

# ABSORÇÃO DE FÓSFORO E FERRO, DE SOLUÇÕES NUTRITIVAS (1)

C. M. FRANCO, engenheiro agrônomo, Secção de Fisiologia Vegetal, Instituto Agronômico de Campinas, e W. E. LOOMIS, professor, Iowa State College, Ames.

## 1—INTRODUÇÃO

Duas das soluções nutritivas mais empregadas nos estudos de nutrição diferenciam-se bastante quanto ao teor em fósforo: a de Shive, R<sub>5</sub> — C<sub>2</sub> (4), que contém 2,45 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> por litro (0,018 mols), agindo como fonte de fósforo e como “puffer” ácido para manter o pH da solução entre 4,5 — 5,0, e a de Hoagland 1940 (2), que contém apenas 0,068 g por litro (ou 0,0005 mols) daquele sal. A solução de Shive possui, portanto, 36 vezes mais fósforo do que a de Hoagland. Como parte de um estudo geral do equilíbrio de ions em soluções nutritivas, comparamos o desenvolvimento e absorção de fósforo de várias plantas naquelas soluções e em duas outras novas: uma delas, que chamamos de “X”, semelhante à de Hoagland, mas contendo mais de metade de seu nitrogênio na forma de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, e outra, “P”, que constitui uma modificação da solução nutritiva “puffer” de Zinzadze (6). Esta última contém uma concentração moderadamente elevada de fósforo, na forma de precipitado muito fino de fosfato tricálcico, e possui nitrogênio também na forma de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>.

## 2—MÉTODOS

As plantas deste ensaio foram cultivadas em frascos de boca larga, de um litro de capacidade. As próprias rólhas dos frascos serviram de suporte para as plantas (3). Quatro plantas foram colocadas inicialmente em cada frasco. Posteriormente, foi feito um desbaste, deixando apenas duas, para a maior uniformidade no lote. Usaram-se cinco repetições de cada tratamento, e alguns dos ensaios foram repetidos até cinco vezes. As seguintes espécies foram utilizadas nas experiências: milho (*Zea mays*), brócolo (*Brassica oleracea* var. *italica*), soja (*Glycine max*), tomateiro (*Lycopersicon esculentum*), girassol (*Helianthus annuus*), algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) e arroz (*Oryza sativa*). Este ensaio foi realizado de abril a maio de 1945. Para os estudos de absorção de fósforo, repetimos a experiência em junho e julho do mesmo ano, usando milho, soja e arroz. Algumas das plantas foram conservadas até a frutificação. Em consequência do tamanho reduzido dos frascos, fêz-se maior parte do trabalho, inclusive as dosagens

(1) Trabalho realizado no Iowa State College, EE. UU., durante o estágio do primeiro autor como “fellowship” das Instituições: Iowa State College e Institute of International Education. Tradução do artigo publicado em *Plant Physiology* 22: 627-634, fig. 1 - 5, 1947.

de fósforo, com plantas de 4 a 6 semanas de idade. O quadro 1 mostra as concentrações de sais (em gramas por litro) utilizadas e dos diversos ions em milimoléculas. Como fonte de ferro para a planta, empregou-se o citrato férrico. Para isso, adicionaram-se, em cada litro de solução nutritiva, 10 cc de uma solução desse citrato a 0,1%. Quantidades adicionais de 1 cc por frasco de solução nutritiva foram adicionadas de uma a três vezes por semana, quando a coloração das folhas começava a mostrar falta desse elemento. Todas as soluções continham 1 p.p.m. de ácido bórico e 0,5 p.p.m. de  $Zn\ SO_4$ . A princípio, as soluções foram renovadas semanalmente; quando, porém, as plantas atingiram maior desenvolvimento, passaram elas a ser renovadas de cada 3-5 dias.

QUADRO 1.—Concentrações dos sais em gramas por litro, e dos ions em milimoléculas, para quatro soluções nutritivas.

Sal ou ion	Hoagland 1940 "H"	Shive R <sub>5</sub> -C <sub>2</sub> "S"	Solução experimental	
			"X"	"P"
	<i>g/l</i>	<i>g/l</i>	<i>g/l</i>	<i>g/l</i>
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	.....	.....	0,25	0,286
KNO <sub>3</sub>	0,506	.....	0,25	.....
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,591	1,228	0,25	.....
K Cl	.....	.....	0,25	0,50
Mg SO <sub>4</sub>	0,247	3,697	0,50	0,50
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	.....	.....	.....	1,00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,068	2,450	0,10	.....
TOTAL	1,412	7,375	1,60	2,286
	<i>m. mols</i>	<i>m. mols</i>	<i>m. mols</i>	<i>m. mols</i>
Ca ++	2,5	5,2	1,1	3,2
Mg ++	1,0	15,0	2,0	2,0
K +	5,5	18,0	6,0	6,7
NH <sub>4</sub> +	.....	.....	3,1	3,6
NO <sub>3</sub> -	7,5	10,4	9,7	3,6
SO <sub>4</sub> - -	1,0	15,0	2,0	2,0
HPO <sub>4</sub> -	0,5	18,0	0,7	3,2

### 3—DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS

O julgamento das plantas pelo tamanho foi iniciado em 4 de abril. Novos julgamentos foram feitos em 10 e 23 de maio. As diferenças no desenvolvimento das plantas, nas diversas soluções, foram mínimas para os tomates e máximas para a soja e brócolo (fig. 1). No quadro 2 damos uma classificação das soluções, de acordo com o desenvolvimento que cada uma proporcionou às plantas. Atribuindo pontos 4, 3, 2 e 1 para as soluções classificadas, respectivamente, em 1.º, 2.º, 3.º e 4.º lugar e, somando os pontos assim obtidos, encontramos os totais que constam no quadro 2.



FIGURA 1—Seis espécies cultivadas em quatro diferentes soluções nutritivas: A — soja; B — milho; C — tomate; D — arroz; E — brócolo; F — algodão. As plantas acham-se dispostas em cada fotografia, da esquerda para a direita, na seguinte ordem, em relação à solução nutritiva empregada: Solução de Hoagland (H), solução de Shive  $R_5 - C_2$  (S), solução "puffer" (P) e solução não "puffer", com  $NH_4NO_3$  (X). O ensaio foi iniciado em 4 de abril e, a fotografia, tirada em 15 de junho.

Vemos que a solução "P", contendo  $NH_4NO_3$  e  $Ca_3(PO_4)_2$ , foi a melhor para o desenvolvimento das plantas, ao passo que a solução de Shive  $R_5 - C_2$  ("S") alcançou apenas um 2.º lugar, no julgamento de 10 de maio.

Ficou também evidente o fato de não existir uma solução nutritiva que possa ser considerada a melhor para tôdas as espécies em qualquer idade e sob quaisquer condições de luz e temperatura (1). A solução "X"

mostrou-se boa para plantas novas de milho ; posteriormente, essas plantas vieram a sofrer, em consequência da elevada acidez produzida pela absorção desigual dos ions  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ , que matou parte de suas raízes. Quando maiores, essas mesmas plantas se desenvolveram novamente bem nessa mesma solução (fig. 1-B).

QUADRO 2.—Classificação das soluções, de acôrdo com o desenvolvimento que cada uma proporcionou às plantas.

Plantas	Classificação baseada na vegetação das plantas e no desenvolvimento do sistema radicular				Totais de pontos
	1.º lugar	2.º lugar	3.º lugar	4.º lugar	
Obs. de 10-5-45					
Milho .....	H	X	P	S	P - 26
Brócolo .....	P	X	H	S	
Soja.....	P	X	S	H	X - 19
Tomate .....	P	X	S	H	
Girassol .....	P	X	H	S	H - 12
Algodão .....	P	S	H	X	
Arroz.....	P	X	S	H	S - 12
Obs. de 23-5-45					
Milho .....	H	P	S	X	P - 25
Brócolo .....	X	P	H	S	
Soja.....	P	X	H	S	X - 18
Tomate .....	P	X	S	H	
Girassol .....	P	H	X	S	H - 16
Algodão .....	P	H	S	X	
Arroz.....	X	P	S	H	S - 11

As plantas novas de milho, em solução de Hoagland, tornam-se cloróticas e podem mesmo morrer, se não se tomarem cuidados especiais no suprimento de ferro. Mesmo plantas já bastante cloróticas reagem favoravelmente e tornam-se normais, quando se omite o fosfato da solução nutritiva durante 2 ou 4 dias após a sua renovação. A figura 2-A mostra o efeito dessa técnica. As plantas que se vêem nessa figura cresceram em soluções idênticas, variando apenas a época da adição do fosfato. A soja também não se desenvolve bem na solução de Hoagland, mas, variando-se a técnica acima descrita, foi possível cultivá-la com sucesso nessa mesma solução (fig. 2-B). Essa técnica já tinha sido empregada por Weiss (5), que, em estudo sobre a eficiência da absorção de ferro, provocou clorose em linhagens de soja, adicionando  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  à solução nutritiva. A clorose, cuja intensidade variava nas diferentes linhagens, desaparecia à medida que o fosfato era absorvido e quantidades adicionais de ferro eram juntadas à solução.

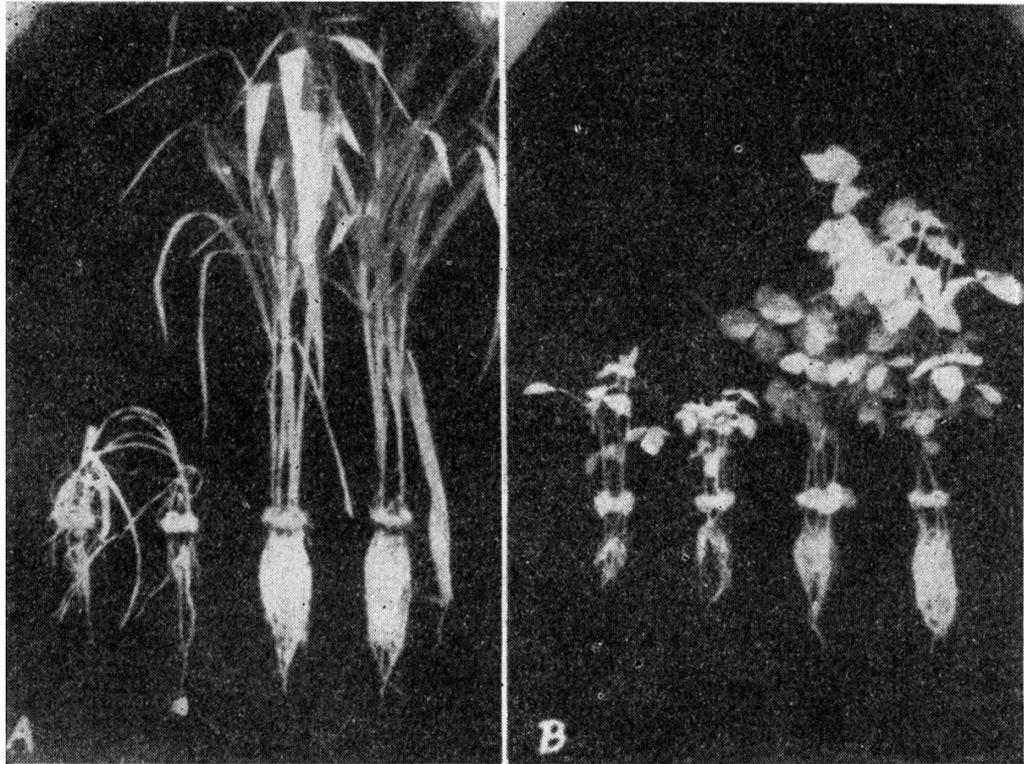


FIGURA 2.—Efeito da adição alternada de fósforo e ferro na solução nutritiva de Hoagland: A — milho; B — soja. As duas plantas da esquerda, em cada fotografia, vegetaram em solução na qual o fósforo e o ferro foram adicionados conjuntamente, ao ser preparada a solução nutritiva. As duas plantas da direita vegetaram em solução na qual o fósforo foi adicionado 2-4 dias depois, o que permitiu que nesse intervalo o ferro fôsse livremente absorvido pelas plantas.

A razão de o fosfato causar clorose nas espécies cultivadas na solução “H” e não na solução “S”, que contém 36 vêzes mais fósforo, está no pH. Indicamos no quadro 3 o pH de soluções novas e usadas. Aí também se pode notar que uma quantidade grande de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  tende a manter uma reação ácida favorável à absorção de fósforo. As soluções de Shive modificadas, contendo quantidades intermediárias de fósforo, são menos eficientes quanto ao fornecimento de ferro às plantas, por não manterem o pH suficientemente baixo.

QUADRO 3. — pH de soluções novas e usadas

Solução	Recém-preparada	Usada p/ plantas com 3-4 semanas de idade	Usada p/ plantas com 5-6 semanas de idade
	pH	pH	pH
Hoagland 1940 .....	5,20	5,80 — 6,35	5,40 — 6,55
Shive R <sub>5</sub> -C <sub>2</sub> .....	4,45	4,85 — 5,65	4,45 — 5,70
“X” .....	5,25	3,55 — 4,40	3,70 — 5,70
“P” .....	6,10	5,50 — 6,30	5,15 — 5,60

No trabalho original de Shive (4), as soluções da série  $R_1$  continham  $KH_2PO_4$  na concentração de 0,0036 mols; as da série  $R_2$  tinham o dobro dessa concentração,  $R_3$ , o triplo e assim por diante até  $R_7$ . As séries  $R_1$  e  $R_2$  não deram bons resultados, ao passo que a série  $R_4$  e as mais elevadas foram de boas a excelentes, e as três séries,  $R_3-C_3$ ,  $R_1-C_3$  e  $R_7-C_2$ , não foram significativamente piores do que  $R_5-C_2$ .

No presente trabalho, adicionou-se nitrato de amônio às soluções "X" e "P", como fonte neutra de nitrogênio. Estranhou-se, portanto, que o pH da solução-não-"puffer" "X", tivesse caído ao valor tão baixo de 2,9 e permanecido sempre abaixo do valor 4,0. A causa dessa acidez é a absorção preferencial dos ions  $NH_4^+$  por tôdas as plantas estudadas, em todos os períodos de crescimento, até início de frutificação. O radical  $NH_4^+$  é absorvido mais rapidamente do que o radical  $NO_3^-$  das soluções "X", "P" ou mesmo de uma solução de apenas  $NH_4NO_3$ .

As raízes do milho e do algodoeiro foram bastante prejudicadas por essas soluções ácidas, ao passo que as da soja não foram afetadas. Além disso, a soja apresentou um excelente desenvolvimento (fig. 1-A). As plantas novas, na solução "X", freqüentemente se tornaram cloróticas, visto que não absorviam nitrogênio com rapidez suficiente para desenvolver reação ácida na solução. Nas plantas maiores, a absorção de nitrogênio foi tão rápida, que a fase ácida terminou no segundo ou terceiro dia, pela absorção quase total dos ions  $NH_4^+$  e  $NO_3^-$ . Na solução "P", o  $Ca_3(PO_4)_2$  não permitiu valores muito baixos do pH. Nos valores mais baixos do pH desta solução, constantes do quadro 3, o fosfato tornou-se mais solúvel, havendo tendência para o aparecimento de clorose (fig. 5).

#### 4--ESTUDO DA ABSORÇÃO DE FÓSFORO

A aparente interação do fósforo e pH na absorção de ferro conduziu-nos a um estudo mais minucioso da absorção de  $PO_4^{3-}$  das quatro soluções aqui utilizadas. Os resultados obtidos se acham grãficamente representados nas figuras 3, 4 e 5. As soluções "H" e "X" (fig. 3, A e B) que têm, quando recentemente preparadas, 14 e 21 p.p.m. de fósforo, respectivamente, passam a apresentar, após 5-6 dias de uso, cêrca de 1 p.p.m. desse elemento. Praticamente, portanto, as quantidades de 0,068 e 0,100 g de  $KH_2PO_4$ , contidas nessas soluções, foram totalmente absorvidas nesse curto período de tempo.

As 500 p.p.m. de fósforo da solução "S" foram reduzidas para cêrca de 300 p.p.m. em uma semana (fig. 4), com uma absorção de fósforo dez ou quinze vêzes maior que a constatada nas soluções "H" e "X". O fato de uma tão elevada absorção de fósforo na solução "S" não interferir seriamente na absorção de ferro é indício de que a interferência observada na solução "H" ocorreu fora da planta, isto é, na solução.

A concentração de fósforo na solução "P", que contém um grande excesso de  $Ca_3(PO_4)_2$  precipitado, era, no início, de cêrca de 10 p.p.m., e elevou-se a cêrca de 20 — 30 p.p.m. no segundo ou terceiro dia (fig. 5), à

medida que parte do fosfato insolúvel era solubilizada pelo acúmulo de  $\text{HNO}_3$ , originado da utilização desigual dos ions  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ . Após atingir essa concentração, a quantidade de fósforo solúvel decresceu, mas

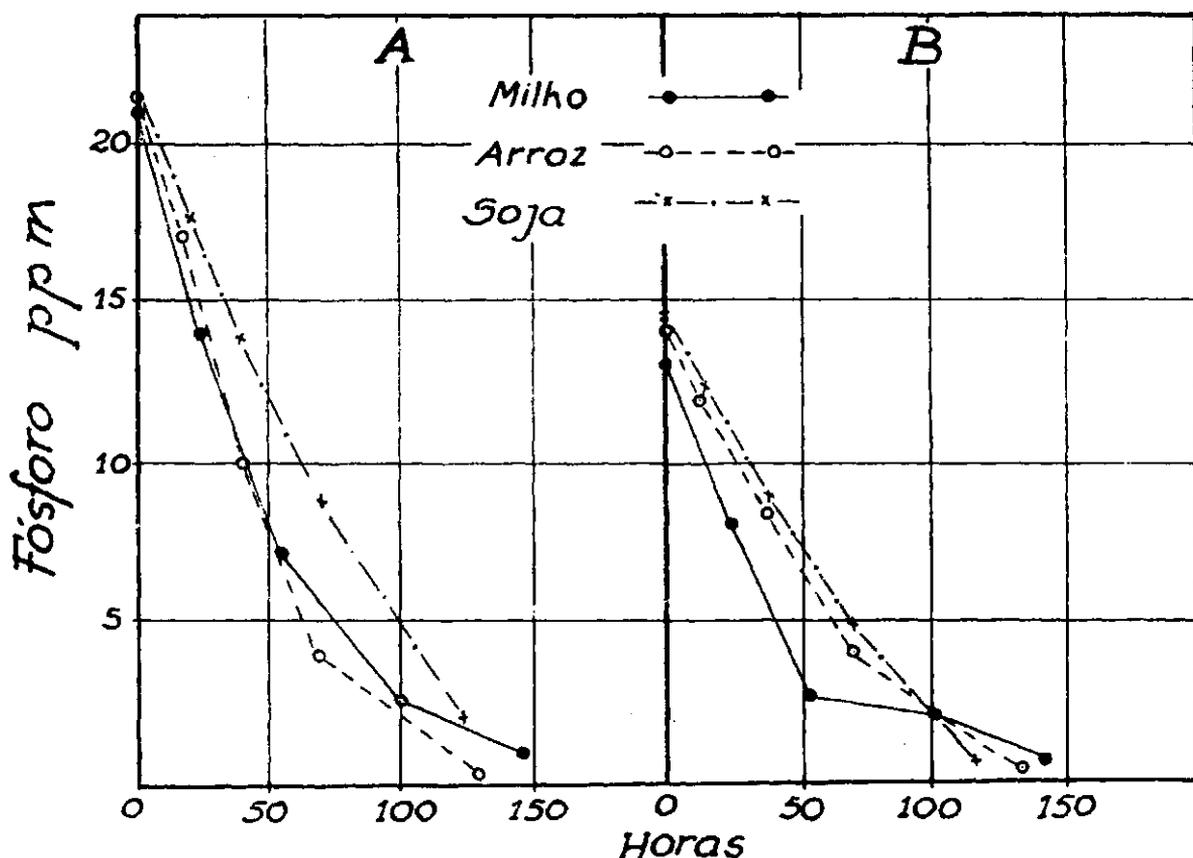


FIGURA 3.—Absorção de fósforo, por três espécies, nas soluções "X" (A) e de Hoagland (B).

permaneceu ainda acima de 10 — 20 p.p.m. depois de 10 dias. A solução "P" foi melhor para as plantas pequenas, que absorvem  $\text{NH}_4^+$ , lentamente, permanecendo o pH ao redor de 6,0. Uma clorose de ferro, pouco intensa, aparece raramente nesta solução, apesar do seu elevado pH e teor em fósforo, sugerindo que é o radical bibásico ou, mais provavelmente, o monobásico, que precipita o ferro. A solução "P" poderia, provavelmente, ser melhorada, a fim de ser utilizada para plantas maiores, empregando-se  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  com  $\text{Ca Cl}_2$  na formação do  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . O resultado seria uma substituição parcial do KCl pelo  $\text{KNO}_3$ , resultando um teor mais elevado em nitrogênio e talvez uma tendência menor para o excesso de solubilidade do fósforo.

### 5—DISCUSSÃO E SUMÁRIO

Quantidades moderadas de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,5 — 0,7 milimols) causam clorose de ferro nas plantas novas em soluções nutritivas com acidez menor do que 5,5 — 6,0. Esse inconveniente pode ser evitado, omitindo-se, inteiramente, o fosfato, ao se preparar a solução nutritiva, e adicionando-o somente após 2-4 dias de uso da solução.

Mesmo com esse expediente, a solução de Hoagland (2), tipo Knop, causou clorose persistente em soja e brócolo. Na solução de Shive, comumente usada, ( $R_5-C_2$ ), o excesso de  $KH_2PO_4$  fixa o pH entre 4,5 e 5,0 e, neste caso, a clorose é muito pequena ou mesmo insignificante. A solução de Shive contém 36 vezes mais fósforo do que a de Hoagland. As plantas estudadas, com 6 semanas de idade, absorveram 15 vezes mais fósforo da solução de Shive, e não se desenvolveram tão bem quanto na de Hoagland.

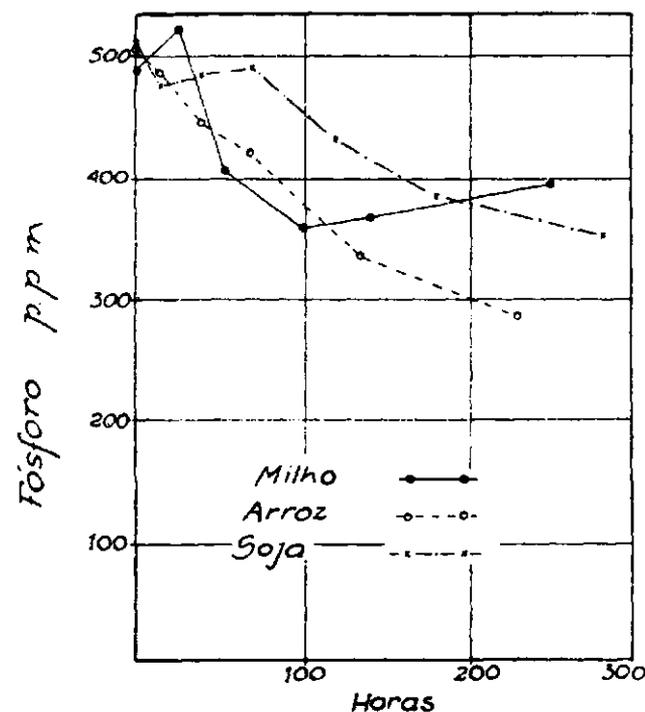


FIGURA 4.—Absorção de fósforo, por três espécies, na solução de Shive.

a 3,9 — 2,9 e subiu novamente para 5,0 ou 6,0. Este abaixamento e a posterior elevação do pH são devidos, de início, à absorção mais rápida do radical  $NH_4^+$  pelas plantas. Isto resulta, inicialmente, no acúmulo do radical  $NO_3^-$  na solução, acidificando-a. Posteriormente, como este radical é também absorvido, o pH de novo se eleva. O emprêgo de  $NH_4NO_3$  evitou a clorose de ferro em algumas plantas, principalmente na soja, mas resultou em acidez prejudicial a plantas novas de milho e algodão.

Em uma experiência não descrita na presente publicação, a solução "X", que contém  $NH_4NO_3$ , produziu ótimo crescimento em plantas novas de café (*Coffea arabica* L.), mas foi tóxica para plantas mais velhas.

A clorose de ferro é o fator que mais freqüentemente limita o emprêgo de certas soluções nutritivas.

A adição de  $NH_4NO_3$ , na proporção de apenas 0,125 gramas por litro, tornou a solução consideravelmente ácida, após algum tempo, em tôdas as experiências realizadas com as nove plantas, que representavam sete famílias diferentes. Assim é que, em soluções não-"puffer", o pH, que inicialmente era 5,25, passou

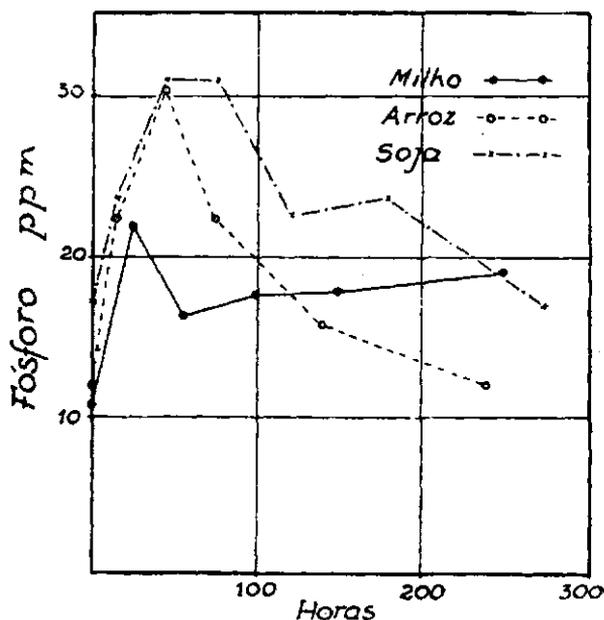


FIGURA 5.—Absorção de fósforo, por três espécies, na solução "puffer" (P) com  $Ca_3(PO_4)_2$ .

A absorção de ferro das soluções é reduzida pelo fósforo, provavelmente pelo radical  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e principalmente em pH 6 ou mais elevado. O emprêgo de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  reduz êsse inconveniente; isso também se consegue, empregando-se suficiente concentração de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  para manter o pH abaixo de 5,5. Em culturas, em grandes tanques, poder-se-á obter o mesmo resultado com  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , que é um produto mais barato. Com soluções do tipo Knop pode-se evitar a clorose, omitindo-se o fosfato, por ocasião do preparo da solução, adicionando-o somente dois ou quatro dias mais tarde. Desta maneira, a planta terá tempo para absorver ferro em quantidade suficiente para o seu normal desenvolvimento por muitos dias.

### SUMMARY

Moderate amounts of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0.5 to 0.7 millimols) caused iron chlorosis of seedlings in solutions less acid than pH 5.5-6.0. The trouble could be avoided by omitting the phosphorus entirely and adding it separately after 2-4 days. Even with this modification the Knop type of solution (Hoagland, 2) caused persistent chlorosis in soybeans and broccoli.

In the commonly used Shive solution ( $\text{R}_5\text{-C}_2$ ) a large excess of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  holds the pH of the solution between 4.5 and 5.0 and chlorosis is moderate to slight. The Shive solution contains 36 times as much phosphorus as the Hoagland and 6-week-old plants growing in it absorbed 15 times as much to make a slightly poorer growth. The addition of as little as 0.125 g per liter of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  resulted in decidedly acid solutions in every experiment with nine plant species representing seven families. Initial pH's of 5.25 in an unbuffered solution fell to minimums of 3.9 to 2.9 and then rose, to pH 5.0 or 6.0 with large plants. The low pH's were shown to be due to a preferential absorption of  $\text{NH}_4^+$  ion and the later rise to the slower absorption of the  $\text{NO}_3^-$  ion. The use of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  prevented iron chlorosis with some plants, notably soybeans, but resulted in acidities which were injurious to young corn and to cotton. In work done in this series but not described above, the "X" solution containing  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  gave exceptional growth of young coffee (*Coffea arabica*), but was toxic to older plants.

It is probable that iron chlorosis has more effect on solution culture results than any other single factor, and frequently than all other factors. Iron absorption from cultures is reduced by phosphorus, probably by  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  ions especially, at pH's of about 6.0 or higher. The use of  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  reduces the trouble as does the use of enough  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  to maintain a pH below 5.5. In tank culture  $\text{H}_2\text{SO}_4$  may be used more cheaply to accomplish the same result. In miscellaneous work with the Knop type of solution chlorosis can be reduced or prevented by omitting phosphorus from the solution and adding it separately 2-4 days later after iron has been absorbed.

### LITERATURA CITADA

1. Clements, Harry F. Plant nutrition studies in relation to the triangular system of water cultures. *Plant Physiol.* 3: 441-458. 1928.
2. Hoagland, D. R. e T. C. Broyer. Hydrogen-ion effects and the accumulation of salt by barley roots as influenced by metabolism. *Amer. Jour. Bot.* 27:173-185. 1940.
3. Loomis, W. E. e C. A. Shull. *Em Methods in Plant Physiology.* pág. I-XVIII+1-472, New York, 1937.
4. Shive, John W. A study of physiological balance in nutrient media. *Physiol. Res.* 1:327-397. 1915.
5. Weiss, Martin G. Inheritance and physiology of efficiency in iron utilization in soybeans. *Gen.* 28:253-268. 1943.
6. Zinzadzé, C. Nutrition artificielle des plantes cultivées. I. Mélanges nutritifs à pH stable. *Ann. Agron.* 2:809-853. 1932.