

ESTUDOS SOBRE A NUTRIÇÃO MINERAL DO ARROZ.  
XXVII . FATORES QUE INFLUENCIAM A ABSORÇÃO  
RADICULAR DO FÓSFORO PELA VARIEDADE IAC-164\*

E. Malavolta\*\*  
A.J.R. dos Santos\*\*\*  
A.F. de França\*\*\*  
J.C. Fachinello\*\*\*  
M.P. Barbosa Fº\*\*\*

RESUMO

Na faixa de 15 a 240 minutos a absorção do fósforo marcado com  $P^{32}$  é crescente e linear. A variação na concentração externa de  $H_2PO_4^-$  mostrou existirem duas isotermas, uma operando em baixas concentrações ( $K_m = 6,17 \times 10^{-6} M$ ) e outra correspondente a altas concentrações ( $K_m = 1,64 \times 10^{-2} M$ ). O íon magnésio aumenta a absorção e o  $Cl^-$  causa diminuição quando fornecido na concentração de  $10^{-2} M . SO_4^{2-}$  e  $Zn^{+2}$  não mostraram efeito.

\* Entregue para publicação em 21/12/84.

\*\* CENA-USP.

\*\*\* Estudantes de Pós-Graduação; Disciplina LQI-860. E.S.A. "Luiz de Queiroz".

## INTRODUÇÃO

A quantidade de cada nutriente no meio de cultura é um fator que pode alterar o crescimento e a composição inorgânica das plantas (LASTUVKA & MINAR, 1970; FAGERIA, 1975). A permeabilidade da célula, atividade enzimática, respiração e taxa de crescimento são influenciados em maior ou menor grau pela composição iônica do meio e concentração os quais afetam a absorção de íons (FAGERIA, 1974; EPSTEIN, 1975; MALAVOLTA, 1980).

A absorção de nutrientes pelas plantas é frequentemente estudada em sistemas simplificados, isto é, absorção de um íon por raízes destacadas durante um período curto. Esta técnica é apropriada para estudo de mecanismos a nível molecular e celular, não sendo, porém, para estudo de relações de nutrientes em plantas inteiras (NISEN et alii, 1980).

HOAGLAND & BROYER (1936) foram os primeiros a usar raízes destacadas em estudos de absorção de nutrientes. Mostraram que as raízes destacadas de cevada acumulam sais num período curto, e que, a absorção pode ser facilmente medida pela técnica de radioisótopos. Segundo MALAVOLTA (1980), os radioisótopos são úteis nos estudos de absorção iônica pela facilidade de sua determinação e pela sensibilidade que o método apresenta, de pelo menos 1000 vezes maior que os convencionais.

EPSTEIN & HAGEN (1952) propuseram uma cinética de absorção análoga à da catálise enzimática de Michaelis-Menten. Em função desta analogia, muitos trabalhos têm sido realizados para descrever a absorção iônica (FAGERIA, 1974; EPSTEIN, 1975; MALAVOLTA, 1980 e MALAVOLTA et alii, 1982).

Admitindo-se a hipótese de que o processo de absorção iônica esteja condicionado ao tempo de contato raiz-solução, concentração externa e presença de outros íons

na solução, foi realizado este trabalho com o objetivo de estudar a cinética de absorção de fósforo e o efeito da concentração externa de P e presença de outros íons na absorção de fósforo em raízes destacadas de arroz.

## REVISÃO DE LITERATURA

Durante os últimos 50 anos tem-se verificado um grande empenho dos pesquisadores para elucidar a absorção iônica pelas plantas. Por muito tempo, a absorção de nutrientes pelas plantas foi considerada como consequência de simples processo de difusão, no qual os íons penetrariam nas plantas espontaneamente. HOAGLAND na década de vinte mostrou, entretanto, através de vários ensaios sobre absorção iônica empregando uma alga de água doce, *Nitella clavata*, que o teor de potássio no suco celular apareciam em concentrações muito mais altas do que na água em que viviam, e que o potássio estava em solução na célula e não ligado a constituintes. Estava demonstrado, então, que a absorção não poderia ser espontânea, uma vez que a absorção dava contra o gradiente de concentração, isto é, necessitava de energia respiratória (HODGES, 1973; ASHER & LONERAGAN, 1975; EPSTEIN, 1975 ; MENGEL & KIRKBY, 1979 e MALAVOLTA, 1980).

HOAGLAND & BROYER (1936) foram os primeiros a usar raízes destacadas de plantas, com baixo conteúdo de sais e alto teor de carboidratos para estudar a absorção de nutrientes. Trabalhando com raízes detacadas de plantulas de cevada (*Hordeum vulgare*) verificaram que as raízes acumulavam sais em curto espaço de tempo e por isso não havia o risco de ocorrer transporte do elemento para a parte aérea. Os resultados deste estudo confirmaram os obtidos anteriormente nos ensaios com *Nitella* de que a absorção iônica não se dá espontaneamente, necessitando da atividade metabólica. Além desta característica de

requerer energia, outras características também levam à mesma comprovação. Segundo HODGES (1973) e EPSTEIN (1975) o metabolismo é influenciado pela temperatura baixa, condições anaeróbicas, venenos respiratórios, baixo conteúdo de carboidratos, fazendo com que cesse a absorção de íons. Nessas condições, a concentração interna dos tecidos não é igual à concentração externa, indicando que a concentração interna dependente da difusão é restrita. A razão para isto é que os íons não podem atravessar a camada lipídica hidrofóbica da membrana celular.

Não obstante, verifica-se que os íons se movem através de membranas que lhes são impermeáveis. Esse movimento é dependente de energia e é também seletivo. Para explicar a passagem de substâncias insolúveis no plasmalema, Osterhaut e outros fizeram suscitar o conceito de íon-carregador postulado pelo alemão Pfeffer no início do século (1918), que os elementos não seriam absorvidos isoladamente; haveria, previamente, a sua combinação com um composto que o transportaria através da barreira para a parte interna da plasmalema (MALAVOLTA, 1980). Este complexo íon-carregador tem sido considerado por EPSTEIN & HAGEN (1952) análogo ao complexo substrato-enzima. A diferença reside no fato de que o carregador efetua a passagem do íon através da membrana e libera-o no interior da célula, enquanto a enzima promove a transformação da molécula do substrato em outra.

HODGES (1973); LEONARD & HODGES (1973) relacionaram a atividade da ATPase com o processo de absorção iônica, envolvendo síntese e desdobramento de ATP e a separação de cargas nas membranas celulares.

ASHER & LONERAGAN (1967) mostraram que seis das oito espécies de plantas estudadas tinham rendimento máximo quando cultivadas em solução nutritiva contendo 0,15 ppm de P. No entanto, a análise das raízes revelaram 650 ppm de P; isto é, as plantas devem gastar considerável energia metabólica para acumular P no simplasto e nos vacúolos das células. MENGELE & KIRKBY (1979) rela-

taram que o conteúdo de fosfato nas células de raiz de xilema é 100 vezes maior do que o existente na solução do solo. Isto mostra que o fósforo é absorvido pelas plantas contra um gradiente de concentração. A absorção é ativa.

A relação entre a concentração de íons e absorção, na unidade de tempo, é expressa por Vmax (absorção máxima) e a constante de Km de Michaelis-Menten é a metade da Vmax. Os valores de Vmax e Km podem ser obtidos pelo método de Lineweaver-Burk ( $1/V$  versus  $1/[M]$ ). A linha obtida por estes parâmetros tem uma inclinação que é igual a  $Km/Vmax$  e uma interceptação igual a  $1/Vmax$ . Estes valores de Vmax e Km são usados na equação de Michaelis-Menten para obter teoricamente a quantidade de íon absorvida.

A relação de Michaelis-Menten pode ser transformada algebricamente em outras formas que são mais úteis na obtenção de gráficos dos dados experimentais, como foi mostrado por HOFSTEE (1952), assumindo que dois carregadores atuam simultaneamente e independentemente no mesmo substrato. O primeiro carregador tem alta afinidade (baixo Km) atuando em baixas concentrações e um segundo carregador de baixa afinidade (alto Km) atuando em concentrações externas elevadas.

O padrão duplo de absorção de íons potássio foi demonstrado experimentalmente em raízes destacadas de cevada por EPSTEIN et alii (1963). Para o caso do fósforo, acreditava-se, que somente o íon  $H_3PO_4$  fosse absorvido na faixa de pH de 4,5 a 7,5 até que HAGEN & HOPKINS (1955) após experimentos com raízes destacadas de cevada, a valores de pH entre 4,0 e 7,7, postularam que tanto  $H_2PO_4^-$  e  $HP_4^{2-}$  são absorvidos em diferentes sítios, diferindo consideravelmente em afinidade. Estudo sobre a cinética de absorção de fósforo em raízes e folhas destacadas de milho, mostrou a existência do mecanismo duplo semelhante àquele obtido, para raízes de cevada (PHILLIPES et alii, 1971).

A absorção de fósforo por raízes intactas de arroz foi estudada por FAGERIA (1974) em concentrações externas que variavam de 0,16 a 161 micromoles de fósforo. Observou-se que em baixas concentrações o valor de  $K_m$  foi de  $1,4 \times 10^{-6} M$  e para altas concentrações de  $7 \times 10^{-6}$ . A baixas concentrações o mecanismo I tornou-se saturado em torno de  $2,5 \times 10^{-6} M$ .

A absorção de fósforo por três variedades de sorgo granífero em concentrações que variavam de 0,01 a 1,00 milimoles/l, foi estudado por MALAVOLTA et alii (1977). A equação de Hoefstee foi utilizada para expressar o mecanismo duplo e os seguintes valores médios foram obtidos, para as três variedades: para baixas concentrações -  $K_m = 0,02 \mu\text{moles/ml}$  e  $V_m = 1,86 \mu\text{moles/g.m.s. 2h.}$ ; para altas concentrações:  $K_m = 0,316 \mu\text{moles/ml}$  e  $V_m = 5,77 \mu\text{moles/g.m. 2 horas.}$

MALAVOLTA et alii (1982) estudaram a absorção de fósforo em oito cultivares de arroz em função do tempo e concentração externa ( $10^{-8}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-4} M$ ). Foi observada através de uma análise conjunta, a existência de um mecanismo duplo e que algumas cultivares não atingiram o máximo de absorção no tempo de 240 minutos de contato com solução de fósforo  $10^{-4} M$ . Entretanto, de acordo com EPSTEIN (1975), quando se usa faixas estreitas de concentração externa, o mecanismo duplo pode não ser verificado.

A cinética de absorção de um determinado nutriente pode ser alterada pela presença de outros íons no meio externo pela ação sinérgica ou inibidora (EPSTEIN, 1975, MALAVOLTA, 1980). Sabe-se que a enzima ATPase é necessária para a produção de energia no sistema de transporte iônico. Segundo LEONARD & HODGES (1973) a atividade da ATPase de membranas isoladas de raízes de aveia, foi aumentada por cátions bivalentes ( $Mg^{2+} > Mn^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{2+} > Ca^{2+}$ ) sendo pouco influenciada por cátions monovalentes. A ativação da ATPase pelo ATP e pelo  $Mg^{2+}$  obedeceu a cinética de Michaelis-Menton, com  $K_m$  de 0,38 e 0,84 mi-

timoles, respectivamente.

A influência do  $Mg^{2+}$  na absorção de fósforo foi estudada por CRÓCOMO & MALAVOLTA (1964); LOURENÇO et alii (1968) em raízes de cevada, concluindo que o  $Mg^{2+}$  até concentrações de  $5 \times 10^{-5}M$  aumentava a absorção de fósforo, além da qual a absorção de fósforo diminuia.

## MATERIAL E MÉTODOS

Estes ensaios foram conduzidos em casa de vegetação e nos laboratórios do Centro de Energia Nuclear da Agricultura (CENA), em Piracicaba (SP).

### Obtenção de Mudas

As sementes da cultivar IAC-164, previamente desinfetadas, foram germinadas em bandejas de plástico contendo vermiculita umidecida com  $CaSO_4 10^{-4}M$ . Periodicamente as bandejas eram irrigadas com a mesma solução de  $CaSO_4 10^{-4}M$ . Quando as plântulas atingiram 5-10 cm, foram retiradas, lavadas as raízes com água destilada e transportadas para bandejas de plástico com capacidade para 30 litros, contendo a solução de HOAGLAND & ARNON (1950), diluída 1+5, com arejamento contínuo.

### Efeito do Tempo de Contato Raiz-Solução na Absorção de Fósforo

Após 2-3 semanas do transplantio as raízes de duas plântulas foram destacadas próximo ao colo, lavadas e colocadas em frascos de 200 ml, contendo 100 ml de

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 10^{-4}\text{M}$  e adicionou-se 1 ml de  $\text{NaH}^{32}\text{PO}_4$  livre de carregador.

Os tratamentos consistiram em deixar raízes durante 15, 30, 60, 120, 180 e 240 minutos em contato com a solução, em quatro repetições.

Decorrido o tempo de cada tratamento, as raízes foram retiradas e lavadas com água destilada dentro dos frascos, agitando-o durante 1 minuto e repetindo-se a operação por três vezes.

O material, depois de seco em estufa a 70-80°C, foi pesado e moído em almofariz, o que após incinerado em cadinho de porcelana a 500 - 550°C, sofre uma digestão com  $\text{HNO}_3$  e  $\text{HClO}_4$ ; o volume do extrato foi completado a 10 ml, dos quais 5 ml foram colocados em cubeta de vidro e secos em chapa quente. As amostras foram levadas para contagem no Escalímetro Nuclear Chicago, Modelo 181B acoplado a tubo contador Geiger Müller de janelas finas.

A amostra de referência foi obtida de 1 ml da solução de trabalho diluído a 100 ml; pipetou-se 1 ml para contagem.

Os resultados obtidos em cpm (contagem por minuto) foram expressos em micromoles de P absorvidos por g de matéria seca de raiz.

#### Efeito da Concentração Iônica Externa na Absorção de Fósforo

Neste ensaio foram utilizadas raízes destacadas de plântulas obtidas de modo análogo ao descrito para o estudo de tempo de contato raiz-solução. Os tratamentos com quatro repetições foram constituidos de uma solução contendo 100 ml de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  nas concentrações que aparecem na Tabela 1. Em todos os tratamentos adicionou-se

1 ml de  $MgSO_4$  a  $2 \times 10^{-4}M$  e 1 ml de  $NaH_2PO_4$  livre de carregador. As raízes destacadas de duas plântulas foram deixadas em contato com a solução durante o tempo de 2 horas.

Tabela 1 - Tratamentos empregados no ensaio sobre o efeito da concentração externa de fósforo.

Frasco Nº	Concentração ( $NaH_2PO_4$ )
1 - 4	$10^{-7}M$
5 - 8	$7,5 \times 10^{-7}M$
9 - 12	$10^{-6}M$
13 - 16	$2,5 \times 10^{-6}M$
17 - 20	$5 \times 10^{-6}M$
21 - 24	$7,5 \times 10^{-6}M$
25 - 28	$10^{-5}M$
29 - 32	$5 \times 10^{-4}M$
33 - 36	$10^{-3}M$
37 - 40	$5 \times 10^{-3}M$
41 - 44	$10^{-2}M$
45 - 48	$5 \times 10^{-2}M$

Decorrido o tempo de contato (2 horas), as raízes foram preparadas para contagem, procedendo-se de maneira exatamente igual àquela descrita para o ensaio anterior.

### Cinética de Absorção de Fósforo

Os dados de absorção de  $^{32}P$  pelas raízes destacadas de arroz, em diferentes concentrações foram ajustados às equações geométrica e quadrática. Para os cálculos das constantes biológicas de  $K_m$  e  $V_m$ , utilizou-se a transformada de Leneweaver-Burk para a faixa de baixas concentrações e a derivada da função quadrática para a faixa de altas concentrações.

### Efeito de Outros Íons na Absorção de Fósforo

Neste ensaio adotou-se o mesmo procedimento dos ensaios anteriores. Os tratamentos foram constituídos de uma solução composta de 1 ml de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$   $10^{-4}\text{M}$ ; 1 ml de  $\text{NaH}^{32}\text{PO}_4$ , livre de carregador, 1 ml de  $\text{MgSO}_4$  a  $2 \times 10^{-2}\text{M}$ , com exceção dos tratamentos números 37 a 48 e 100 ml de solução de  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e  $\text{ZnSO}_4$  em diferentes concentrações mostradas na Tabela 2. As raízes destacadas de duas plântulas foram colocadas na solução durante 2 horas.

As raízes tratadas foram preparadas para contagem conforme o procedimento descrito para ensaios anteriores.

Tabela 2 - Tratamentos empregados no ensaio sobre efeito de outros íons.

Frasco	Nº	Efeito de	Concentração
1 -	4	N-NaNO <sub>3</sub>	$10^{-2}\text{M}$
5 -	8		$10^{-4}\text{M}$
9 -	12		$10^{-6}\text{M}$
13 -	16	K-KCl	$10^{-2}\text{M}$
17 -	20		$10^{-4}\text{M}$
21 -	24		$10^{-6}\text{M}$
25 -	28	Ca-CaCl <sub>2</sub>	$10^{-2}\text{M}$
29 -	32		$10^{-4}\text{M}$
33 -	36		$10^{-6}\text{M}$
37 -	40	Mg-MgSO <sub>4</sub>	$10^{-2}\text{M}$
41 -	44		$10^{-4}\text{M}$
45 -	48		$10^{-6}\text{M}$
49 -	52	S-Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	$10^{-2}\text{M}$
53 -	56		$10^{-4}\text{M}$
57 -	60		$10^{-6}\text{M}$
61 -	64	Zn-ZnSO <sub>4</sub>	$10^{-4}\text{M}$
65 -	68		$10^{-6}\text{M}$
69 -	72		$10^{-8}\text{M}$

## Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância e, através da análise de regressão, foram estimadas as equações ao nível de 1% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Absorção de Fósforo em Função do Tempo de Contato

Os valores médios da absorção radicular do  $^{32}\text{P}$ , por raízes destacadas de arroz, são mostrados na Tabela 3.

Observa-se que as quantidades de  $^{32}\text{P}$  absorvidas diferem estatisticamente nos tempos de absorção entre 30 e 240 minutos; não havendo diferença entre 120 e 180 minutos. Não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos de 15 e 30 minutos. MALAVOLTA et alii (1981), também não encontraram diferenças de absorção de  $^{32}\text{P}$  por raízes destacadas de arroz, nos tempos de 30 e 15 minutos.

A Figura 1 mostra a representação gráfica dos dados de absorção de  $^{32}\text{P}$  em função do tempo. Verifica-se que a equação de regressão linear apresentou o mais alto coeficiente de correlação ( $R^2 = 0,985^{**}$ ), em relação a outros modelos testados, indicando que o tempo limite para que ocorra absorção máxima de  $^{32}\text{P}$  esteja acima de 240 minutos. Este comportamento é concordante com os dados obtidos por MALAVOLTA et alii (1982) que verificaram para a média de oito cultivares de arroz, uma relação linear entre a quantidade de P absorvido, em função do tempo, usando solução de  $10^{-4}\text{M}$  de P, num período de 10 a 240 minutos. Isto sugere aumentar o tempo de contato pa-

ra determinar o ponto máximo de acumulação de fósforo por raiz destacada de arroz.

#### Absorção de Fósforo em Função da Concentração Iônica Externa

Os valores médios de absorção de  $^{32}\text{P}$  em função da concentração iônica externa constam da Tabela 4.

A análise da variância e o teste realizados para os mecanismos 1 e 2 separadamente, pois a análise conjunta não serviu para mostrar as diferenças entre os tratamentos. Verificou-se uma relação direta entre o aumento da concentração externa de fósforo e o aumento na absorção radicular. No mecanismo 1, as concentrações de  $10^{-7}\text{M}$ ;  $7,5 \times 10^{-7}\text{M}$  e  $10^{-6}\text{M}$  não apresentaram diferença significativa, entretanto, diferiram das demais. A partir da concentração  $7,5 \times 10^{-6}\text{M}$  verificou-se uma tendência a diminuir a absorção de P, e voltando a aumentar de maneira acentuada na concentração de  $5 \times 10^{-4}\text{M}$ , caracterizando, assim, a existência de mecanismos diferentes de absorção.

No mecanismo 2 as concentrações de  $5 \times 10^{-4}\text{M}$ ,  $10^{-3}\text{M}$  e  $5 \times 10^{-3}\text{M}$  não apresentaram diferença significativa, entretanto, diferiram das concentrações  $10^{-2}$  e  $5 \times 10^{-2}\text{ M}$  pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados de absorção de  $^{32}\text{P}$  são representados graficamente na Figura 2. A absorção de fósforo seguiu um padrão duplo de absorção, isto é, em baixas concentrações. Estes dois mecanismos correspondem àqueles previamente observados por HAGEN & HOPKINS (1955) quando estudaram absorção de fósforo em raízes destacadas de cevada; por PHILLIPES et alii (1971) em raízes de milho; por FAGERIA (1974) e MALAVOLTA et alii (1982) em raízes de plantas de arroz.

Tabela 3 - Efeito do tempo na absorção radicular de  $^{32}P$  (micromoles P/g.m.s.) por raízes destacadas de arroz, cultivar IAC-164 (média de 4 repetições). Concentração externa  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$   $10^{-4}$  M.

Variedade	Tempo (minutos)				F
	15	30	60	120	
IAC-164	2,55*cd	4,20cd	8,05c	20,60b	24,68b

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.

$$\begin{aligned} \text{CV\%} &= 12,60 \\ \text{dns} &= 5,45 \text{ a } 1\%. \end{aligned}$$

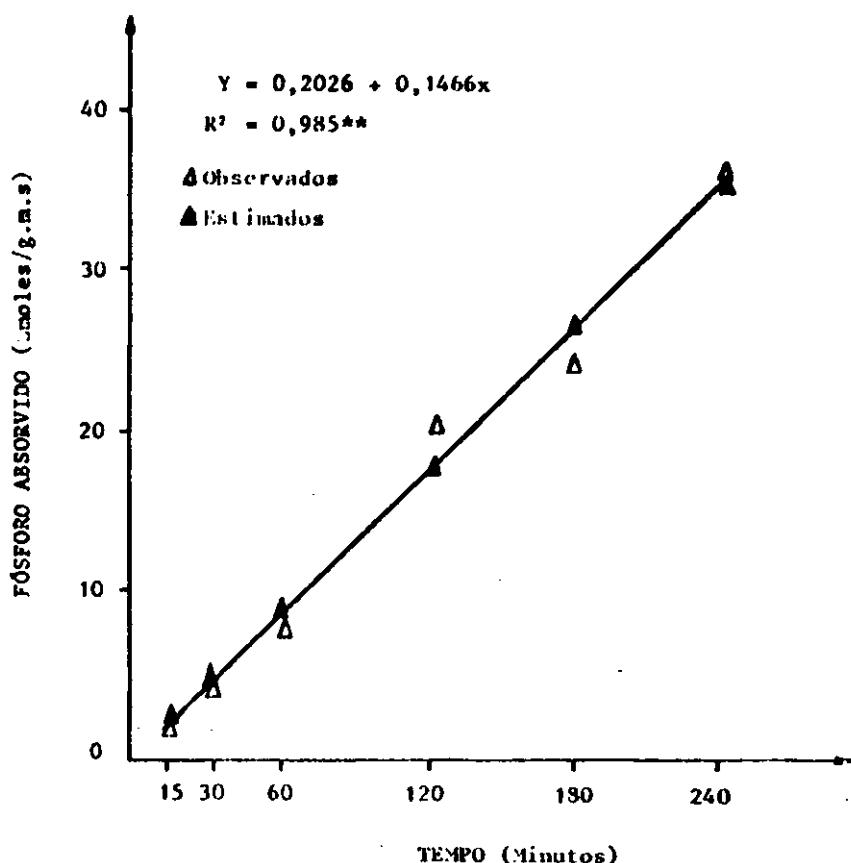


Figura 1 - Efeito do tempo de contato na absorção de fósforo por raízes destacadas de arroz culti var IAC-164.

**Tabela 4 - Efeito da concentração iônica na absorção do  $^{32}P$  ( $\mu$ moles de P/g.m.s.) por raízes destacadas de arroz cultivar IAC-164 (média de 4 repetições).**

Concentração	$\mu$ moles de P/g.m.s.	F
Mecanismo 1		
$10^{-7}M$	0,024 c	345,3*
$7,5 \times 10^{-7}M$	0,151 c	
$10^{-6}M$	0,160 c	
$2,5 \times 10^{-6}M$	0,545 b	
$5 \times 10^{-6}M$	0,530 b	
$7,5 \times 10^{-6}M$	1,570 a	
$10^{-5}M$	1,485 a	
Mecanismo 2		
$5 \times 10^{-4}M$	17,10 c	199,5*
$10^{-3}M$	19,00 c	
$5 \times 10^{-3}M$	79,33 c	
$10^{-2}M$	203,39 b	
$5 \times 10^{-2}M$	590,42 a	

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey. Mecanismo 1 com d.m.s. = 0,19 e C.V. = 10,77%; mecanismo 2 com d.m.s. = 94,71 e C.V. = 18,73%.

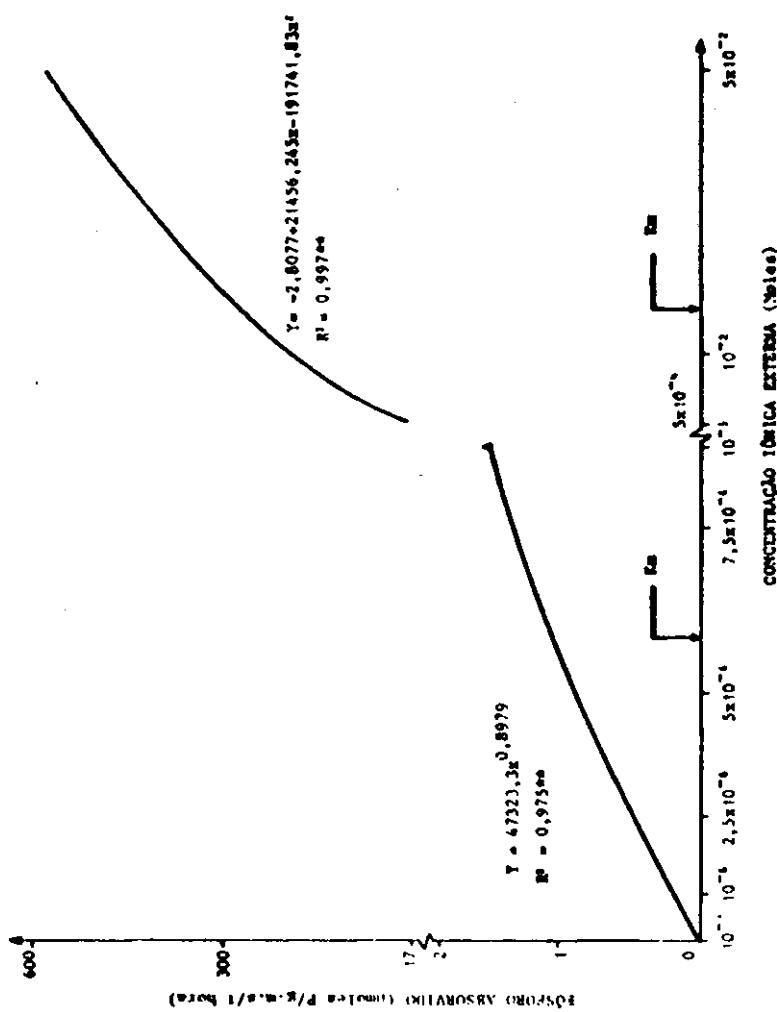


Figura 2 - Representação do mecanismo duplo de absorção e 32P por raízes das tacadas de arroz (IAC-164) em função da concentração iônica externa (Molar) (média de quatro repetições).

A análise da cinética de absorção de fósforo foi usada para calcular as constantes biológicas. Os valores de  $K_m$  foram obtidos pela equação transformada de Leneweaver-Burk a partir da equação de Michaelis-Menten, a qual se ajustou somente a faixa de baixas concentrações (mecanismo 1). Já os valores de  $V_m$  e  $K_m$  correspondentes à faixa de altas concentrações (mecanismo 2), foram calculados a partir da derivada quadrática, conforme a Tabela 5.

O mecanismo 2 no presente estudo foi operante na faixa de concentração de  $5 \times 10^{-4} M$  a  $5 \times 10^{-2} M$ , com valor de  $K_m = 1,64 \times 10^{-2} M$  e  $V_m = 595,6 \mu\text{moles P/g.m.s.h}^{-1}$ .

A constante de Michaelis-Menten para o mecanismo de baixas concentrações (mecanismo 1) foi de  $6,17 \times 10^{-6} M$  e  $V_m = 1,519 \mu\text{moles P/g.m.s.h}^{-1}$ .

#### Absorção de Fósforo em Função de Outros Ions

O estudo dos sais, independentemente das concentrações, mostrou que o  $\text{MgSO}_4$  e  $\text{NaNO}_3$  influenciaram de maneira significativa e positiva na absorção de  $^{32}\text{P}$  quando comparados com os outros sais (Tabela 6). No entanto, quando se fez o estudo das concentrações dentro do sal utilizado (Tabela 7), verificou-se que as concentrações não diferiram significativamente entre si para o  $\text{NaNO}_3$ , indicando que este sal não causou inibição na absorção de  $^{32}\text{P}$ ; porém, diferiram para o  $\text{MgSO}_4$  (Figura 3). O efeito do íon  $\text{Mg}^{2+}$  na absorção de  $^{32}\text{P}$  já é conhecido (CROCOMO & MALAVOLTA, 1964). Resultados obtidos por LEONARD & HODGES (1973) mostraram que cátions bivalentes, entre eles o  $\text{Mg}^{2+}$ , influenciaram a atividade da ATPase na superfície de membranas isoladas de raízes de aveia, aumentando a absorção de  $^{32}\text{P}$ .

Tabela 5 - Cálculo da constante de Michaelis (km) e velocidade máxima (Vm) a partir das equações ajustadas para representar o mecanismo duplo de absorção de ZnP em raízes destacadas de arroz, cultivas IAC-164.

Mecanismo	Equações Ajustadas	$r^2$	Equações Transformadas	$r^2$	Km(m)	Vm( $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{m.s.h}^{-1}$ )
1	$y = 7323,3 \cdot x^0,8979$	0,975**	$y^{(1)} = 0,658144 \cdot 06 \times 10^{-6}x$	0,998**	$6,17 \times 10^{-6}$	1,519
2	$y = 2,8077 \cdot 21456,2652 \cdot 191741 \cdot 83x^2$	0,997**	Derivada	-	$1,64 \times 10^{-2}$	595,6

(1) Equação genética de Lineweaver-Burk:  $\frac{1}{V} = \frac{1}{V_m} + \frac{K_m}{V} \cdot \frac{1}{N}$ , na qual  $x = \frac{1}{N}$  e  $y = \frac{1}{V}$

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

**Tabela 6 - Valores médios de  $^{32}\text{P}$  absorvido por raízes destacadas de arroz em função da presença de outros íons. Concentração iônica externa :  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \ 10^{-4}\text{M}$ .**

Tratamentos	$\mu\text{moles de } ^{32}\text{P absorvido}$	F
$\text{MgSO}_4$	8,42 a*	11,91
$\text{NaN}_3$	8,29 a	
$\text{ZnSO}_4$	7,01 b	
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	6,99 b	
$\text{CaCl}_2$	6,94 b	
$\text{KCl}$	6,16 b	

d.m.s. = 1,18 a 5%

C.V. = 12,56%

\* As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% pelo teste Tukey.

Tabela 7 - Valores médios de  $^{32}\text{P}$  absorvido por raízes destacadas de arroz em função de concentrações externas de outros íons. Concentração iônica externa:  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - 10^{-4}\text{M}$ .

Tratamentos	μmoles de $^{32}\text{P}$ absorvido				F	
	Concentrações					
	$10^{-2}\text{M}$	$10^{-4}\text{M}$	$10^{-6}\text{M}$	$10^{-8}\text{M}$		
$\text{MgSO}_4$	9,3a*	9,6a	6,3 b		**	
$\text{NaNO}_3$	8,4a	8,3a	8,1a		ns	
$\text{ZnSO}_4$	-	7,7a	6,8a	6,6a	ns	
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	7,0ab	5,4b	7,6a		**	
$\text{CaCl}_2$	5,6 b	7,0ab	8,3a		**	
KCl	4,5 b	7,1a	6,9a		**	

d.m.s. = 2,03

C.V.% = 17,235

\* As médias seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% pelo teste Tukey.

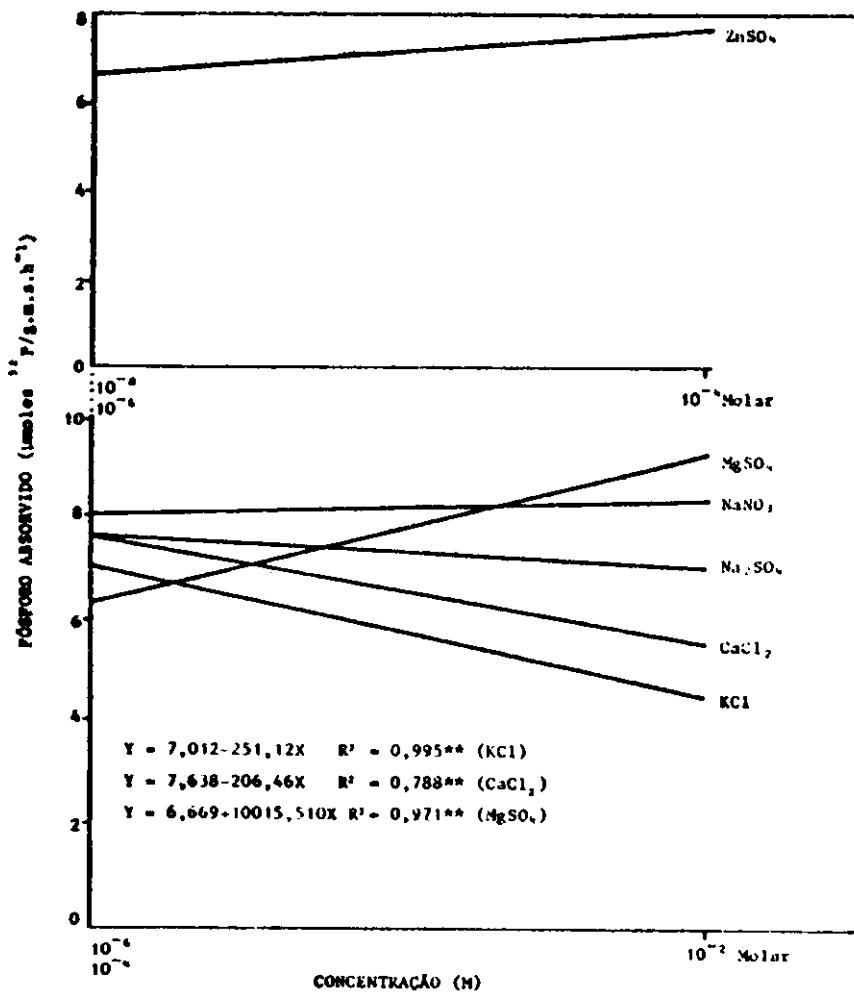


Figura 3 - Efeito da concentração de outros íons na absorção de fósforo por raízes destacadas de arroz, cultivar IAC-164.

A presença de outros íons no meio externo influenciando a absorção de  $^{32}\text{P}$  depende de suas concentrações. Neste trabalho, para o  $\text{Mg}^{+2}$  verificou-se um efeito sinérgico na absorção de  $^{32}\text{P}$  até a concentração de  $1 \times 10^{-4}\text{M}$ . Entretanto, CRÔCOMO & MALAVOLTA (1964); LOURENÇO et alii (1968), observaram em raízes de cevada uma diminuição na absorção de  $^{32}\text{P}$  a partir da concentração de  $5 \times 10^{-5}\text{M}$ , quando a concentração iônica externa de fósforo era de  $5 \times 10^{-4}\text{M}$ .

A presença de  $\text{ZnSO}_4$  no meio externo teve uma menor influência na absorção de  $^{32}\text{P}$  quando comparada ao  $\text{MgSO}_4$  (Tabela 6). Do fato conhecido de que existe um sinergismo entre  $\text{Mg} \times \text{P}$ , deduz-se que o íon  $\text{Zn}^{+2}$  e não o  $\text{SO}_4^{2-}$  esteja causando inibição na absorção de  $^{32}\text{P}$ , embora as concentrações de zinco usadas não tenham mostrado diferença significativa (Tabela 7 e Figura 3).

De modo semelhante ao íon  $\text{Mg}^{+2}$ , sabe-se que os íons  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  aumentam a absorção de fósforo (LEONARDO & HODGES, 1973). No entanto, verificou-se que o  $\text{KCl}$  e  $\text{CaCl}_2$  diminuíram a absorção de  $^{32}\text{P}$  quando se aumentou as concentrações destes sais para  $1 \times 10^{-2}\text{M}$  (Tabela 7 e Figura 3), indicando, provavelmente, que o íon  $\text{Cl}^-$  tenha atingido concentração de magnitude tal a ponto de inibir a absorção do fósforo. Segundo EPSTEIN (1975) e MALAVOLTA (1980), a presença no meio de altas concentrações iônicas potencialmente tóxicas, como é o caso do cloro e sódio podem agravar a absorção de outros íons, como é o caso do  $^{32}\text{P}$  no presente estudo.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

A quantidade de  $^{32}\text{P}$  absorvida, em função do tempo, apresentam uma relação linear positiva, altamente significativa, na faixa de tempo de contato estudada, de 15 a 240 minutos.

A absorção de  $^{32}\text{P}$  seguiu um padrão duplo de absorção. A constante de Michaelis-Menten para o mecanismo 1 (operante em baixas concentrações) foi de  $6,17 \times 10^{-6}\text{M}$ . O mecanismo 2 foi operante na faixa de concentração de  $5 \times 10^{-4}\text{M}$  e  $5 \times 10^{-2}\text{M}$ , com valor de  $K_m = 1,64 \times 10^{-2}\text{M}$ .

Na cinética de absorção radicular de  $^{32}\text{P}$ , a equação transformada de Leneweaver-Burk somente se ajustou as baixas concentrações iônicas externas ( $R^2 = 0,998^{**}$ ).

A absorção de  $^{32}\text{P}$  aumentou quando a concentração externa de  $\text{Mg}^{2+}$  aumentou de  $10^{-6}$  para  $10^{-4}\text{M}$ .

O KCl e  $\text{CaCl}_2$  diminuíram a absorção de fósforo, na concentração de  $10^{-2}\text{M}$ ; deduziu-se que o íon acompanhante ( $\text{Cl}^-$ ) exerceu uma ação inibidora na absorção de  $^{32}\text{P}$ .

## SUMMARY

### STUDIES ON THE MINERAL NUTRITION OF THE RICE PLANT. FACTORS WHICH AFFECT THE UPTAKE OF PHOSPHATE IONS BY EXCISED ROOTS OF THE VARIETY IAC-164.

Within the range of 15 to 240 minutes it was found that absorption increased in a linear fashion. By varying the external concentration of  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  from  $10^{-7}\text{M}$  to  $10^{-2}\text{M}$  a dual pattern uptake was observed: a high : affinity mechanism with a  $K_m = 6.17 \times 10^{-6}\text{M}$  and a second one with low affinity ( $K_m = 1.64 \times 10^{-2}\text{M}$ ). Absorption was raised when the external concentration of Mg ions varied from  $10^{-6}$  to  $10^{-4}$ . When supplied in the range of  $10^{-6}$  to

$10^{-2}M$  the chloride salts of K and Ca reduced the absorption, the effect being traced to the Cl ion. Zinc sulfate ( $10^{-8}$  to  $10^{-4}M$ ) had no effect on phosphate absorption.

#### CO-AUTORES

Estudantes de Pós-Graduação, disciplina LQI-860 da E.S.A. "Luiz de Queiroz", USP: A.C. Bolonhezi, C.A. Ventura, D.G. Armbruster, L.R. Lucena, J.B. Cabral, J.U. Fontoura, M.A. Mutton, E.C.S. Martins, M.H.A. Oliveira, R.S. Lourenço, G.R. Silva, I.J.M. Viegas, N. Bueno, O.M. N. Lopes, S.R.B. Bringel, E.C. Machado, H.S. Dias, J.T. D. Vargas, L.H. Carvalho, V.B.G. Alcântara.

#### LITERATURA CITADA

ASHER, C.J. & J.F. LONERAGAN, 1967. Response of plants to phosphate concentration in solution culture: I. Growth and phosphorus content. *Soil Science*, 103(4): 225-233.

CRÔCOMO, O.J.; E. MALAVOLTA, 1964. The uptake of radiophosphate by barley plants as influenced by magnesium. *Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz"*, 21: 44-49

EPSTEIN, E., 1975. *Nutrição Mineral de Plantas*. Tradução e notas de E. Malavolta. Ed. da Universidade de São Paulo. 344p.

- EPSTEIN, E. & C.E. HAGEN, 1952. A kinetic study of the absorption of alkali cations by barley roots. *Plant Physiol.* 27:457-474.
- EPSTEIN, E.; D.W. RAINS & O.E. ELZAM, 1963. Resolution of dual mechanism of potassium absorption by barley roots. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 49:684-692.
- FAGERIA, N.K., 1974. Kinetics of phosphate absorption by intact rice plants. *Aust. J. Agric. Res.* 25:395 - 400.
- FAGERIA, N.K., 1975. Influence of potassium concentration on growth and potassium uptake by rice plants . *Plant and Soil*, 44:
- HAGEN, E.C. & H.T. HOPKINS, 1915. Ionic species in orthophosphate absorption by barley roots. *Plant Physiology*, 30:193-9.
- HOAGLAND, D.R. & D.I. ARNON, 1950. The water culture method for growing plants without soil. *Calif. Agr. Exp. Sta. Cir.* 347.
- HOAGLAND, D.R. & T.C. BOYER, 1936. General nature of the process of salt accumulation by roots with description of experimental methods. *Plant Physiol.* 11:471-507.
- HODGES, T.K. 1973. Ion absorption by plants . roots . *Advances in Agronomy*, 25:163-207.
- HOFSTEE, B.H.J., 1952. On the evaluation of the constants  $V_m$  and  $K_m$  enzyme reactions. *Science*, 116 : 329-331.
- LASTUVKA, Z. & J. MINAR, 1970. The relation between nutrient solution concentration and growth and ion absorption of peas (*Pisum sativum* L.). I. Growth of peas. *Plant and Soil*, 12:189-197.

LEONARD, R. & T.K. HODGES, 1973. Characterization of plasma membrane-association adenosine tri-phosphate activity of oat roots. *Plant Physiology*, 52:6-12.

LOURENÇO, S.; O.J. CROCOMO; I.R. NOGUEIRA & E. MALAVOLTA. Kinetic studies of Phosphorus uptake by excise roots of barley in the presence of magnesium. *An. Acad. Brasil. Cienc.* (1968), 40(2):171-179.

MALAVOLTA, E., 1980. *Elementos de Nutrição Mineral de Plantas*. Ed. Agron. Ceres, 251p.

MALAVOLTA, E.; A.F. VECCHIATO; H.W. TAKAHASHI; H.J. KLIEMANN; J.A. AZEVEDO; M.D. THOMAZI; P.J. CARVALHO GENU & S.R.F. LEÃO, 1982. Estudos sobre a nutrição mineral do arroz. XVI. Absorção radicular e foliar do rádio fósforo por diversas variedades. *Anais E.S.Agr. "Luiz de Queiroz"*, vol. XXXIX, p.373-409.

MALAVOLTA, E. et alii, 1977. Estudos sobre nutrição mineral de sorgo granífero. VI. Absorção de fosfato por raízes destacadas de plantas de três variedades comerciais. *Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz"*, 34: 383-406.

MENGEŁ, K. & E.A. KIRKBY, 1979. *Principles of Plant Nutrition*. 2nd Edition, International Potash Institute, Berne, Switzerland, 593p.

NISSEN, P.; N.K. FAGERIA; A.J. RAYAR; M.M. HASSAN & T.V. HAI, 1980. Multiphasic accumulation of nutrient by plants. *Physiologia Plantarum*. 49:222-240.

PHILLIPS, J.W.; D.E. FAKER & C.O. CLAGETT, 1971. Kinetics of P absorption by excised roots and leaves of corn hybrids. *Agronomy Journal*, Madison. Wisconsin, 63(4): 517-520.