraída com HCl. Foi realizado teste t a 5%, para comparação das médias, variando-se os períodos de incubação para uma mesma planta e as espécies de plantas para o mesmo período de incubação. A concentração de P-HCl no solo sem adubo verde foi comparada com os diferentes períodos de incubação para a mesma espécie de planta para avaliar o incremento obtido com a aplicação do material vegetal.

Tabela 5.12 – Concentração de P, extraído com HCl, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal.

Adubo verde	sem adubo verde	dias de incubação 20	40	60
	---------- mg kg^{-1} ----------			
Aveia-preta	7,62 ± 2,1 A	-	3,46 ± 0,42 B	5,11 ± 0,04 AB
Crotalária	7,62 ± 2,1	6,54 ± 0,93	3,84 ± 0,04	-
Milheto	7,62 ± 2,1 A	6,42 ± 0,08 AB	3,46 ± 0,17 B	6,18 ± 1,63 AB
Nabo forrageiro	7,62 ± 2,1 A	6,48 ± 0,17 AB	3,22 ± 1,44 B	5,64 ± 0,32 AB

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha não diferem pelo teste t a 5%.

Tabela 5.13 – Atividade específica de ^{32}P, extraído com HCl, no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P.

Adubo verde	dias de incubação 20	40	60
	---------- dpm mg^{-1} ----------		
Aveia-preta	-	55,75 ± 12,25 b	71,69 ± 17,54 a
Crotalária	38,43 ± 1,10 C	60,92 ± 2,91 Bb	71,26 ± 0,55 Aa
Milheto	22,94 ± 5,14	43,06 ± 14,05 b	14,87 ± 6,74 b
Nabo forrageiro	53,19 ± 1,56 B	95,10 ± 8,67 Aa	75,94 ± 5,80 Aa

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha e MINÚSCULAS iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t a 5%.

A fração P-HCl corresponde principalmente ao P ligado a Ca, fortemente adsorvido às partículas de argila. Essa fração, juntamente com o P-residual, forma a fração não-lábil do fósforo do solo, indisponível para as plantas. A fração P-HCl não

apresentou diferença significativa para milheto e nabo forrageiro incubados por 20 e 60 dias e o solo sem incubação. As plantas de aveia-peta, milheto e nabo forrageiro incubadas por 40 dias apresentaram menores quantidade de P-HCl (Tabela 5.12). Os diferentes períodos de incubação e o solo sem adubo verde não apresentaram diferença significativa para as plantas de crotalária. Também não foi observada diferença significativa pelo teste t a 5% quando comparada as diferentes espécies para um mesmo período de incubação. A atividade específica, entretanto, foi superior nos períodos de 40 e 60 dias para plantas de crotalária e nabo forrageiro. As plantas de milheto e aveia-preta não apresentaram diferença significativa na atividade específica da fração P-HCl nos diferentes períodos de incubação. Não foram observadas diferença significativa entre as espécies de adubo verde para o período de incubação de 20 dias, sendo que para o período de 40 dias as plantas de aveia-preta, crotalária e milheto foram semelhantes e para o período de 60 dias as plantas de aveia-preta, crotalára e nabo foram semelhantes.

As baixas concentrações de P-HCl devem-se ao tipo de solo utilizado (LVA) ser altamente intemperizado e com baixo pH, pois solos com essas características apresentam baixas concentrações de P-Ca (HERLIHY; MCGRATH, 2007; PAVAN; CHAVES, 1996; MACHADO; BRAUNER; VIANNA, 1993). Por outro lado, solos calcários (SHARPLEY; SMITH, 1985) e jovens (AGBENIN; TIESSEN, 1995) contém maiores quantidades dessa fração. Oxissolos altamente intemperizados apresentaram apenas 1% do P total ligado a Ca, enquanto nos entissolos, a fração P-Ca alcançou 66% (CROSS; SCHLESINGER, 1995). A fração de P extraída com HCl diluído raramente apresenta P orgânico associado, entretanto pode apresentar P-Fe ou P-Al, remanescente das extrações com bicarbonato e hidróxido (TIESSEN; MOIR, 1993).

Nas Tabelas 5.14 e 5.15 são apresentadas as concentrações e as atividade específicas de P-residual, respectivamente. As médias foram comparadas pelo teste t a 5%, variando-se os períodos de incubação para uma mesma planta e as espécies de plantas para o mesmo período de incubação. A concentração de P-residual no solo sem adubo verde foi comparada com os diferentes períodos de incubação para a mesma espécie de planta para avaliar o incremento obtido com a aplicação do material vegetal.

Tabela 5.14 – Concentração de P-residual no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P e solo sem aplicação de material vegetal.

Adubo verde	sem adubo verde	dias de incubação 20	40	60
	---------- mg kg^{-1} ----------			
Aveia-preta	59,25 ± 7,23 A	62,76 ± 6,33 Aa	40,21 ± 0,82 Bb	43,83 ± 2,63 B
Crotalária	59,25 ± 7,23	43,75 ± 5,20 b	47,02 ± 0,44 a	47,01 ± 7,39
Milheto	59,25 ± 7,23 AB	62,66 ± 1,05 Aa	42,90±0,32 ABb	40,97 ± 12,59 B
Nabo forrageiro	59,25 ± 7,23 AB	63,48 ± 1,47 Aa	41,69 ± 2,79 Cb	48,14 ± 2,57 BC

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha e MINÚSCULAS iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t a 5%.

Tabela 5.15 – Atividade específica de ^{32}P-residual no solo incubado com parte aérea de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro marcadas com ^{32}P.

Adubo verde	dias de incubação 20	40	60
	---------- dpm mg^{-1} ----------		
Aveia-preta	14,37 ± 1,23 Bab	31,30 ± 0,70 Aa	30,31 ± 2,09 Aa
Crotalária	13,02 ± 2,39 b	19,95 ± 2,02 b	16,73 ± 4,11 b
Milheto	8,58 ± 0,06 c	17,18 ± 1,09 b	16,54 ± 5,96 b
Nabo forrageiro	17,20 ± 0,75 Ba	37,41 ± 4,12 Aa	33,70 ± 1,68 Aa

Médias seguidas de letras MAIÚSCULAS iguais na mesma linha e MINÚSCULAS iguais na mesma coluna não diferem pelo teste t a 5%.

O P-residual refere-se ao fósforo, orgânico e inorgânico, mais fortemente ligado aos agregados do solo. As concentrações de P-residual foram maiores no solo sem adição de material vegetal e no período de incubação de 20 dias para as plantas de aveia-preta e nabo forrageiro. As plantas de aveia-preta, crotalária, milheto e nabo forrageiro não aumentaram a fração P-residual em comparação ao solo sem adubo verde. Além disso, as incubações com aveia-preta, milheto e nabo forrageiro apresentaram menores quantidades de P-residual aos 40 e 60 dias de incubação (Tabela 5.14), comprovando que o P dos resíduos de plantas não influenciam nesta fração de fósforo. A atividade específica na fração P-residual não foi alterada com os períodos de incubação, entretanto, menores valores foram observados para plantas de aveia-preta e nabo forrageiro incubadas por 20 dias. A fração P-residual também não foi alterada com o aumento da dose de adubação mineral fosfatada (YANG; JACOBSEN, 1990), aplicação de resíduo de planta (PAVAN; LEAL, 1995), diferentes manejos (BASAMBA et al., 2006) ou profundidade do solo (BASAMBA et al., 2007).

6 CONCLUSÕES

A marcação de plantas de aveia-preta, milheto e nabo forrageiro com ^{32}P pode ser realizada até 28 dias após a semeadura, sem comprometer a homogeneidade da marcação, diminuindo a atividade aplicada em até 75%.

As plantas de aveia-preta, crotalária e nabo forrageiro apresentaram a maior parte do ^{32}P na forma solúvel, sendo em média 67%. A incubação de plantas de adubo verde aos 20 e 60 dias proporcionaram maiores eficiências de utilização do P por plantas de arroz, variando de 5,4 a 2,2%. Entretanto, as plantas cultivadas em solo incubado com adubo verde por 40 dias apresentaram eficiências de utilização de P muito menores, não ultrapassando 0,8%.

As maiores atividades específicas foram encontradas nas frações P-resina e P-$NaHCO_3$ e as maiores concentrações de P-lábil foram, geralmente, observadas no solo incubado com adubo verde por 20 dias. Isto ocorreu devido a maior parte desse nutriente apresentar-se na forma solúvel nos tecidos vegetais, portanto o P do adubo verde distribui-se principalmente nas formas lábeis. A fração P_o-NaOH (P ligado a Fe e Al) apresentou as maiores concentrações de P, enquanto na fração P-HCl (P ligado a Ca) foi encontrado os menores teores, embora essas frações de P sejam pouco disponíveis para as plantas.

Assim, o fósforo incorporado ao solo na forma de adubo verde é facilmente disponibilizado para plantas subseqüentes devido a grande quantidade de P solúvel nos tecidos vegetais, sendo que apenas 36% necessita ser mineralizada no solo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBENIN, J. O.; TIESSEN, H. Phosphorus forms in particle-size fractions of a toposequence from northeast Brazil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 59, p. 1687-1693, 1995.

AMBROSANO, E. J.; WUTKE, E. B.; TANAKA, R. T.; MASCARENHAS, H. A. A.; BRAGA, N. R.; MURAOKA, T. **Leguminosas para adubação verde**: Uso apropriado em rotação de culturas. Campinas: CATI, 1997. 24 p.

ANDERSON, G. Assessing organic phosphorus in soil. In: KHASAWNEH, F. E.; SAMPLE, E. C.; KAMPRATH, E. J. (Ed.). **The role of phosphorus in agriculture**. Madison: ASA, 1980. p. 411-431.

ANDERSON, G. Factors affecting the estimation of phosphate esters in soil. **Journal Science Food Agriculture**, v. 9, p. 497-503, 1960.

ATALLAH, T.; LOPEZ-REAL, J. M. Potential of green manure species in recycling nitrogen, phosphorus and potassium. **Biological Agriculture and Horticulture**, Biceste, v. 8, n. 1, p. 53-65, 1991.

BASAMBA, T. A.; BARRIOS, E.; AMÉZQUITA, E.; RAO, I. M.; SINGH, B. R. Tillage effects on maize yield in a Colombian savanna oxisol: soil organic matter and P fractions. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 91, p. 131-142, 2006.

BASAMBA, T. A.; BARRIOS, E.; SINGH, B. R.; RAO, I. M. Impact of planted follows and crop rotation on nitrogen mineralization and phosphorus organic matter fraction on a Colombin volcanic-ash soil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Heidelberg, v. 77, p. 127-141, 2007.

BIELESKI, R. L. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. **Annual Review Plant Physiology**, Stanford, v. 24, p. 225-252, 1973.

BIELESKI, R. L.; FERGUSON, I. B. Physiology and metabolism of phosphate and its compounds. In: LAUCHLI, A.; BIELESKI, R. L. (Ed.). **Inorganic plant nutrition**. Berlin: Springer-Verlag, 1983. p. 422-449.

BLAIR, G. J.; BOLAND, O.W. The release of phosphorus from plant material added to soil. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 16, p. 101-111, 1978.

BLUME, J.M. Radiation effects on plants grown in soil treated with fertilizer containing ^{32}P. **Soil Science**, New Brunswick, v. 73, p. 299-303, 1952.

BORNEMISZA, E.; IGUE, K. Comparison of three methods for determining organic phosphorus in Costa Rica soils. **Soil Science**, New Brunswick, v. 103, n. 5, p. 347-353, 1967.

BOWMAN, R. A. A sequential extraction procedure with concentrated sulfuric acid and dilute base for soil organic phosphorus. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 53, p. 362-366, 1989.

BOWMAN, R. A.; COLE, C. V. An exploratory method for fractionation of organic phosphorus from grassland soils. **Soil Science**, New Brunswick, v. 125, p. 95-101, 1978.

CALEGARI, A. Espécies para cobertura de solo. In: INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Plantio direto:** pequena propriedade sustentável. Londrina: IAPAR, 1998. p. 65-94. (Circular, 101).

CALEGARI, A. **Leguminosas para adubação verde de verão no Paraná**. Londrina: IAPAR, 1995. 118 p. (Circular, 80).

CATANI, R. A.; BATAGLIA, O. C. Formas de ocorrência do fósforo no solo Latossólico Roxo. **Anais da ESALQ**, Piracicaba, v. 25, p. 99-119, 1968.

CHANG, S. C.; JACKSON, M. L. Fractionation of soil phosphorus. **Soil Science**, New Brunswick, v. 84, n. 1, p. 133-144, 1957.

CONDRON, L. M.; MOIR, J. O.; TIESSEN, H.; STEWART, J. W. B. Critical evaluation of methods for determining total organic phosphorus in tropical soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 54, p. 1261-1266, 1990.

CROSS, A. F.; SCHLESINGER, W. H. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. **Geoderma**, Amsterdam, v. 64, p. 197-214, 1995.

CUNHA, G.M.; GAMA-RODRIGUES, A.C.; COSTA, G.S.; VELLOSO, A.C.X. Fósforo orgânico em solos sob florestas montanas, pastagens e eucalipto no norte fluminense. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 3, p. 667-672, 2007.

DALAL, R. C. Mineralization of carbon and phosphorus from carbon-14 and phosphorus-32 labelled plant material added to soil. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 43, p. 913-916, 1979.

DERPSCH, R.; CALEGARI, A. **Plantas para adubação verde de inverno**. 2. ed. Londrina: IAPAR, 1992. 80 p. (Circular, 73).

DI, H. J.; CONDRON, L. M.; FROSSARD, E. Isotope techniques to study phosphorus cycling in agricultural and forest soils: a review. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 24, p. 1-12, 1997.

DIEST, A. van; BLACK, C. A. Soil organic phosphorus and plant growth II. Organic phosphorus mineralized during incubation. **Soil Science**, New Brunswick, v. 87, n. 1, p. 145-154, 1959.

DORAHY, C. G.; BLAIR, G. J.; ROCHESTER, I. J.; TILL, A. R. Availability of P from P-32-labelled endogenous soil P and P-33-labelled fertilizer in an alkaline soil producing cotton in Australia. **Soil Use and Management**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 192-199, 2007.

EPSTEIN, M.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition and plants**: principles and perspectives. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. 400 p.

FABRES, A. S. **Disponibilidade de fósforo em solos e concentrações críticas de diferentes frações de fósforo em plantas de alface cultivadas em amostras de diferentes solos**. 1986. 39 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1986.

FAGERIA, N.K. Nutrients management for improving upland rice productivity and sustainability. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.32, p. 2603-2629, 2001.

FAGERIA, N.K.; BARBOSA FILHO, M.P.; STONE, L.F.; GUIMARÃES, C.M. Nutrição de fósforo na produção de arroz de terras altas. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S. (Ed). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Potafos, 2004. p. 401-418.

FERNANDES, L. A.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CURI, N. Frações de fósforo e atividade da fosfatase ácida em plantas de feijoeiro cultivadas em solos de várzea. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 561-571, 2000.

FRANCISCO, E. A. B. **Fosfatos aluminosos do grupo da crandallita como fonte alternativa de fósforo para a cultura do arroz**. 2006. 145 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

FRANZINI, V. I. **Efeito do superposfato triplo (^{32}P) na absorção do fósforo natural pelas plantas de milho o soja**. 2006. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

FRIESEN, D. K.; BLAIR, G. J. A dual radiotracer study of transformations of organic, inorganic and plant residue phosphorus in soil in the presence and absence of plants. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 26, p. 355-356, 1988.

FURTINI NETO, A. E.; BARROS, N. F.; NOVAIS, R. F.; OLIVEIRA, M. F. G. Frações fosfatadas em mudas de *Eucalyptus*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 22, p. 267-274, 1998.

GUERRA, J. G. M.; ALMEIDA, D. L.; SANTOS, G. A.; FERNANDES, M. S. Conteúdo de fósforo orgânico em amostras de solos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 4, p. 291-299, 1996.

GUPPY, C. N.; MENZIES, N. W.; MOODY, P. W.; COMPTON, B. L.; BLAMEY, F. P. C. A simplified, sequential, phosphorus fractionation method. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 31, n. 11-14, p. 1981-1991, 2000.

HAVLIN, J. L.; BEATON, J. D.; TISDALE, S. L.; NELSON, W. L. **Soil fertility and fertilizers**. 7. ed. New Jersey: Person Prentice Hall, 2005. 515 p.

HEDLEY, M. J.; STEWART, W. B. Method to measure microbial phosphate in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 14, p. 377-385, 1982.

HEDLEY, M. J.; STEWART, W. B.; CHAUHAN, B. S. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 46, p. 970-976, 1982.

HERLIHY, M.; MCGRATH, D. Phosphorus fractions and adsorption characteristics in glassland soil of varied soil phosphorus status. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Heidelberg, v. 77, p. 15-27, 2007.

HESSE, P.R. **A Textbook of Soil Chemical Analysis**. London: John Murray, 1971. 520 p.

HOGUE, E.; WILCOX, G. E.; CANTLIFFE, D. J. Effect of soil phosphorus levels on phosphate fractions in tomato leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 95, n. 2, p. 174-176, 1970.

JONER, E. J.; JAKOBSEN, I. Uptake of ^{32}P from labelled organic matter by mycorrhizal and non-mycorrhizal subterranean clover (*Trifolium subterraneum L.*). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 172, p. 221-227, 1995.

LEGG, J. O.; BLACK, C. A. Determination of organic phosphorus in soils: II. Ignition method. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 19, p. 139-143, 1955.

LOPES, A. S.; WIETHÖLTER, S.; GUILHERME, L. R. G.; SILVA, C. A. **Sistema Plantio Direto**: Bases para o manejo da fertilidade do solo. São Paulo: Anda, 2004. 110 p.

MACHADO, M. I. C. S.; BRAUNER, J. L.; VIANNA, A. C. T. Formas de fósforo na camada arável de solos do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 17, p. 331-336, 1993.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Ceres, 2006, 638 p.

MARSOLA, T. **Marcação de plantas com ^{32}P para estudos da mineralização do fósforo orgânico**. 2003. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

MARUCHI, A. K.; ROCHA, F. R. P. An improved procedure for phosphorus fractionation in plant materials exploiting sample preparation and monosegmented flow analysis. **Microchemical Journal**, New York, v. 82, p. 207-213, 2006.

MATIAS, G. C. S. **Eficiência nutricional de fontes de fósforo com solubilidade variável em água em cultivares de arroz (Oryza sativa L.)**. 2006. 93 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

MATT, K.J. Colorimetric determination of phosphorus in soil and plant materials with ascorbic acid. **Soil Science**, New Brunswick, v. 109, p. 214-220, 1970.

MCLAUGHLIN, M.J.; ALSTON, A.M. The relative contribution of plant residues and fertilizer to the phosphorus nutrition of wheat in pasture/cereal system. **Australian Journal Soil Research**, Melbourne, v.24, p. 517-526, 1986.

MCLAUGHLIN, M.J.; ALSTON, A.M.; MARTIN, J.K. Phosphorus cycling in wheat-pasture rotations. I. The source of phosphorus taken up by wheat. **Australian Journal Soil Research**, Melbourne, v.26, p. 323-331, 1988.

MEHTA, N. C.; LEGG, J. O.; GORING, C. A. I.; BLACK, C. A. Determination of organic phosphorus in soils: I. Extraction method. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 18, p. 443-449, 1954.

MENDES, F. L. **Efeito do volume de terra no desenvolvimento das plantas de feijão e milho, na absorção do fósforo e no valor L (^{32}P)**. 2006. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

MENDONÇA, E. S.; OLIVEIRA, F. H. T. Fornecimento de nutrientes pela matéria orgânica do solo. In: SIMPÓSIO SOBRE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTA NO SISTEMA PLANTIO DIRETO, 1., 2000, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa: Associação dos Engenheiros Agrônomos dos Campos Gerais, 2000. p. 70-81.

MEURER, E. J. **Fundamentos de química do solo**. 3. ed. Porto Alegre: Evangraf, 2006. 285 p.

MUNIZ, A. S.; NOVAIS, R. F.; BARROS, N. F.; NEVES, J. C. L. Nível crítico de fósforo na parte aérea da soja como variável do fator capacidade de fósforo no solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 9, p. 237-243, 1985.

MURAOKA, T. Uso de isótopos em fertilidade do solo. In: OLIVEIRA, A. J.; GARRIDO, W. E.; ARAUJO, J. D.; LOURENÇO, S. **Metodologia de pesquisa em fertilidade do solo**. Brasília: EMBRAPA, SEA, 1991. p. 255-257.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 27, p. 31-36, 1962.

MUUKKONEN, P.; HARTIKAINEN, H.; LAHTI, K.; SÄRKELÄ, A.; PUUSTINEN, M.; ALAKUKKU, L. Influence of no-tillage on the distribution and lability of phosphorus in Finnish clay soils. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 120, p. 299-306, 2007.

MUZILLI, O. Princípios e perspectives de expansão. In: INSTITUO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Plantio direto no estado do Paraná**. Londrina: IAPAR, 1981. (Circular, 23).

NEUFELDT, H.; SILVA, J. E.; AYARZA, M. A.; ZECH, W. Land-use effects on phosphorus fractions in Cerrado oxisols. **Biology and Fertility and Soils**, Berlin, v. 31, p. 30-37, 2000.

NIEMINEN, M.; PENTTILA, T. Inorganic and organic phosphorus fractions in peat from drained mires in northern Finland. **Silva Fennica**, Vantaa, v. 38, n. 3, p. 243-251, 2004.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 399 p.

NZIGUHEBA, G.; PALM, C. A.; BURESH, R. J.; SMITHSON, P. C. Soil phosphorus fractions and adsorption as affected by organic and inorganic sources. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 198, p. 159-168, 1998.

PAVAN, M. A.; ANDROCIOLI FILHO, A. Fracionamento de fósforo em um experimento de manejo da fertilidade do solo para produção de café no nordeste do Paraná. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 38, n. 1, p. 157-165, 1995.

PAVAN, M. A.; CHAVES, J. C. D. Alterações nas frações de fósforo no solo associadas com a densidade populacional de cafeeiros. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 20, p. 251-256, 1996.

PAVAN, M. A.; LEAL, A. C. Utilização de uma técnica de fracionamento para caracterizar formas de fósforo em solo incubado com resíduos de Leucena. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 38, n. 2, p. 375-383, 1995.

RAIJ, B. van; QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H.; FERREIRA, M. E.; LOPES, A. S.; BATAGLIA, O. C. **Análise química do solo para fins de fertilidade**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 170 p.

RIBEIRO, G. de. **Efeito de períodos de incubação de adubos verdes (mucuna e puerária) na liberação de nitrogênio (^{15}N) e enxofre (^{35}S) para o arroz**. 1996. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

ROBOREDO, M.; COUTINHO, J. Chemical characterization of inorganic phosphorus desorbed by ion exchange membranes in short- and long-term extraction periods. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 37, n. 11-12, p. 1611-1626, 2006.

ROCHA, F. R. P.; MARTELLI, P.; REIS, B. F. Simultaneous in-line concentration for spectrophotometric determination of cations and anions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 38-42, 2004.

ROCHA, F. R. P.; NÓBREGA, J. A. Efeito Schlieren em sistemas de análise por injeção em fluxo. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, p. 636-640, 1996.

SANYAL, S. K.; DATTA, S. K. Chemistry of phosphorus transformations in soil. **Advances in Soil Science**, New York, v. 16, p. 1-119, 1991.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's guide, version 8.0. Cary:SAS Institute 2000.

SAUNDERS, W. M.; WILLIAMS, E. G. Observations on the determination of total organic phosphorus in soils. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 6, p. 254-267, 1955.

SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant Physiology**, Rockville, v. 116, p. 447-453, 1998.

SCIVITTARO, W. B. **Eficiência agronômica de fertilizantes fosfatados fluidos e sólidos**. 1993. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

SCIVITTARO, W. B.; BOARETTO, A. E.; MURAOKA, T. Eficiência agronômica de fertilizantes fluidos e sólidos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, p. 505-511, 1997.

SCIVITTARO, W. B.; MURAOKA, T.; BOARETTO, A. E.; TRIVELIN, P. C. O. Utilização de nitrogênio de adubos verdes e mineral pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 917-926, 2000.

SHARPLEY, A. N.; SMITH, S. J. Fractionation of inorganic and organic phosphorus in virgin and cultivated soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 49, p. 127-130, 1985.

SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; GUIMARÃES, G. L.; TRIVELIN, P. C. O. Utilização do nitrogênio (^{15}N) residual de cobertura de solo e da uréia pela cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 965-974, 2006b.

SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; TRIVELIN, P. C. O. Manejo de nutrientes no milho sob plantio direto com diferentes plantas de cobertura em latossolo vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 3, p. 477-486, 2006a.

SILVA, E. C.; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; VELOSO, M. E. C; TRIVELIN, P. C. O. Absorção de nitrogênio nativo do solo pelo milho sob plantio direto em sucessão a plantas de cobertura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 723-732, 2006c.

SILVA, F. V.; NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B.; ZAGATTO, E. A. G. A polyvalent flow injection system for multielemental spectrophotometric analysis of plant materials. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 370, p. 39-46, 1998.

SILVA, M. L.; CURI, N.; BLANCANEAUX, P.; LIMA, J. M.; CARVALHO, A. M. Rotação adubo verde – milho e adsorção de fósforo em latossolo vermelho-escuro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 6, p. 649-654, 1997.

STEWART, J. W. B.; TIESSEN, H. Dynamics of soil organic phosphorus. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 4, p. 41-60, 1987.

TATE, K. R. The biological transformation of P in soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 76, p. 245-256, 1984.

TIESSEN, H.; MOIR, J. O. Characterization of available P by sequential extraction. In: CARTER, M. R. (ED.). **Soil sampling and methods of analysis**. Boca Raton: Lewis, 1993. p. 75-86.

TILL, A. R.; BLAIR, G. J. The utilization by grass of sulphur and phosphorus from clover litter. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 29, n. 1, p. 235-242, 1978.

TURNER, B. L.; CADE-MENUN, B. J.; CONDRON, L. M.; NEWMAN, S. Extraction of soil organic phosphorus. **Talanta**, London, v. 66, p. 294-306, 2005.

TURNER, B. L.; MCKELVIE, I. D.; HAYGARTH, P. M. Characterization of water-extractable soil organic phosphorus by phosphatase hydrolysis. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 34, p. 27-35, 2002.

VOSE, P. B. **Introduction to nuclear techniques in agronomy plant biology**. London: Pergamon Press, 1980. 391 p.

YANG, J. E.; JACOBSEN, J. S. Soil Inorganic Phosphorus fraction and their uptake relationship in calcareous soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 54, p. 1666-1669, 1990.

ZAGATTO, E. A. G.; ROCHA, F. R. P.; MARTELLI, P. B.; REIS, B. F. Detecting and circumventing sources of inaccuracy in flow analysis. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 73, p. 45-54, 2001.