

DOSAGEM DO FÓSFORO SOLÚVEL, NAS FÓLHAS(\*). J. ROMANO GALLO. O fósforo e outros nutrientes essenciais, como o nitrogênio e enxôfre, principalmente, encontram-se nas plantas em diferentes formas de combinação. O teor total inclui tôdas as formas presentes no tecido analisado. A diferenciação entre as formas de combinação ou entre grupos de compostos pode oferecer sensibilidade variável na análise de plantas<sup>(1)</sup>.

Estudos sobre análise foliar com referência à fração fósforo solúvel vêm sendo levados a efeito neste Laboratório. Preliminarmente está sendo dosado o fosfato em amostras de fôlhas de milho, e na presente nota serão descritos os processos para a extração e dosagem do fósforo solúvel, como contribuição para uso nos estudos em que a análise foliar é empregada como índice do estado de nutrição. O método<sup>(2)</sup> será descrito com as modificações introduzidas; a parte colorimétrica da análise foi adaptada do método de Bray<sup>(3)</sup> para solos.

**Método de análise. Reagentes.** Solução de ácido acético a 2% (em volume).

Ácido nítrico 15 N, reagente analítico.

Ácido clorídrico 12 N, reagente analítico.

Solução de molibdato de amônio em ácido clorídrico. Dissolvem-se 10 g de molibdato de amônio em 85 ml de água e adiciona-se esta solução, com agitação e a frio a uma solução de 16 ml de água e 170 ml de HCl. Chama-se esta solução de reagente A.

Solução de ácido amino-naftol-sulfônico. Colocam-se num copo de 250 ml, 0,250 g de ácido 1 — amino — 2 — naftol — 4 — sulfônico (Eastman 360), 0,5 g de sulfito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) e 14,625 g de bissulfito de sódio (meta,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ). Juntam-se 96 ml de água morna dissolvendo a mistura. Para dissolução mais imediata o frasco pode ser aquecido em banho-maria. Esta solução deve ser renovada cada três semanas. Designa-se como reagente B.

(\*) Recebida para publicação em 23 de março de 1960.

(1) ULRICH, A. Plant analysis as a diagnostic procedure. *Soil Sci.* 55:101-112. 1943.

(2) ULRICH, A. Plant analysis — Methods and interpretation of results. In *Herminie Broedel Kitchen, ed. Diagnostic techniques for soils and crops.* Washington 6, D. C., The American Potash Institute, 1948. p. 192-193.

(3) BRAY, R. H. Correlation of soil tests with crop response to added fertilizers and with fertilizer requirement. In *Herminie Broedel Kitchen, ed. Diagnostic techniques for soils and crops.* Washington 6, D. C., The American Potash Institute, 1948. p. 85-66.

Soluções-padrão de fosfato. Dissolvem-se 0,4387 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sêco em estufa, em 400 ml de água, adicionam-se 10 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10 N. Dilui-se a 1 litro, em balão aferido. Cada mililitro desta solução contém 100 microgramas de P. Mediante diluições posteriores obtêm-se soluções de trabalho contendo 0, 1, 2, 3, 5 e 10 microgramas de P por mililitro.

**Aparelhamento.** O espectrofotômetro Beckman, modelo B, foi usado em tôdas as leituras colorimétricas. As amostras foram preparadas com o auxílio do moinho "Wiley" (médio) com peneira de malha 40. Um agitador magnético foi usado na obtenção do extrato e o tempo de agitação, controlado por meio de um marcador de tempo "GraLab", elétrico.

**Processo.** Pesam-se 0,100 g de folha sêca e moída e transfere-se para balões de Erlenmeyer de 50 ml. Adicionam-se, com auxílio de pipeta automática, 25 ml de solução de ácido acético a 2%, agita-se durante 2 minutos e filtra-se. Depois de homogenizado o extrato, pipeta-se uma alíquota de 2 ml, passando-a para copos de 30 ml e desidrata-se (não completamente) no banho de vapor. Juntam-se uma gota de  $\text{HNO}_3$  e três gotas de  $\text{HCl}$  e deixa-se secar completamente (20 minutos, em geral, é suficiente). Espera-se esfriar e dissolve-se o material sêco com 10 ml de água adicionada com pipeta. Agita-se por meio de borbulhamento de ar através da solução. Pipeta-se uma alíquota de 5 ml, transferindo-a para tubo de ensaio. Juntam-se cinco gotas do reagente A e homogeniza-se, imprimindo rotação ao tubo; juntam-se cinco gotas do reagente B, arrolha-se e agita-se. Deixa-se repousar durante 15 minutos, procedendo a leitura dentro do minuto seguinte, a 680 milimicros, usando água destilada como referência. Determina-se a quantidade de fósforo por referência a uma curva de calibração preparada semelhantemente com os padrões entre os limites de 0 e 10 microgramas de P. Cada micrograma de fósforo corresponde à seguinte porcentagem na matéria sêca das folhas:

$$\frac{1 \text{ meg P} \times 25 \text{ ml} \times 100 \times 2}{1\ 000\ 000 \times 2 \text{ ml} \times 0,1 \text{ g}} = 0,025\% \text{ de P.}$$

**Discussão.** O método de determinação do fosfato em plantas, posto em equilíbrio com uma solução de ácido acético a 2%, tem sido estudado e descrito por Ulrich (24). Esse autor (4) obteve maiores amplitudes de

(4) ULRICH, A. Critical phosphorus and potassium levels in ladino clover. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 10:150-161. 1946.

variação nos teores de fósforo solúvel dos pecíolos e lâminas em fôlhas de trevo submetido a tratamentos com doses crescentes de fósforo, do que em relação ao fósforo total.

Emmert<sup>(5)</sup> determinou os nutrientes fósforo e nitrogênio em solução nos tecidos condutores, isto é, a fração do nutriente que não integrou ainda os processos metabólicos e propôs a substituição da determinação do nitrato pela do nitrogênio, como parte dos compostos solúveis em ácido acético a 2%. No estudo dos nutrientes nos tecidos frescos de planta, Wolf<sup>(6)</sup>, em lugar do ácido acético, empregou como extrator uma solução de acetato de sódio normal ajustada a pH 4,8.

Em nossas condições e com relação ao enxôfre, resultados parciais mostram tendência de maior sensibilidade ao enxôfre obtido com a determinação da fração sulfato<sup>(7)</sup>. Métodos de determinação de enxôfre total e de sulfatos em plantas são apresentados por Johnson e Ulrich<sup>(8)</sup>.

Os dados contidos no quadro 1 ilustram a precisão do método descrito nesta nota, obtida na análise de amostras de fôlhas de milho oriundas de canteiros de um ensaio em que são pesquisados três diferentes

QUADRO 1. — Precisão da determinação de fósforo solúvel em fôlhas de milho. P na amostra por cento de matéria seca(\*)

Amostra n.º (**)	Valores individuais			Médias	Limites de confiança 95% para uma determinação
M-79-----	0,070, 0,069, 0,071,	0,067, 0,074, 0,068,	0,074, 0,072, 0,068	0,070	0,064 - 0,076
93-----	0,144, 0,143, 0,144,	0,143, 0,147, 0,146,	0,140, 0,141, 0,139	0,143	0,137 - 0,149
81-----	0,250, 0,233, 0,232,	0,235, 0,233, 0,238,	0,233, 0,239, 0,240	0,237	0,231 - 0,243

(\*) Análise estatística conduzida pelo Eng.º Agr.º A. Conagin, Seção de Técnica Experimental.

(\*\*) Número de registro do Lab.º Pesq. Elem. Minerais em Plantas.

(5) EMMERT, E. M. New methods for the determination of the availability of nitrogen and phosphorus to plants. *J. Amer. Soc. Agron.* 27:1-7. 1953.

(6) WOLF, B. Rapid determination of soluble nutrients in soil and plant extracts by means of a photoelectric colorimeter. *Ind. and Engng Chem., Analyt. Ed.* 15:248-251. 1943.

(7) LOTT, W. L., McCLUNG, A. C. & MEDCALF, J. C. Deficiência de enxôfre em cafeeiro. IBEC Research Institute. [Em preparo]

(8) JOHNSON, C. M. & ULRICH, A. Analytical methods for use in plant analysis. *Calif. Agric. Exp. Sta.*, 1959. p. 25-78 (Bull. 766).

níveis de fósforo. Para cada amostra foram preparados nove extratos individuais — 0,100 g de material seco agitados com 25 ml de solução de ácido acético a 2%.

O coeficiente de variação médio calculado para uma determinação foi de 2,6%.

O método do fósforo solúvel, de acôrdo com a marcha analítica apresentada, fornece precisão e rapidez suficientes para a análise de fôlhas, com o fim de diagnose. LABORATÓRIO DE PESQUISAS DE ELEMENTOS MINERAIS EM PLANTAS, INSTITUTO AGRÔNOMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

#### DETERMINATION OF ACID-SOLUBLE PHOSPHORUS IN LEAVES

##### SUMMARY

Chemical analysis of corn leaves are being carried out in this Laboratory to determine if acetic acid-soluble phosphorus is a sensitive index of phosphorus status of the crop. Preliminary data from leaf analysis showed higher levels of phosphate phosphorus with increasing amounts of phosphate fertilizer applications, for two corn field experiments.

A procedure for phosphate determination is reported herein. It is based on the method used by Ulrich and on Bray's soil test for phosphorus.

The precision obtained in analysing corn leaf samples at three different levels of phosphate showed an average coefficient of variation of 2.6 per cent for a single determination.