

ESPECIAÇÃO DE FÓSFORO EM SOLOS COM DIFERENTES  
TEXTURAS E CULTIVADOS COM EUCALIPTO

**LAÍS CHIERICI BERNARDES RINALDI**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
FEVEREIRO – 2018

# ESPECIAÇÃO DE FÓSFORO EM SOLOS COM DIFERENTES TEXTURAS E CULTIVADOS COM EUCALIPTO

**LAÍS CHIERICI BERNARDES RINALDI**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestrado em Produção Vegetal, com ênfase em Solos e Nutrição de Plantas”

Orientador: Prof. Antonio Carlos da Gama-Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
FEVEREIRO - 2018

**FICHA CATALOGRÁFICA**

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora

R578

Rinaldi, Laís Chierici Bernardes.

ESPECIAÇÃO DE FÓSFORO EM SOLOS COM DIFERENTES TEXTURAS E CULTIVADOS COM EUCALIPTO / Laís Chierici Bernardes Rinaldi. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2018.

94 f. : il.

Bibliografia: 85 - 94.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2018.  
Orientador: Antonio Carlos da Gama-Rodrigues.

1. Fósforo Orgânico do Solo. 2. Solução de espectroscopia de <sup>31</sup>P RMN. 3. Fracionamento de fósforo de Hedley. 4. Métodos de extração de P. 5. Sistemas florestais. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

# ESPECIAÇÃO DE FÓSFORO EM SOLOS COM DIFERENTES TEXTURAS E CULTIVADOS COM EUCALIPTO

**LAÍS CHIERICI BERNARDES RINALDI**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestrado em Produção Vegetal, com ênfase em Solos e Nutrição de Plantas”

Aprovada em 23 de fevereiro de 2018.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Gabriel R. P. Andrade (D.Sc., Agronomia - Solos e Nutrição de Plantas) –  
UENF

---

Prof. Jan Schripsema (D.Sc., Ciências Naturais e Matemática) – UENF

---

Prof. José Leonardo de Moraes Gonçalves (D.Sc., Agronomia - Solos e Nutrição  
de Plantas) – ESALQ-USP

---

Prof. Antonio Carlos Gama-Rodrigues (D.Sc., Agronomia - Solos e Nutrição de  
Plantas) –UENF  
(Orientador)

A Deus;

Aos meus pais, Sérgio e Solange, por terem abdicado dos seus sonhos pelos meus, por todo amor e apoio em todos os momentos de minha vida;

Ao meu irmão Danilo;

Ao meu avô, Airton Bernardes (in memoriam);

À família Tinoco e Alvarenga, pelo acolhimento, carinho e apoio;

Aos meus amigos de longa data, por compreenderem a ausência e aos novos amigos, por todo suporte neste período.

Dedico

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, ao Laboratório de Solos e a CAPES, pela oportunidade do desenvolvimento do projeto;

Aos meus pais e ao meu irmão, que contribuíram e deram suporte em mais uma etapa da minha vida;

Ao meu namorado Carlos Alberto, pelo apoio, compreensão e amor;

Ao meu orientador Antonio Carlos da Gama-Rodrigues, pela orientação e por compartilhar comigo seu conhecimento;

Ao professor José Leonardo de Moraes Gonçalves, do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ-USP, por disponibilizar as amostras de solos dos sítios florestais de eucalipto usadas para o desenvolvimento da dissertação;

Às técnicas do laboratório de solos, Kátia e Vanilda, por me auxiliarem na execução das minhas atividades laboratoriais;

À professora Emanuela Foriestieri da Gama-Rodrigues, pela colaboração na minha formação e no decorrer da dissertação e pela alegria que transmite tornando mais fácil a jornada;

Ao Seldon Aleixo, por estar sempre disposto a ajudar e compartilhar toda sua experiência e pela colaboração nas análises laboratoriais, tendo sido primordial para execução deste trabalho;

Ao meu amigo Danilo Andrade, por ter estado sempre presente, com conselhos e suporte, tendo sido meu grande apoio desde o início da minha construção profissional;

Aos meus amigos, de uma vida toda, por terem dado apoio sempre que precisei e por terem-se feito presentes mesmo quando eu estava ausente;

Às novas amigas, Raiane e Adriana, por terem sido, aqui em Campos dos Goytacazes, a minha família, acompanhando diariamente a construção deste trabalho;

Aos companheiros de trabalho, Lais, Francielle e Fabrício, pela colaboração na elaboração do trabalho e pelo apoio e compartilhamento dos conhecimentos;

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, meus agradecimentos.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1 Eucalipto: produção de biomassa e demanda de fósforo .....	4
2.2 Fósforo no solo: formas, dinâmica e sua determinação .....	6
2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ( <sup>31</sup> P-RMN) .....	9
2.4 <sup>31</sup> P- RMN: Espécies de fósforo no solo.....	12
3. TRABALHOS.....	15
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO FÓSFORO DO SOLO POR ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR <sup>31</sup> P EM SÍTIOS DE EUCALIPTO NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.....	15
RESUMO .....	15
INTRODUÇÃO.....	16
MATERIAL E MÉTODOS .....	19
RESULTADOS .....	25
DISCUSSÃO.....	36
CONCLUSÃO .....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
3.2 FÓSFORO DO SOLO EM FLORESTAS PLANTADAS DE EUCALIPTO NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL: MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	50
RESUMO .....	50
INTRODUÇÃO.....	51
MATERIAL E MÉTODOS .....	54



RESULTADOS .....	63
DISCUSSÃO.....	74
CONCLUSÃO .....	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
4. RESUMO E CONCLUSÕES .....	83
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	85

## RESUMO

RINALDI, Laís Chierici Bernardes Rinaldi, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, fevereiro, 2018. Métodos de extração e especiação do fósforo no solo via ressonância magnética nuclear-  $^{31}\text{P}$  em sítios de eucalipto no estado de São Paulo. Orientador: Prof.<sup>a</sup> Antonio Carlos da Gama-Rodrigues; Co-orientador: Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues.

Os solos brasileiros apresentam altos teores de óxidos de Fe e Al, propiciando uma elevada capacidade de fixação de fósforo (P), acarretando em baixos teores de P na solução do solo e limitando o rendimento das culturas. Assim, o P se torna uma preocupação em termos ambientais e agronômicos. Foram coletadas amostras de solos na camada 0-20 cm, nas entrelinhas de plantios do eucalipto, em 10 e 9 sítios (primeiro e segundo capítulo, respectivamente) com diferentes características edafoclimáticas e de manejo, localizados no estado de São Paulo, Brasil. O estudo foi dividido em dois artigos, o primeiro objetivou caracterizar os compostos de P, bem como as suas concentrações estabelecendo relações com os atributos do solo. Para tal foi utilizada a extração de NaOH+EDTA e espectroscopia de ressonância magnética nuclear- $^{31}\text{P}$  ( $^{31}\text{P}$ -RMN). Houve dissimilaridade entre os sítios com variações nos compartimentos das espécies de P identificadas. No P inorgânico total extraído, a preponderância foi do ortofosfato, variando de 49 a 318  $\text{mg kg}^{-1}$  (média  $102 \pm 25,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e no pirofosfato as concentrações variaram de 1 a 9  $\text{mg kg}^{-1}$  (média  $3 \pm 0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ ) representando 1 a 5% (média de  $2 \pm 0,3\%$ )

de Pi extraível com NaOH+EDTA em  $^{31}\text{P}$ -RMN. O P orgânico foi representado pelas formas de P-monoéster e P-diéster e a forma mais preponderante de P orgânico encontrado foi o monoéster, sendo observadas concentrações variando de 15 a 80  $\text{mg kg}^{-1}$  (média  $44 \pm 5,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Já o P-diéster foi encontrado na forma de DNA em todos os sítios e variou de 1,0 a 8  $\text{mg kg}^{-1}$ . Inicialmente, pelos teores das espécies de P inorgânicos encontrados, o sistema consegue se manter, porém a longo prazo é necessária uma manutenção deste nutriente visto que os teores das espécies de P orgânicos encontrados não são capazes de suprir o sistema. Assim, fica evidente a importância da técnica de  $^{31}\text{P}$ -RMN permitindo-nos conhecer os compostos de P e as formas de labilidade em que se apresentam possibilitando o maior entendimento do ciclo biogeoquímico do P no sistema de produção de eucalipto. O segundo capítulo objetivou avaliar através de uma comparação de métodos de extração de P qual seria mais eficiente. Para extração do P foram utilizadas as metodologias de Hedley, Bowman, NaOH+EDTA e digestão sulfúrica. Obtiveram-se, com a análise descritiva e ao teste de médias utilizando Tukey (5%) e correlações de Pearson estabelecidas entre as frações de P e entre as metodologias, os maiores teores extraídos de P total pelo método de Hedley com valor médio de  $401 \text{ mg kg}^{-1}$ , seguido da digestão sulfúrica entre 276 a  $430 \text{ mg kg}^{-1}$ . Para o P total a método de Bowman e a extração com NaOH+EDTA se aproximaram com médias de 148 e  $226 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente. Para o P orgânico: médias entre Hedley e NaOH+EDTA se aproximaram, com teores variando 58 a  $273 \text{ mg kg}^{-1}$  (Hedley) e 80 e  $214 \text{ mg kg}^{-1}$  (NaOH+EDTA). Nesta fração de P orgânico o método proposto por Bowman extraiu menos de 50% da média do teor de P extraído pelos demais métodos. O P inorgânico obteve semelhantes médias entre os métodos analíticos, não diferindo entre si. O mais recomendado é o extrator NaOH+EDTA, sendo tão eficiente quanto o Hedley, porém mais simples e rápido.

## ABSTRACT

RINALDI, Laís Chierici Bernardes Rinaldi, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, fevereiro, 2018. Métodos de extração e especiação do fósforo no solo via ressonância magnética nuclear-<sup>31</sup>P em sítios de eucalipto no estado de São Paulo. Orientador: Prof.<sup>a</sup> Antonio Carlos da Gama-Rodrigues; Co-orientador: Emanuela Forestieri da Gama-Rodrigues.

Brazilian soils present high levels of Fe and Al oxides, providing a high phosphorus (P) binding capacity, resulting in low P content in the soil solution and limiting crop yield. Thus, P becomes an environmental and agronomic concern. Soil samples were collected in the 0-20 cm layer, between eucalyptus plantation lines, in 10 and 9 sites (first and second, respectively) with different soil and climatic and management characteristics, located in the state of São Paulo, Brazil. The study was divided in two articles, the first objective was to characterize the compounds of P, as well as their concentrations establishing relations with the attributes of the soil. Extraction of NaOH + EDTA and <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance spectroscopy (<sup>31</sup>P-NMR) was used. There was dissimilarity between the sites with variations in the compartments of the identified P species. In the total inorganic P extracted the preponderance was of the orthophosphate, ranging from 49 to 318 mg kg<sup>-1</sup> (mean 102 ± 25.7 mg kg<sup>-1</sup>) and in the pyrophosphate concentrations ranged from 1 to 9 mg kg<sup>-1</sup> (mean 3 ± 0.8 mg kg<sup>-1</sup>) representing 1 to 5% (mean 2 ± 0.3%) extractable Pi with NaOH + EDTA at <sup>31</sup>P-NMR. The organic P was represented by the P-monoester

and P-diéster forms and the most predominant form of organic P found was the monoester, with concentrations varying from 15 to 80 mg kg<sup>-1</sup> (mean 44 ± 5.6 mg kg<sup>-1</sup>). The P-diéster was found as DNA in all sites and ranged from 1.0 to 8 mg kg<sup>-1</sup>. Initially, by the inorganic P species found, the system can maintain itself, but in the long term it is necessary to maintain this nutrient since the organic P species contents are not able to supply the system. Thus, the importance of the <sup>31</sup>P-NMR technique is evident, allowing us to know the P compounds and the forms of lability in which they are presented, enabling a better understanding of the biogeochemical P cycle in the eucalyptus production system. The second chapter aimed to evaluate through a comparison of extraction methods of P which would be more efficient. For extraction of the P, the methodologies of Hedley, Bowman, NaOH + EDTA and sulfur digestion were used. With the descriptive analysis and the Tukey test (5%) and Pearson correlations established between the P fractions and between the methodologies, the highest levels of total P extracted by the Hedley method with an average value of 401 mg kg<sup>-1</sup>. Followed by sulfur digestion between 276 and 430 mg kg<sup>-1</sup>. For the total P to Bowman's method and the extraction with NaOH + EDTA were approximated with averages of 148 and 226 mg kg<sup>-1</sup>, respectively. For organic P: averages between Hedley and NaOH + EDTA approached, with contents varying from 58 to 273 mg kg<sup>-1</sup> (Hedley) and 80 and 214 mg kg<sup>-1</sup> (NaOH + EDTA). In this fraction of organic P the method proposed by Bowman extracted less than 50% of the average of the content of P extracted by the other methods. The inorganic P obtained similar means between the analytical methods, not differing from each other. The most recommended is the NaOH + EDTA extractor, being as efficient as Hedley, but simpler and faster.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil consegue atingir até cerca de 60m<sup>3</sup>/ha/ano de produtividade de eucalipto, em rotações de sete anos (SNIF, 2018). Há uma crescente conscientização de uma atividade de produção de eucalipto sustentável e altamente produtiva, visto a grande demanda de produtos madeireiros e por ser a principal cultura fornecedora de matéria-prima para produtos à base de celulose.

O fósforo (P) é um macronutriente pelo qual as culturas são altamente dependentes, sendo o segundo elemento mais requerido pelas plantas, auxiliando no seu crescimento e maturação. Além disso, o P tem uma função importante na fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, divisão e crescimento de células, entre várias outras funções nas plantas (Grant et al., 2001).

A produção de matéria seca no eucalipto é altamente influenciada pelo conteúdo de P no solo (Leite et al., 2009). Com isso, um manejo eficiente no processo de exploração e recuperação do solo se torna primordial, elevando ao máximo o retorno econômico e conservando o solo.

As condições a que o solo brasileiro está exposto, de alto grau de intemperismo, em sua maior parte, influenciado pelo clima tropical, acarreta em altos níveis de óxidos de ferro e alumínio. Assim, os fosfatos em solução ligam-se aos óxidos e são adsorvidos por uma ligação predominantemente covalente (“adsorção específica”, onde ocorre a troca de agentes de ligação da superfície dos óxidos por fosfatos em solução) (Novais et al., 2007), proporcionando uma forte estabilidade do nutriente ao solo, acarretando em uma baixa eficiência do solo em relação à sua

fertilidade e limitando, assim, o rendimento e produtividade das culturas (Novais et al., 2007).

Podem ser atribuídas ao solo as características de fonte ou dreno do nutriente P. No Brasil, como nos cerrados brasileiros, a presença de solos tropicais em estágio de alto grau de intemperismo tem atributos como maior eletropositividade, aumento de adsorção aniônica, menor capacidade de troca de cátions, entre outros. Assim, pode-se verificar que a relação solo x planta é de competitividade quando relacionado ao fertilizante utilizado, caracterizando o solo como um dreno do nutriente (Novais e Smyth, 1999).

Segundo Novais e Smyth (1999), as frações orgânicas e inorgânicas de P no solo podem atuar também como fonte ou dreno do elemento na solução do solo, levando em conta suas características mineralógicas, manejo do solo, condições ambientais e fertilização.

No solo, o P se encontra em formas de maior e menor grau de labilidade. O P reativo ao molibdato é o P inorgânico que está em solução, prontamente disponível à cultura. Já o P orgânico apresenta um grau de labilidade menor (Santos et al., 2008).

Usualmente, para os solos tropicais, na avaliação da fertilidade, são utilizados métodos que destacam as formas de P inorgânicas, mais prontamente disponível para a planta. Porém, o P orgânico (forma menos lábil) atua fortemente na manutenção da disponibilidade do nutriente a médio e longo prazo, como forma de reserva no solo (Leite, 2015).

Com a finalidade de avaliar as diferentes formas de P no solo, diversas metodologias foram propostas ao longo dos anos como: extração por digestão sulfúrica, fracionamento pelo método de Hedley, extração pelo método de Bowman, extração com NaOH+EDTA, entre outras.

A digestão sulfúrica extrai o P total do solo através da determinação de P total obtida por colorimetria, onde se utiliza o ácido ascórbico e molibdato de amônio precedido de abertura de amostra em meio ácido ( $H_2SO_4$ ). É um método de baixo custo e de robustez, sendo o método mais utilizado (Mendonça, 2013).

O fracionamento sequencial de Hedley et al. (1982) determina nove frações de P no solo com um grau decrescente de labilidade. Têm-se as formas de P extraídas por resina e bicarbonato de sódio que são as frações mais prontamente disponíveis; em sequência há uma extração com hidróxido de sódio onde são consideradas

frações moderadamente lábeis, incluindo P associado a óxidos de Al e Fe; a posteriori, as frações são extraídas por ácido, frações estas que estão ligadas à apatita e outros fosfatos de Ca menos reativos; por último, o P é determinado por digestão peróxido/sulfúrica que concebe a fração mais recalcitrante (Hedley et al., 1982).

O método de extração proposto por Bowman (1989) utiliza a determinação do P total e P inorgânico para obtenção do P orgânico por diferença entre essas formas de P. É caracterizado pela acurácia na caracterização do P orgânico, além de ser uma metodologia mais rápida, sendo, então, o mais indicado para solos em avançado grau de intemperismo (Guerra et al., 1996). Apesar de ser um método mais rápido, requer atenção nas etapas, pois erros na determinação do P total e/ou P inorgânico podem afetar a estimativa do conteúdo de P do solo (Oliveira et al., 2014).

A extração utilizando NaOH+EDTA (Bowman e Moir, 1993) é uma junção onde o NaOH facilita a extração do P orgânico do solo (Newman e Tate, 1980) e o EDTA melhora e aumenta a extração de P total visto que ele completa os íons de Fe e Al. É também uma metodologia utilizada para leitura do solo através da ressonância magnética nuclear do  $^{31}\text{P}$  (RMN- $^{31}\text{P}$ ) e permite a determinação das espécies de P e sua natureza química no solo.

O presente trabalho tem como objetivo (1) caracterizar as formas de P disponibilizadas e suas relações com os atributos do solo e identificar a diversidade de compostos químicos de P, e (2) comparar qual metodologia de extração de P, dentre as avaliadas, seria mais precisa na determinação do nutriente.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Eucalipto: produção de biomassa e demanda de fósforo

Há mais de um século são plantadas florestas de eucalipto no Brasil. A demanda pela madeira fez com que o plantio de eucalipto se tornasse uma alternativa para suprir as necessidades visto que os recursos naturais da mata atlântica já vinham, há tempos, sendo explorados (SNIF, 2017). Assim, é necessária a aquisição de novas informações sobre a produção e demanda de nutrientes para aumentar a produtividade dos novos plantios (Santana et al., 2008).

De acordo com dados do IBGE (2016), o Brasil possui uma área de 10.023.076 ha de florestas plantadas onde o eucalipto representa 75% (7.543.707 ha) da área total. Os estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e São Paulo são os maiores produtores (Figura 1).

Em climas tropicais, como o encontrado no Brasil, o eucalipto se desenvolve muito bem, com uma rápida expansão radicular além de apresentar tolerância à acidez, toxicidade por Al e deficiência de bases no solo (Costa et al., 2016).

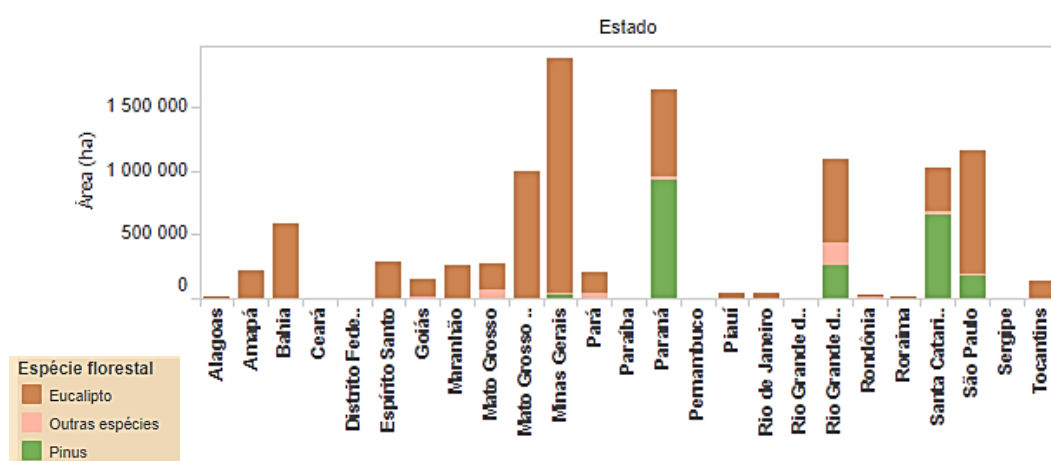


Figura 1 - Distribuição por estado e por cultura de área florestal em 2016 (Fonte: PEVS/IBGE).

Diversos fatores podem alterar e limitar o crescimento das plantas como temperatura, água e nutrientes, podendo afetar seu desenvolvimento (Santana et al., 2008). O desenvolvimento sustentável de uma floresta de eucalipto se dá, principalmente, pela disponibilidade de água e balanço de nutrientes no sistema solo-planta (Barros e Comerford, 2002). Segundo Bazani et al. (2014) a fertilização mineral é responsável por ampliações entre 30% a 50% na produção de madeira.

Para manter a sustentabilidade em longo prazo é indispensável a adoção de um manejo adequado e para isso necessita-se conhecer as relações entre a necessidade de nutrientes requerida pela cultura e a biodisponibilidade dos nutrientes nos sítios de cultivo.

O P é um macronutriente limitador da produtividade do eucalipto no Brasil, principalmente por ser mais requerido em seu estágio inicial de estabelecimento (Barros et al., 2014). De acordo com Maeda e Bognola (2011), os níveis críticos de P no solo na fase inicial para o eucalipto variam de 14,9 a 52,68 mg dm<sup>-3</sup>, sendo influenciado pela acidez do solo. Neste estágio, normalmente há uma adubação mineral onde as respostas às aplicações de P são altas (Golçalves et al., 2013).

Segundo Barros et al. (2000), a adubação fosfatada é genérica em plantações de eucalipto e as perdas naturais do P, pelas condições dos solos brasileiros, acarreta em um uso superior ao necessário de adubos na fase de estabelecimento, crescimento e manutenção da planta (Barros et al., 2014). Como as fontes fosfatadas são finitas, o uso racional é fundamental para manutenção das fontes.

Apesar de o eucalipto ser uma cultura que produz serapilheira de baixo índice nutricional (Gama-Rodrigues e Barros, 2002), um manejo eficiente a serapilheira produzida pode ser utilizada como uma reserva de nutrientes a ser disponibilizada, paulatinamente, por cultivos próximos, por sua lenta decomposição (Gama-Rodrigues, 1997). Assim, aproveitando a produção da serapilheira do eucalipto (cascas e resíduos da copa sobre o solo) existiria um potencial em reduzir a utilização de fertilizantes à base de fosfatos através da ciclagem das formas orgânicas de P.

## 2.2 Fósforo no solo: formas, dinâmica e sua determinação

O P no solo é oriundo de reservatórios de fosfatos advindos de rochas e depósitos formados em idades geológicas passadas (Oliveira, 2012). O P é considerado um elemento essencial para as plantas com funções que auxiliam no estabelecimento da cultura, armazenando e transferindo energia, aumentando assim a taxa fotossintética (Brady e Weil, 2013).

Os solos brasileiros apresentam uma carência deste elemento por estar associado a uma forte interação com o solo, sendo adsorvido aos óxidos de Fe e Al (Novais et al., 2007) reduzindo a eficiência da adubação fosfatada. Assim, com a deficiência de P nos solos, o reflexo se dá no menor desenvolvimento das culturas. Por apresentar mobilidade, os sintomas de carência se distribuem por toda a planta e aparecem inicialmente nas folhas mais velhas (Faquin, 1994).

O P no solo ocorre em duas principais formas, inorgânicas e orgânicas, que contribuem em diferentes graus de labilidade para disponibilidade das plantas. O P inorgânico é também conhecido como o P em solução por se apresentar prontamente disponível às culturas (Gatiboni et al., 2013). O P orgânico tem origem vegetal, microbiana e dos produtos de sua decomposição (Martinazzo et al., 2007). Segundo Dalal (1977), o P orgânico se apresenta principalmente pelas formas de fosfatos de inositol (10-80% do P orgânico total), os fosfolipídeos (0,5-7%), os ácidos nucleicos (aproximadamente 3%) e outros ésteres-fosfato (maior que 5%).

Diversas técnicas para estimar o P do solo foram adotadas e modificadas com o objetivo de obter as diferentes formas de P, as frações orgânicas e inorgânicas e sua labilidade.

Uma técnica difundida foi o fracionamento de P, proposta por Chang e Jackson (1957), assim conhecida por ser aplicada sequencialmente em ordem crescente no poder de extração. Isso possibilita classificar o P do solo em quatro grandes grupos (e seus extratores), fosfatos de alumínio ( $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{NH}_4\text{F}$ ), fosfatos de ferro (NaOH), fosfatos de cálcio ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) e fosfatos oclusos ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 + \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) (Gatiboni, 2003). Contudo, este fracionamento não permite separar as formas orgânicas e inorgânicas do P e nem estimar sua labilidade. A posteriori aos trabalhos de Chang e Jackson outros métodos foram propostos para extração ou fracionamento do P do solo (Fixen e Grove, 1990).

O método proposto por Hedley (1982) permite estimar o P orgânico e sua labilidade no solo. Este método separa o P do solo em nove frações: cinco frações inorgânicas, três frações orgânicas e uma fração residual (Aleixo et al., 2017). A quantificação das frações lábeis se dá quando são compostas pelo somatório das frações extraídas por resina trocadora de ânions (RTA) e das frações inorgânica e orgânica, extraídas com  $\text{NaHCO}_3$ . As frações moderadamente lábeis de P são compostas pelas frações orgânica e inorgânica de P ligados aos óxidos de Fe e Al, o que corresponde ao P extraído com NaOH. As frações inorgânicas e orgânicas extraídas com NaOH adicionado de ultrassom correspondem ao P-ocluído adsorvido no interior de agregados. Frações de P ligado ao Ca com disponibilidade restrita são formadas pela fração extraída com HCl. O P-residual corresponde a frações insolúveis de P (Novais et al., 2007).

O grande individualizador deste método de extração de P se dá por ele identificar as frações estimando-as em graus de disponibilidade, auxiliando no entendimento da dinâmica do P no solo. Além disso, obtêm-se com o método, conhecimentos aprofundados das formas orgânicas de P na qual o P extraído através do bicarbonato ( $\text{NaHCO}_3$ ), após a digestão do extrato, pode ser identificado como facilmente mineralizável e disponível às plantas e aos microrganismos e o P orgânico extraído por NaOH e o resultante do ultrassom estão física e quimicamente protegidos no solo. E ainda utiliza a RTA que reproduz de forma semelhante o processo de absorção de P-solução pelos vegetais *in situ* (Silva e Raij, 1999).

A figura 2 apresenta um esquema montado por Stewart e Sharpley (1987) mostrando as formas de P no solo e sua interação e dinâmica de modo que fosse possível associá-las às frações estimadas por Hedley et al. (1982).

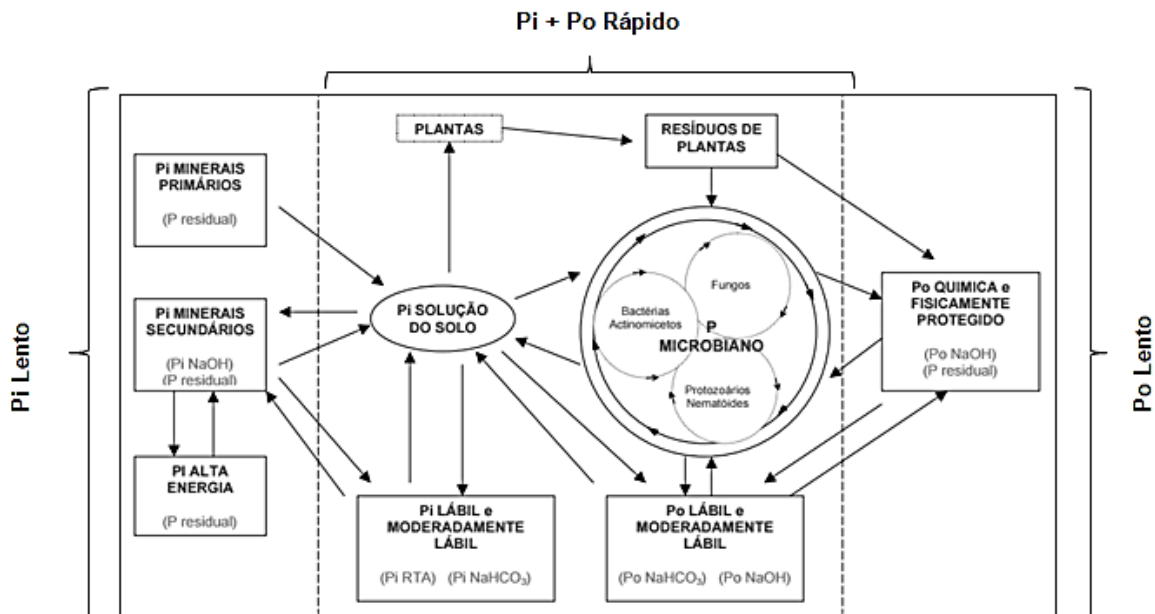


Figura 2. O ciclo do P no solo e sua correspondência com as frações estimadas pelo fracionamento de Hedley (1982). Adaptado de Stewart e Sharpley (1987).

Outro método existente é o método de Bowman (1989) que merece consideração sobre os métodos para extração de P do solo previamente estabelecidos devido à sua excelente recuperação do P total e a facilidade e rapidez com que é realizada além de sua precisão e acurácia. Consiste na solubilização das substâncias orgânicas através da adição de ácido e, posteriormente, aumentando o pH do meio pela adição de solução alcalina (Oliveira et al., 2014).

A posteriori, Bowman e Moir propuseram, em 1993, a adição do EDTA ao extrator NaOH. Segundo autores, os métodos existentes até então que avaliavam a fração de P orgânico, em sua maioria, eram tendenciosos e não reprodutíveis. Com a combinação proposta, fácil e reprodutiva, acreditou-se que a solução básica de NaOH poderia ter o papel de solubilizar o P orgânico associado à matéria orgânica do solo e o EDTA funcionaria como um quelante de metais catiônicos, aumentando a eficiência da extração (Bowman e Moir, 1993).

A fim de aprimorar os conhecimentos sobre o P no solo vem sendo utilizada a técnica conhecida como ressonância magnética nuclear do P (<sup>31</sup>P-RMN). Gerenciar o P do solo requer informações detalhadas sobre as concentrações e a especiação de P, onde as formas químicas de P poderão determinar sua

biodisponibilidade e reatividade ambiental (Cade-Menum e Liu, 2014; Condrón et al., 2005).

### 2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ( $^{31}\text{P}$ -RMN)

O fósforo é essencial para todos os organismos e, em solos brasileiros, é de conhecimento sua baixa disponibilidade (Novais et al., 2007). O manejo do P no solo requer informações sobre as concentrações e especiação de P (Cade-Menum e Liu, 2014), pois são as formas de P que definirão sua biodisponibilidade e reatividade ambiental (Condrón et al., 2005).

Para que seja possível conhecer a especiação identificando as formas específicas de P no solo é necessário o uso de extrações das formas individuais ou a utilização de técnicas de espectroscopia avançada, como a  $^{31}\text{P}$ -RMN (Cade-Menum e Liu, 2014).

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de P ( $^{31}\text{P}$ -RMN) progrediu o conhecimento referente ao P orgânico em solos, superiores a qualquer outra técnica (Cade-Menum, 2005).

Diversos fatores influenciam na qualidade do espectro ao que se refere à técnica da  $^{31}\text{P}$ -RMN, como a preparação e tratamento da amostra (extratores utilizados), tempo de espera para leitura (possibilidade do P orgânico sofrer hidrólise), tempo de aquisição, ângulo do pulso, frequência das ondas de rádio (Cade-Menum e Liu, 2014). Para que se tenham informações mais precisas com a técnica da  $^{31}\text{P}$ -RMN é necessário que se atente para padrões que obtenham boas resoluções de espectros (nitidez) e uma alta relação de sinal/ruído (altura do pico relativa ao ruído de linha de base) (Cade-Menum, 2005).

A preparação da amostra para leitura deve ser realizada com um extrator que consiga acessar complexos de P inorgânico e a maior porcentagem de P orgânico presente na amostra, visando à minimização da degradação das formas de P. Para maximizar a eficiência da utilização do método faz-se uso de um extrator que consiga complexar íons paramagnéticos de ferro e manganês, melhorando os espectros identificados (Cade-Menum e Liu, 2014).

Ainda não se tem uma total padronização do extrator utilizado entre os pesquisadores, mas desde 2005, grande parte fez uso de extrator NaOH+EDTA

(0,25 mol L<sup>-1</sup> NaOH mais 0,05 mol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>EDTA) para extração do P em <sup>31</sup>P-RMN (Cade-Menum e Liu, 2014), onde o etilenodiaminotetracético (EDTA) tem a função complexadora de íons paramagnéticos, reduzindo o alargamento da linha e melhorando a qualidade espectral da leitura da amostra na <sup>31</sup>P-RMN (Newman e Tate, 1982, Cade-Menum, 2005).

A leitura da amostra pode ser realizada com a amostra no estado líquido ou sólido. A amostra no estado sólido tem a vantagem de necessitar de pouca preparação e uma baixa quantidade da amostra, porém, as concentrações naturais de P na amostra são baixas, assim como a resolução do espectro (Cade-Menum, 2005). Ressaltando que mesmo com concentrações baixas de P em amostras de solo, considera-se eficiente o estudo do P por <sup>31</sup>P-RMN, pois há presença do núcleo de <sup>31</sup>P com número de spin  $I = 1/2$ , que é encontrado com 100% de abundância natural (Bruce e Lee, 2004).

A anisotropia magnética que afeta o deslocamento químico é o responsável pela baixa resolução espectral da amostra sólida. Os núcleos apresentam rápido movimento quando em solução e apresentam um valor único de blindagem. Já para as amostras sólidas, os núcleos não se movimentam e assim, a blindagem é desuniforme, ficando dependente das posições do núcleo da amostra (Cade-Menum, 2005).

Assim, normalmente, a análise de <sup>31</sup>P-RMN é realizada em amostras de solo em extratos alcalinos líquidos utilizando soluções de NaOH, facilitando a extração do P orgânico (Newman e Tate, 1980). Os ruídos no fundo do espectro pela interferência de íons de ferro e manganês (Rheinheimer et al., 2002) são minimizados pela ação do EDTA e é o diâmetro da sonda, que determinará o volume da amostra.

Os tempos de extração do P devem sempre ser os menores possíveis para evitar que o P orgânico do solo sofra hidrólise (Turner e Condrón, 2003). Como um pré-tratamento para evitar que a hidrólise ocorra, recomenda-se que seja feita a liofilização (Rheinheimer et al., 2002) do material e, quando levadas para análise, o mesmo material necessita ser redissolvido com a solução usada como extrator para <sup>31</sup>P-RMN (Cade-Menum, 2005). Contudo, para evitar que a amostra se torne viscosa, prejudicando o alargamento da linha, utiliza-se junto à ressuspensão o óxido de deutério (D<sub>2</sub>O), usado para bloquear o sinal do espectrômetro (Cade-Menum et al., 2002).

Quanto ao equipamento de RMN, para as leituras de P são utilizados ímãs supercondutores. A intensidade de campo de um ímã está diretamente relacionada com a relação sinal/ruído, assim, quanto maior o campo magnético do ímã melhor será o sinal/ruído da leitura amostra (Cade-Menun, 2005).

O espaço entre os picos observados no espectro é variável em função da janela espectral (Para o  $^{31}\text{P}$  esses valores variam de -25 a 25 ppm). O tempo de aquisição mais utilizado para amostras de solos  $^{31}\text{P}$ -RMN variam de 0,17 s para 8000s dados apontam (Shand et al., 1999) com um tempo de relaxamento de 1.31s e 32.000 pontos de dados e os ângulos de pulso mais comumente utilizados estão entre 30 e 90° (Cade-Menun, 2005).

Quanto ao deslocamento químico ( $\delta$ ) para o  $^{31}\text{P}$  (Figura 3), o padrão é a ressonância do P no ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) (aq a 85%). A vantagem desta escala é a dos deslocamentos serem independentes do campo aplicado, ou seja, independentes do espectrômetro RMN utilizado) (Bruice e Lee, 2004).

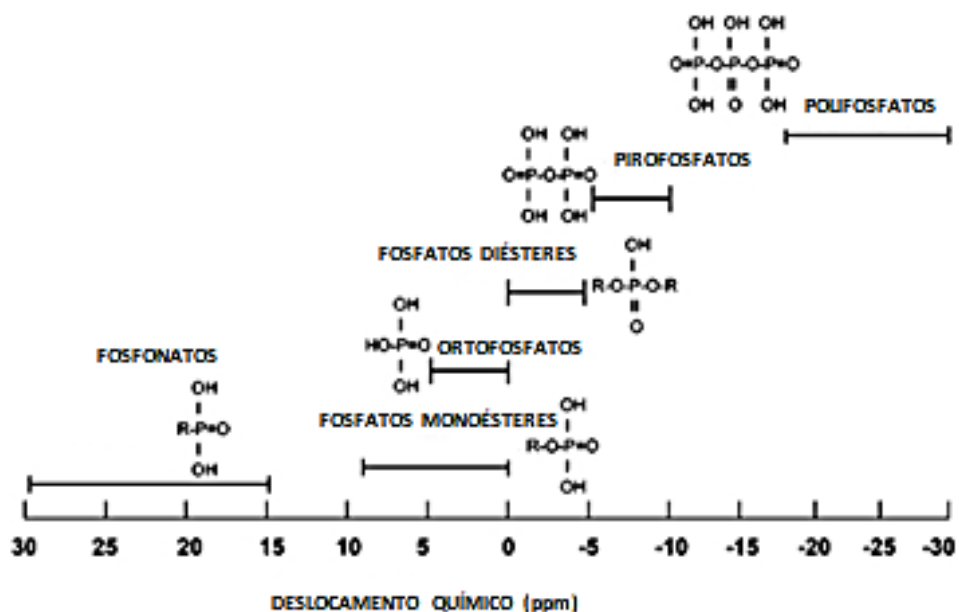


Figura 3. Deslocamento químico típico para  $^{31}\text{P}$  em compostos orgânicos. Adaptado de Sannigrahi e Ingall (2005)

A utilização da  $^{31}\text{P}$ -RMN possibilita a investigação da natureza química do P, levando a um maior conhecimento sobre as transformações dos compostos fosfatados minerais e orgânicos presentes em vários ambientes (Makarov et al., 2002). Com isso foi possível verificar que entre as diversas formas de P nos solos têm-se como destaque os fosfatos orgânicos (ortofosfatos de monoésteres,



diésteres e fosfonatos) e inorgânicos (ortofosfatos, pirofosfatos e polifosfatos) (Cade-Menun e Preston, 1996).

#### 2.4 $^{31}\text{P}$ - RMN: Espécies de fósforo no solo

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de fósforo possibilita o conhecimento das espécies de P do solo, especialmente as formas orgânicas (Cade-Menun e Liu, 2014). Como mencionado, no solo, as espécies de maiores estudos com a  $^{31}\text{P}$ - RMN são as formas orgânicas que compreendem as espécies de monoésteres, diésteres, fosfonatos e polifosfatos (ligação de P e C) e as formas inorgânicas divididas em ortofosfato, pirofosfato e polifosfatos (Cade-Menun e Liu, 2014).

Segundo Condrón et al. (2005), na maioria dos solos, o P orgânico pode compreender 30-65% do P total. Os ortofosfatos monoésteres e diésteres constituem o P orgânico da maioria dos solos agrícolas, enquanto que os fosfonatos e polifosfatos são encontrados em pequenas quantidades.

Os monoésteres, particularmente fosfatos de inositol, são constituintes da maioria do P orgânico do solo, pois são relativamente recalcitrantes no ambiente, são estáveis e menos suscetíveis à mineralização (Condrón et al., 1990; Turner et al., 2002).

Diferentemente, os diésteres (ácidos nucleicos - DNA e RNA, fosfolipídios e ácidos teicoico) são considerados uma forma lábil e facilmente mineralizável de P orgânico (Makarov et al., 2002). Eles representam aproximadamente <10% de P orgânico do solo (Turner et al., 2005). Eles são atribuídos ao *pool* lábil de P orgânico possivelmente pela sua menor energia de adsorção aos colóides do solo.

Os diésteres, fosfonatos e polifosfatos são advindos de células microbianas e detritos vegetais, sendo então considerados indicadores do ciclo P-microbiano quando encontrados no solo (Turner et al., 2003). Já os fosfatos associados a compostos húmicos através de pontes metálicas são considerados P inorgânicos. Estes são denominados de ortofosfatos e pirofosfatos (Turner et al., 2005).

Os compostos dos espectros de  $^{31}\text{P}$ -RMN são discriminados pelo deslocamento químico, possibilitando identificar os compostos fosfatados orgânicos e inorgânicos.

Cade-Menum (2005) escreveu uma biblioteca de picos de  $^{31}\text{P}$ -RMN, o que facilitou a identificação das espécies. Através dos desvios químicos identificados nas amostras determinamos as espécies.

É possível observar na figura 4 os compostos orgânicos e inorgânicos de P situados nos desvios químicos numa faixa de 25 a -25 ppm. Os fosfatos inorgânicos podem ser identificados como ortofostato (aproximadamente 6 ppm), pirofosfato (-4 a -5 ppm) e fosfonatos (7 a 20 ppm). Já os compostos orgânicos identificados como o grupo dos fosfatos monoésteres: hexafosfato de inositol, fosfato colina e aromáticos (3 a 6 ppm), o grupo dos fosfatos diésteres: fosfolipídios e ácidos nucleicos, ácido teicoico e aromático (-1,2 a 2,5 ppm); o grupo fosfanatos (18,3 a 20,0 ppm) e o grupo dos polifosfatos (-5,0 a -20,0) (Rheinheimer, 2000; Cade-Menum, 2005; Cade-Menum e Liu, 2014) (tabela 1).

Tabela 1 - Desvios químicos de compostos de P.

Nome do composto	Desvio químico (ppm)
Chiro-IHP	6,21
Ortofosfato	6,00
Myo-IHP	5,49
D-Glicose-6-fosfato	5,25
$\alpha$ -Glicerofosfato	4,89
D-Frutose-6-fosfato	4,62
Frutose-1-fosfato	4,53
$\beta$ -Glicerofosfato	4,53
Neo-IHP	4,26
Scyllo-IHP	3,71
DNA	-0,73; -0,92
Pirofosfato	-4,16

Adaptado de Cade-Menum (2015).

O ortofosfato pode ser ajustado como pico de referência (6 ppm), pois é observado em quase todos os espectros de  $^{31}\text{P}$ -RMN, evitando a obrigação de um composto de referência de desvio químico (Cade-Menum, 2015).

Alguns fosfonatos ocorrem na natureza tanto em formas naturais quanto em formas sintéticas (glifosato-usado no herbicida *Roundup*) (Quinn et al., 2007).

Dentre a gama de ortofosfatos monoésteres podem ser identificados compostos como glicose 1-fosfato (o monoéster mais facilmente identificado) (Turner et al., 2013), fosfatos de açúcar, fosfatos de inositol (myo-IHP, neo-IHP, chiro-IHP, scyllo-IHP), compostos de fosfato metabólico, além de espectros  $\alpha$ - e  $\beta$ -glicerofosfatos. Os  $\alpha$ - e  $\beta$ -glicerofosfatos obtidos nos espectros de  $^{31}\text{P}$ -RMN são produtos de degradação dos ortofosfatos diésteres (Cade-Menun, 2015).

Na Figura 4 está exposta a identificação dos compostos de P presentes no solo por um registro gráfico das frequências dos picos de absorção com seus espectros. Há no exemplo da figura uma diversidade das espécies de P no solo incluindo fosfonato, ortofosfato, ortofosfato monoéster, ortofosfato diéster (DNA e fosfolipídios), pirofosfato e polifosfato. A inserção mostra a região de ortofosfato de monoésteres expandida, indicando os picos e a estrutura para o ácido fítico.

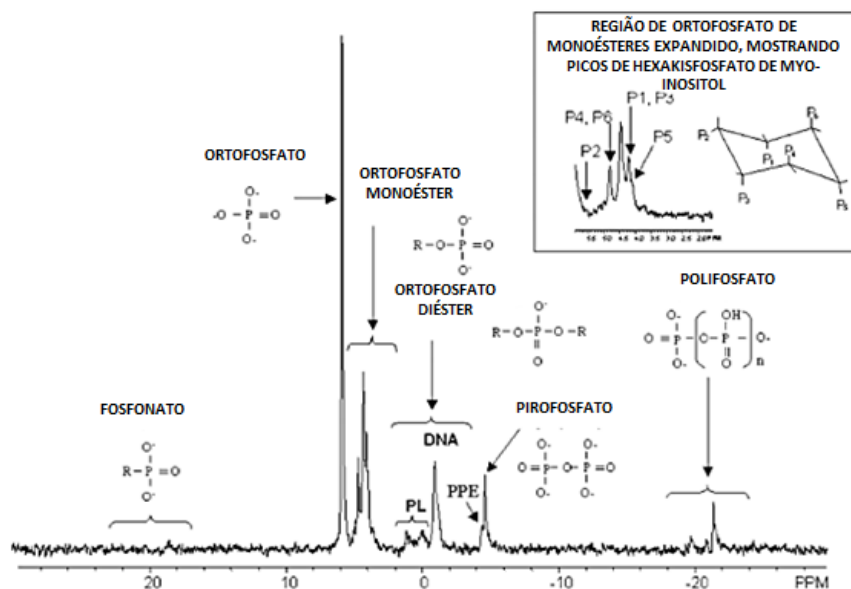


Figura 4. Espectro de ressonância magnética nuclear ( $^{31}\text{P}$ -RMN) de uma amostra de solo extraída com  $\text{NaOH}+\text{Na}_2\text{EDTA}$ , produzida num espectrômetro de 500 MHz equipado com uma sonda de banda larga de 10 mm, utilizando um impulso de  $90^\circ$ , com tempo de aquisição 0,68 s, e relaxação de 4,32 s,  $25^\circ\text{C}$  temperatura e alargamento da linha de 7 Hz. (Cade-Menun, 2005).

### 3. TRABALHOS

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DO FÓSFORO DO SOLO POR ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR $^{31}\text{P}$ EM SÍTIOS DE EUCALIPTO NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL

##### RESUMO

O eucalipto é a principal espécie florestal cultivada em solos brasileiros com resistência às características do clima tropical. Um grande limitador para o desenvolvimento da cultura é a deficiência natural de fósforo (P) causada pela alta fixação do nutriente ao solo e pela ação do intemperismo. O objetivo deste trabalho foi caracterizar as formas de P disponibilizadas e suas relações com os atributos do solo e identificar a diversidade de compostos químicos de P, bem como as suas concentrações e estabelecer as suas relações com as características do solo. As amostras de solo de 10 sítios de eucalipto foram coletadas na camada 0-20 cm, nas entrelinhas de plantio nas parcelas, em solos com diferentes características edafoclimáticas e de manejo. Para extração do P e identificação das espécies foi utilizada a extração de NaOH+EDTA e espectroscopia de ressonância magnética nuclear- $^{31}\text{P}$  ( $^{31}\text{P}$ -RMN). Houve dissimilaridade entre os sítios com variações nos compartimentos das espécies de P identificadas. A espécie que se demonstrou

preponderante entre as formas de P inorgânico total extraído com NaOH+EDTA em  $^{31}\text{P}$ -RMN foi o ortofosfato, variando de 49 a 318  $\text{mg kg}^{-1}$  (média  $102 \pm 25,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e representou 95 a 99% (média  $98 \pm 0,3\%$ ) de P inorgânico total. Para o pirofosfato as concentrações variaram de 1 a 9  $\text{mg kg}^{-1}$  (média  $3 \pm 0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ ) representando 1 a 5% (média de  $2 \pm 0,3\%$ ) de Pi extraível com NaOH+EDTA em  $^{31}\text{P}$ -RMN. O P orgânico foi representado pelas formas de P-monoéster e P-diéster. Estes valores variaram de 16 a 88  $\text{mg kg}^{-1}$  (média  $48 \pm 6,3 \text{ mg kg}^{-1}$ ), com uma porcentagem de 6 a 20% (média  $12 \pm 1,3\%$ ) do P total do solo. A forma mais preponderante de P orgânico encontrado foi o monoéster, sendo observado concentrações variando de 15 a 80  $\text{mg kg}^{-1}$  (média  $44 \pm 5,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e representou 87 a 95% (média de  $92 \pm 0,8\%$ ) do P orgânico total extraído com NaOH+EDTA em  $^{31}\text{P}$ -RMN. Já o P-diéster foi encontrado na forma de DNA em todos os sítios e variou de 1,0 a 8  $\text{mg kg}^{-1}$  (média  $4 \pm 0,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ). O P-diéster representou 5 a 13% do Po total (média de  $8 \pm 0,8 \%$ ). Inicialmente, pelos teores das espécies de P inorgânicos encontrados, o sistema consegue se manter, porém a longo prazo é necessária uma manutenção deste nutriente visto que os teores das espécies de P orgânicos encontrados não são capazes de suprir o sistema. Assim, fica evidente a importância da técnica de  $^{31}\text{P}$ -RMN, permitindo-nos conhecer os compostos de P e as formas de labilidade em que se apresentam levando a uma acurácia e precisão do conhecimento a resposta da cultura ao suprimento do sistema.

## INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma grande área florestal, estando entre os maiores produtores do mundo em florestas plantadas (FAO, 2010). De acordo com dados do IBGE (2016), o Brasil possui uma área de 10.023.076 ha de florestas plantadas onde o eucalipto representa 75% (7.543.707 ha) da área total. Em condições de solos tropicais o ambiente é favorável à cultura devido à tolerância à acidez, toxicidade por Al e deficiência de bases no solo, além do rápido estabelecimento inicial e expansão do sistema radicular (Costa et al., 2016). Apesar das condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da cultura, a qualidade nutricional dos solos brasileiros é um problema a ser manejado. Dentre os macronutrientes, o P é

o segundo mais limitante para o desenvolvimento das plantas, vindo atrás apenas do nitrogênio (Schachtman et al., 1998). Considerado um dos elementos essenciais às plantas, o P é importante para a qualidade da cultura, sendo componente de biomoléculas como ácidos nucleicos DNA (herança genética), RNA (síntese de proteínas) e ATP (armazenamento de energia nas células) (Schachtman et al., 1998; Moreira e Siqueira, 2006; Brady e Weil, 2013).

A demanda da cultura do eucalipto pelo P durante oito anos é baixa, quando comparada a outras culturas, porém, apesar de demandado em menor quantidade, é o nutriente com maior poder limitador à produtividade das florestas tropicais (Turner e Engelbrecht, 2011) e também para os plantios de eucalipto no Brasil (Barros et al., 2014).

Por ser o eucalipto uma cultura de baixo custo econômico, as plantações comerciais utilizam amplamente os fertilizantes fosfatados (Barros et al., 1999) e o uso indiscriminado de fertilizantes gera uma problemática que tem se agravado no Brasil, pois os solos são de baixa fertilidade natural, o que exige grandes doses de fertilizantes fosfatados. Como forma de amenizar a deficiência nutricional dos solos brasileiros, os resíduos gerados pelos sítios de eucalipto possuem um potencial de fonte, podendo suprir as necessidades de P, consideravelmente, levando em conta a ciclagem desse nutriente (Costa et al., 2016).

Além da pobreza nutricional natural dos solos brasileiros, o P é um nutriente que pode comparecer no solo não totalmente disponível para a planta, se apresentando na forma insolúvel à cultura. E as fontes solúveis aplicadas nas formas mineral ou orgânica podem ser fixadas, o que as torna insolúveis (Brady e Weil, 2013). O P do solo pode ser precipitado pelas formas iônicas de Fe, Al e Ca ou ainda pela adsorção específica nos óxidos e hidróxidos de Fe e Al, reações estas que se traduzem em indisponibilidade deste elemento para a absorção pelas plantas, limitando o rendimento das culturas (Novais et al., 2007).

No solo, encontramos o P presente na forma inorgânica (solúvel) e orgânica. O P orgânico é formado por íons fosfatos, ligados aos compostos orgânicos e sua disponibilidade está diretamente relacionada à suscetibilidade de decomposição do radical orgânico a que o fosfato está ligado (Gatiboni et al., 2008). A compreensão das transformações do P no solo torna-se um instrumento para a adoção de manejo eficiente em sistemas produtivos tropicais que aumente a disponibilidade de P às plantas e microrganismos via ciclagem de formas orgânicas de P, em especial o

aporte de resíduos vegetais que tem papel fundamental na manutenção de estoques dos nutrientes em solos tropicais de baixa fertilidade natural (Fontes et al., 2014).

O manejo do P do solo para prevenir as deficiências desse nutriente à cultura requer uma compreensão completa de sua especiação, pois isso determinará a sua mobilidade e, conseqüentemente, sua disponibilidade. (Negassa e Leinweber, 2009).

O fracionamento sequencial proposto por Hedley (1982) é comumente usado para fornecer informações sobre a solubilidade relativa de diferentes *pools* de P em solos (Condrón e Newman, 2011; Yang e Post, 2011). No entanto, o fracionamento sequencial não possibilita atribuir significância ambiental às frações de P do solo (Turner e Leytem, 2004), pois este é definido pela escolha e ordem dos extratores e não pode determinar espécies de P específicas (Negassa e Leinweber, 2009) fornecendo apenas as informações sobre a disponibilidade de P nas frações extraídas.

A fim de buscar informações mais detalhadas sobre as frações de P, introduziu-se o método da ressonância magnética nuclear de  $^{31}\text{P}$  que permite inferir os *pools* e a natureza química do P orgânico em solos intemperizados. Com isso, conhecimentos mais detalhados sobre a especiação do P solo ao nível molecular são obtidos (Kizewski et al., 2011). A espectroscopia de  $^{31}\text{P}$ -RMN permite que o P seja concentrado em amostras antes da análise, oferece baixos limites de detecção e é mais adequado para a caracterização de P orgânico (Liu et al., 2013).

Acredita-se que através das espécies de P orgânicas presentes nos sítios de Eucalipto, através da ciclagem do nutriente, seus teores sejam suficientes para aumentar os *inputs* de P inorgânico no solo e suprir a demanda nutricional da cultura. O presente trabalho teve como objetivo (1) identificar as formas de P orgânicas e inorgânicas no solo e avaliar suas relações com alguns atributos do solo e (2) identificar a diversidade de espécies químicas de P, bem como as suas concentrações e estabelecer as suas relações com as características do solo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Descrição dos Sítios

O trabalho foi realizado em sistemas florestais com eucalipto (*E. grandis* e *E. urophylla*, *E. grandis* (Parb.), *E. grandis* (G-232), *E. grandis* (Suz.)) em 10 sítios de diferentes condições edafoclimáticas e de manejo, distribuídos em oito municípios do estado de São Paulo (Tabela 1). As idades dos sítios variaram de 1,4 a 11,0 anos com um espaçamento de 3,0 x 2,0, exceto para os sítios CB1 com espaçamento de 3,0 x 3,0 e o sítio PA com espaçamento de 3,0 x 2,5 m. O clima nos municípios onde foram coletados os solos é considerado Cwa, segundo a classificação de Köppen, que configura um clima temperado úmido com inverno seco e verão quente, exceto para o sítio AG que foi caracterizado como Aw sendo o clima tropical com estação seca de inverno e temperaturas médias no mês mais frio do ano superior a 18°C. Com temperatura média entre os sítios de 20,5°C, variando de 19,9 a 21,6°C.

Na tabela (tabela 2) encontra-se apresentado o histórico de manejo da área dos sítios estudados. O solo coletado em áreas experimentais, onde são realizados diversos ensaios de fertilização, assim, foram selecionadas parcelas com e sem fertilização de P no plantio, porém, para efeito de estudo todas as áreas foram consideradas sem adubação à base de P, visto que a amostragem de solo foi feita nas entrelinhas de plantio, não sofrendo influência da adubação em sulco de plantio. Em todos os sítios foram coletadas dez amostras simples de solo em cada parcela experimental (3 parcelas por sítio) na profundidade de 0–20 cm em um transecto diagonal à área útil das parcelas, nas entrelinhas de plantio, em 2010. As amostras simples deram origem a uma amostra composta por parcela, que foi seca ao ar, homogeneizada, destorroada e passada em peneira de 2 mm. Estas amostras foram usadas para as caracterizações físicas e químicas e determinação das frações de P.



Tabela 1 - Composição dos arranjos experimentais, com área útil de parcela, plantas por parcela, precipitação (PP) médias anuais, e tipo e textura do solo do povoamento de diferentes sítios de eucalipto.

Sítios*	SMA <sup>(1)</sup>	VOT <sup>(2)</sup>	CB3 <sup>(3)</sup>	CB2 <sup>(4)</sup>	CB1 <sup>(5)</sup>	PA <sup>(6)</sup>	BOT <sup>(7)</sup>	ITA <sup>(8)</sup>	ANG <sup>(9)</sup>	AG <sup>(10)</sup>
Área útil (m <sup>2</sup> )	216	96	144	144	360	180	144	144	216	144
Plantas por parcela	36	16	24	24	40	24	24	24	36	24
PP (mm)	1174	1287	1210	1210	1210	1249	1302	1308	1262	1170
Solo <sup>(11)</sup>	LVA <sub>d</sub>	PVA <sub>d</sub>	CXB <sub>d</sub>	LV <sub>d</sub>	LA <sub>d</sub>	LVA <sub>d</sub>	RQ	LVA <sub>d</sub>	RQ	LV <sub>d</sub>
Textura	muito argilosa	muito argilosa	média	muito argilosa	argilosa	argilosa	arenosa	média	arenosa	média

\*Sítios: (1) São Miguel Arcanjo; (2) Votorantim; (3) Capão Bonito 3; (4) Capão Bonito 2; (5) Capão Bonito 1; (6) Paraibuna; (7) Botucatu; (8) Itatinga; (9) Angatuba; (10) Agudos. (11) Conforme EMBRAPA (1999): LV<sub>d</sub> = Latossolo Vermelho distrófico, RQ = Neossolo Quartzarênico, LA<sub>d</sub> = Latossolo Amarelo distrófico, CXB<sub>d</sub> = Cambissolo Háplico distrófico, LVA<sub>d</sub> = Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, PVA<sub>d</sub> = Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico. (Adaptado de Costa, 2016).

Tabela 2- Histórico de manejo dos sítios de eucalipto.

Sítios	Adubações	Adubação Complementar no Plantio	Adubação de Cobertura
SMA <sup>(1)</sup>	Cultivo seguinte à cultura da batata	SA	SA
VOT <sup>(2)</sup>	183 kg ha <sup>-1</sup> (Formulado NPK: 04-28-06)	10% de Ca, 4% de S, 0,3% de Cu e 0,7% de Zn	3 meses (~41 kg de K <sub>2</sub> O e 0,3% de B e 1% de Zn) e 9 meses (~126 kg de K <sub>2</sub> O e 1,5% de B)
CB3 <sup>(3)</sup>	183 kg ha <sup>-1</sup> (Formulado NPK: 04-28-06)	10% de Ca, 4% de S, 0,3% de Cu e 0,7% de Zn	3 meses (~40 kg de K <sub>2</sub> O e 1,5% de B), 6 meses (~75 kg de K <sub>2</sub> O, 0,5% de B e 1% de Zn) e 12 meses (~60 kg de K <sub>2</sub> O, 0,7% de B e 1% de Zn)
CB2 <sup>(4)</sup>	183 kg ha <sup>-1</sup> (Formulado NPK: 04-28-06)	10% de Ca, 4% de S, 0,3% de Cu e 0,7% de Zn	3 meses (~41 kg de K <sub>2</sub> O e 1,5% de B), 6 meses (~36 kg de K <sub>2</sub> O, 0,5% de B e 1% de Zn) e 12 meses (~35 kg de K <sub>2</sub> O, 0,7% de B e 1% de Zn);
CB1 <sup>(5)</sup>	190 kg ha <sup>-1</sup> (Formulado NPK: 04-28-06)	0,3% B	3 e 9 meses (8 kg ha <sup>-1</sup> de B)
PA <sup>(6)</sup>	120 kg ha <sup>-1</sup> (Formulado NPK: 04-28-06)	2,4% de Mg	SA
BOT <sup>(7)</sup>	18 kg ha <sup>-1</sup> (N e K <sub>2</sub> O)	13% S e 10% B	SA
ITA <sup>(8)</sup>	SA <sup>(10)</sup>	SA	SA
ANG <sup>(9)</sup>	AS	SA	SA
AG <sup>(10)</sup>	15 kg ha <sup>-1</sup> (N e K <sub>2</sub> O)	13% S e 10% B	SA

\*Sítios: <sup>(1)</sup> São Miguel Arcanjo; <sup>(2)</sup> Votorantim; <sup>(3)</sup> Capão Bonito 3; <sup>(4)</sup> Capão Bonito 2; <sup>(5)</sup> Capão Bonito 1; <sup>(6)</sup> Paraibuna; <sup>(7)</sup> Botucatu; <sup>(8)</sup> Itatinga; <sup>(9)</sup> Angatuba; <sup>(10)</sup> Agudos; <sup>(SA)</sup> Sem Adubação.

## Caracterização física e química do solo

A caracterização química (Raij et al., 2001) e física (Embrapa, 1999) dos solos é mostrada na tabela 3. Verifica-se que os sítios apresentaram grande variabilidade nos atributos físicos e químicos. Os solos foram caracterizados como muito ácidos; os teores de K e Ca são considerados inadequados para a maioria dos sítios e os teores de Mg adequados para todos os sítios, para uma produtividade de 50 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, com base nos níveis críticos para eucalipto (Barros e Novais, 1999). O baixo nível de bases (Ca e K) e a elevada acidez potencial (H+Al) refletiram em níveis de saturação por bases (V%) abaixo do ideal (30%), para a maioria dos sítios, apesar da saturação por alumínio (m) estar dentro do máximo tolerável para o eucalipto (45%), para a maioria dos sítios (Alvarez e Ribeiro, 1999).

Tabela 3 – Caracterização física e química do solo, em povoamento de diferentes sítios de eucalipto.

Sítios	Argila	C	P <sub>sulf</sub> <sup>(11)</sup>	P <sup>(12)</sup>	pH	K	Ca	Mg	T	m	V
	g kg <sup>-1</sup>	g dm <sup>-3</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-3</sup>	CaCl <sub>2</sub>	----- mmolc dm <sup>-3</sup> -----			---%---		
SMA <sup>(1)</sup>	651	25,5	468	26,69	4,9	3,0	41,8	14,8	100,1	2,1	40,0
VOT <sup>(2)</sup>	670	29,0	430	2,20	4,0	5,0	5,0	2,1	125,6	58,4	9,0
CB3 <sup>(3)</sup>	272	12,8	420	3,47	4,1	1,4	9,9	9,5	102,5	43,9	21,0
CB2 <sup>(4)</sup>	653	20,3	411	1,36	4,4	2,7	15,2	9,3	107,3	31,8	25,0
CB1 <sup>(5)</sup>	478	16,2	416	1,38	3,9	1,2	1,7	2,3	94,9	78,2	5,0
PA <sup>(6)</sup>	365	12,2	419	2,13	4,1	1,9	6,8	4,2	58,0	33,8	22,0
BOT <sup>(7)</sup>	100	8,7	276	8,33	4,0	0,4	4,0	5,0	49,5	36,9	25,0
ITA <sup>(8)</sup>	193	11,0	383	2,38	2,6	0,9	2,1	2,4	65,6	67,8	8,0
ANG <sup>(9)</sup>	100	10,4	300	8,46	4,0	0,6	5,0	2,5	47,0	44,5	17,0
AG <sup>(10)</sup>	167	12,2	404	3,98	3,9	4,8	4,8	2,4	70,7	52,2	17,0

\*Sítios: <sup>(1)</sup> São Miguel Arcanjo; <sup>(2)</sup> Votorantim; <sup>(3)</sup> Capão Bonito 3; <sup>(4)</sup> Capão Bonito 2; <sup>(5)</sup> Capão Bonito 1; <sup>(6)</sup> Paraibuna; <sup>(7)</sup> Botucatu; <sup>(8)</sup> Itatinga; <sup>(9)</sup> Angatuba; <sup>(10)</sup> Agudos; P<sub>sulf</sub><sup>11</sup> Fósforo por digestão sulfúrica; P<sup>12</sup> Mehlich<sup>-1</sup>; m - Saturação por alumínio; T - Capacidade de troca de cátions a pH 7; V - Saturação por bases. (Adaptado de Costa, 2016).

## Métodos de análise de P no solo

### Procedimento de extração NaOH+Na<sub>2</sub>EDTA e solução de <sup>31</sup>P-RMN

Foram utilizadas nove repetições de laboratório com 1,0 g de solo (0-20 cm) onde foi adicionada 10 mL de solução de 0,25 M NaOH + 50 mM Na<sub>2</sub>EDTA e agitadas “*end-over-end*” (33 rpm) por 10 h em tubos falcon. Em seguida, os tubos foram centrifugados por 15 minutos por 5000 rpm, e o sobrenadante foi filtrado em membranas de celulose de 45 µm. As amostras filtradas foram, então, transferidas para tubos falcon de 50 mL, congeladas e liofilizadas até completarem a secagem do extrato (~72 h). Nesse procedimento, a concentração de P orgânico extraído do solo não sofrem alterações com a mudança das condições do procedimento de extração, incluindo alterar o tempo de extração ou a razão de sólido/solução, pré-tratamento do solo, ou até mesmo alterando as concentrações de NaOH ou EDTA (Turner e Engelbrecht, 2011).

O extrato liofilizado (100 mg) foi dissolvido em 0,9 mL de solução aquosa de 0,25 M NaOH + 50 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 0,05 mL de uma solução de 2,5 µg mL<sup>-1</sup> de ácido metilenodifosfônico (MDPA) como padrão interno e, também, foi adicionado 0,1 mL de D<sub>2</sub>O (óxido de deutério) com agitação em “vortex” por 5 min. O extrato dissolvido passou por centrifugação e a solução resultante foi transferida para tubos de RMN de 5 mm e encaminhado para a análise. O espectro da solução de <sup>31</sup>P - RMN foi obtido utilizando um Bruker Avance DRX 500 MHz 34 (Bruker, Alemanha), operando a 202,446 MHz para <sup>31</sup>P. As amostras foram analisadas utilizando um pulso de 6,0 µs a um ângulo de 30°. O tempo de relaxamento utilizado foi de 0,5 s com tempo de aquisição de 0,4 s (Aleixo, 2018). Os espectros foram obtidos com a sequência de desacoplamento de prótons. Aproximadamente 30.000 *scans* foram realizados para cada amostra. Os espectros foram plotados com alargamento de linha de 5 Hz e os desvios químicos dos sinais foram determinados em partes por milhão (δ ppm) em relação a um padrão externo de H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> a 85%. A concentração das espécies de P foi calculada através da multiplicação da contribuição relativa do P ao sinal de RMN total pela concentração de MDPA como referência interna e padrão de concentração (17.26 δ ppm). A participação relativa das formas de P foi obtida pela integração matemática da área sob os picos identificados, utilizando para isso o *Delta NMR Software* (Jeol Resonance Inc., Tokyo, JP). Os valores dos sinais dos compostos de P presente nas amostras foram atribuídos com base em literatura com extração via solução NaOH + Na<sub>2</sub>EDTA (matriz alcalina) em solos e foram interpretados como sugerido por Cade-Menun (2015).

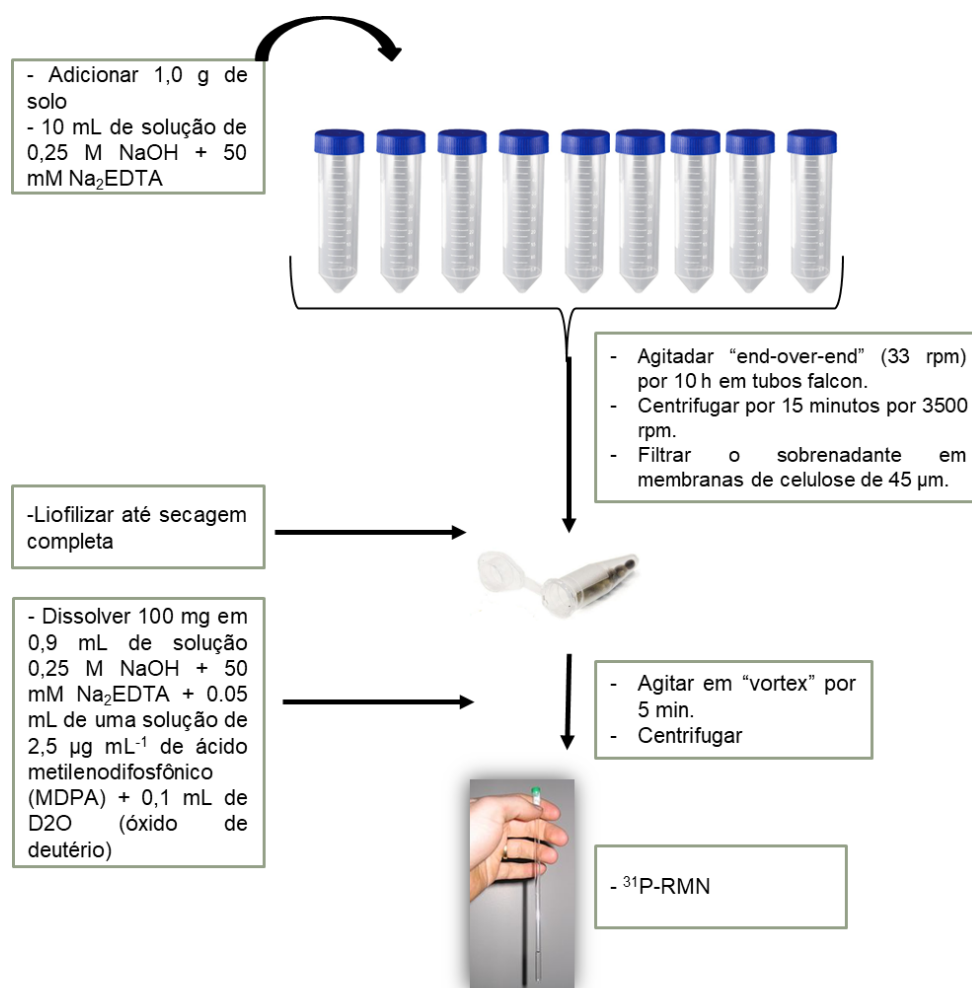


Figura 1. Esquema da técnica para análise de Ressonância Magnética Nuclear de P.

#### Determinação do P total do solo em extrato de NaOH+EDTA

Foram utilizadas nove repetições de laboratório com 1,0 g de solo onde foi adicionada 10 mL de solução de 0,25 M NaOH + 50 mM EDTA e levadas para agitação "end-over-end" (120rpm) por 10 h em tubos falcon. Em seguida, os tubos foram centrifugados por 15 minutos por 5000 rpm, e o sobrenadante foi filtrado em membranas de celulose de 45 µm. Para a determinação do P total foi realizada a digestão dos extratos alcalinos com persulfato de amônio + ácido sulfúrico em autoclave, para isso foram digeridos 1 mL do extrato com 10 mL de persulfato de amônio (7,5%) e 1 mL de ácido sulfúrico (1:1) em autoclave por 3 horas à 121°C e

103 Kpa. Após o resfriamento do extrato digerido o volume foi completado para 20 mL, e as frações de P total nesses extratos foram analisadas pelo método, após digestão pelo método de colorimetria de Dick e Tabatabai (1977).

## Análise estatística

Neste estudo, cada sítio de eucalipto foi considerado um tratamento de efeito fixo devido a diversas fontes de variação, tais como ordens de solo e práticas de manejo. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Lilliefors, Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. Os dados foram transformados por  $\log X + 1$  quando não distribuídos normalmente. Assim, os dados referentes às espécies de P do solo determinadas por espectroscopia de extração NaOH-EDTA e solução de  $^{31}\text{P}$ -RMN, frações obtidas pelo método de Hedley et al. (1982) e propriedades físicas e químicas dos solos, foram analisados por meio do coeficiente de correlação de Pearson através do programa R 3.2.1 (R Core Team, 2016) e o pacote "ISwR" (Dalgaard, 2008). Todas as áreas de processamento e pico foram calculadas pela integração usando o Delta RMN Software (Jeol Resonance Inc., Tokyo, JP). Para a construção do gráfico foi usado o programa SIGMAPLOT 12.0 (Systat Software inc.).

## RESULTADOS

### Identificação de compostos de P no solo por espectros de $^{31}\text{P}$ -RMN

Os espectros de ressonância magnética nuclear- $^{31}\text{P}$  de extratos de NaOH+EDTA em diferentes sítios de eucalipto do estado de São Paulo são vistos na figura 2 e 3. O P inorgânico foi detectado como ortofosfato (média  $\pm$  erro padrão,  $5,20 \pm 0,06 \delta$  ppm,  $n = 10$ ) e pirofosfato ( $-5,40 \pm 0,11 \delta$  ppm,  $n = 10$ ). Na região de P- monoéster, os espectros foram detectados em uma variação de 5,92 a 3,04  $\delta$  ppm,  $n = 10$ . Ainda sobre a região monoéster, detectamos sem especificar, picos a  $4,82 \pm 0,12 \delta$  ppm,  $n = 8$ ;  $4,61 \pm 0,24 \delta$  ppm,  $n=8$ ;  $4,34 \pm 0,06 \delta$  ppm,  $n = 8$ ;  $3,38 \delta$  ppm,  $n = 1$ ;  $3,28 \pm 0,07 \delta$  ppm,  $n = 10$ ;  $4,50 \pm 0,2 \delta$  ppm,  $n = 7$ );  $3,89 \pm 0,16 \delta$  ppm,  $n = 10$ ;  $3,04 \pm 0,0 \delta$  ppm,  $n = 2$ ;  $5,92 \delta$  ppm,  $n = 1$ ;  $4,48 \pm 0,06 \delta$  ppm,  $n = 2$ ;  $4,00 \pm$

0,18  $\delta$  ppm, n = 9; 3,51  $\pm$  0,09  $\delta$  ppm, n = 3; 3,24 ppm, n = 1; 3,46  $\pm$  0,04  $\delta$  ppm, n = 5; 3,79  $\delta$  ppm, n = 1; 4,15  $\pm$  0,33  $\delta$  ppm, n = 10; 4,75  $\pm$  0,28  $\delta$  ppm, n = 8; 3,68  $\pm$  0,09  $\delta$  ppm, n = 6. Na região P-diéster, apenas o DNA foi especificamente identificado (-0,77  $\pm$  0,01  $\delta$  ppm, n = 3 e -0,98  $\pm$  0,17  $\delta$  ppm, n = 10).

O P total extraído com NaOH+EDTA e determinado por espectroscopia de RMN em solução  $^{31}\text{P}$  ( $^{31}\text{P}_{\text{RMN}}$  total) variou de 80 a 375 mg kg $^{-1}$  (média  $\pm$  erro padrão, 152  $\pm$  28,9 mg kg $^{-1}$ ) e representou 22 a 80% (média 37  $\pm$  5,6 %) do P total do solo determinado pela digestão sulfúrica. Os valores determinados em extratos de NaOH+EDTA ( $\text{P}_{\text{NaOH+EDTA}}$  total) variaram de 137 a 701 mg kg $^{-1}$  (média 274  $\pm$  53,3 mg kg $^{-1}$ ). Foi quantificado através da extração em NaOH+EDTA por meio da espectroscopia de ressonância magnética- $^{31}\text{P}$  as concentrações de P inorgânico, dado pelo somatório das espécies de ortofosfato e pirofosfato, variando de 50 a 327 mg kg $^{-1}$ , representando uma porcentagem de 13 a 70%, de taxa de recuperação do P extraído por digestão sulfúrica (média de 25  $\pm$  5,3 %) (tabela 4).

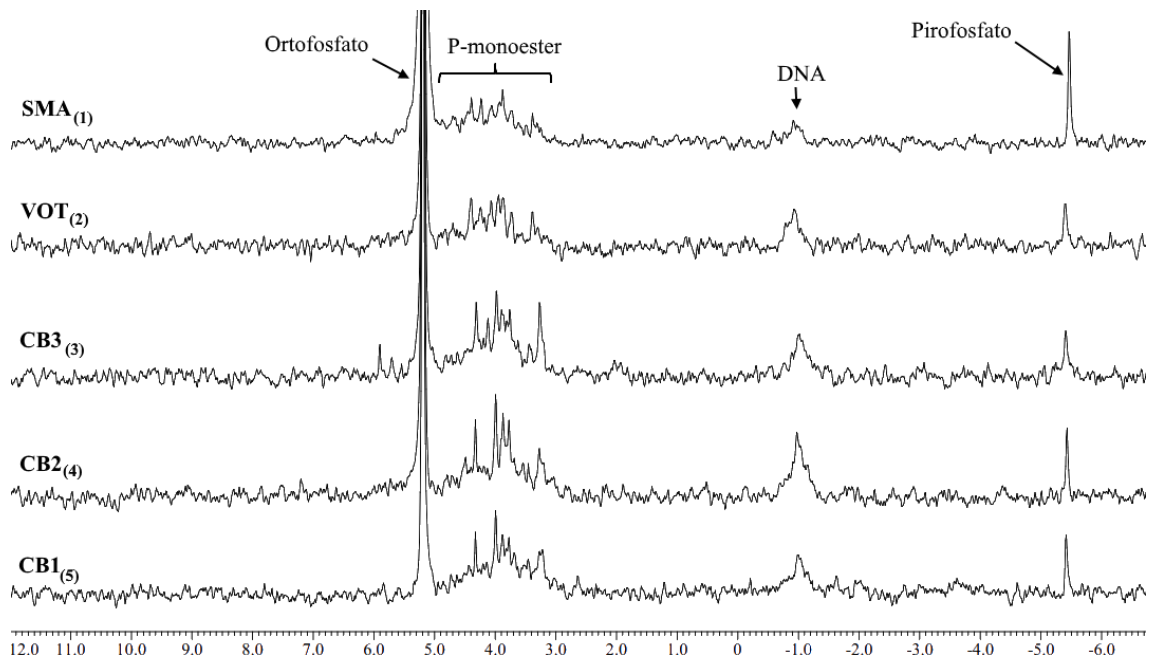


Figura 2 - Espectros de RMN -  $^{31}\text{P}$  de extratos de NaOH+EDTA em diferentes sítios de eucalipto do estado de São Paulo. Os espectros são dimensionados para os picos de ortofosfato. Os espectros foram plotados com o alargamento da linha de 5 Hz para os espectros principais. \*Sítios: (1) – São Miguel Arcanjo, (2) – Votorantim, (3) - Capão Bonito 3, (4) - Capão Bonito 2, (5) - Capão Bonito 1.



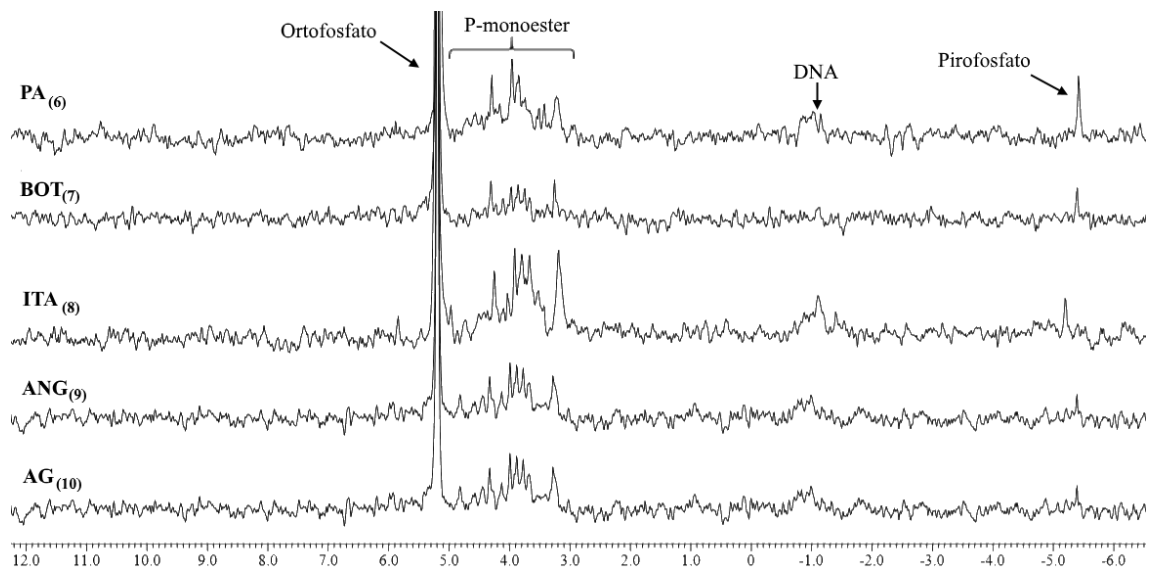


Figura 3 - Espectros de RMN -  $^{31}\text{P}$  de extratos de NaOH+EDTA em diferentes sítios de eucalipto do estado de São Paulo. Os espectros são dimensionados para os picos de ortofosfato. Os espectros foram plotados com o alargamento da linha de 5 Hz para os espectros principais. \*Sítios: (6) - Paraibuna, (7) – Botucatu, (8) - Itatinga, (9) - Angatuba, (10) – Agudos.

Tabela 4 - Frações de fósforo orgânico e inorgânico determinadas pela solução  $^{31}\text{P}$ -RMN em extratos de NaOH+EDTA de diferentes sítios de eucalipto do estado de São Paulo.

Sítios	Extração em NaOH-EDTA (mg kg <sup>-1</sup> )			
	P <sub>i</sub> total	P <sub>o</sub> total	$^{31}\text{P}_{\text{RMN}}$ total	P <sub>NaOH+EDTA</sub> total
SMA <sub>(1)</sub>	327 (70)	48 (10)	375 (80)	701 (150)
VOT <sub>(2)</sub>	148 (34)	88 (20)	236 (55)	411 (96)
CB3 <sub>(3)</sub>	91 (22)	65 (15)	156 (37)	248 (59)
CB2 <sub>(4)</sub>	99 (24)	55 (13)	154 (37)	264 (64)
CB1 <sub>(5)</sub>	74 (18)	49 (12)	123 (30)	230 (55)
PA <sub>(6)</sub>	83 (20)	43 (10)	125 (30)	220 (53)
BOT <sub>(7)</sub>	64 (23)	16 (6)	80 (29)	147 (53)
ITA <sub>(8)</sub>	50 (13)	51 (13)	101 (26)	194 (51)
ANG <sub>(9)</sub>	52 (17)	31 (10)	82 (28)	187 (62)
AG <sub>(10)</sub>	55 (14)	33 (8)	88 (22)	137 (34)

Os valores entre parênteses são proporções (%) do fósforo total do solo por digestão sulfúrica. Pi total: soma de P- ortofosfato e P -Pirofosfato. Po total: soma de P-monoéster e P-diéster.  $^{31}\text{P}_{\text{RMN}}$  total: soma de Pi total e Po total. P<sub>colorimetria</sub> total: P total extraível por NaOH-EDTA. Sítios representados pelas siglas: (1) São Miguel Arcanjo; (2) Votorantim; (3) Capão Bonito 3; (4) Capão Bonito 2; (5) Capão Bonito 1; (6) Paraibuna; (7) Botucatu; (8) Itatinga; (9) Angatuba; (10) Agudos.

A espécie que se demonstrou preponderante entre as formas de P inorgânico total extraído com NaOH+EDTA em  $^{31}\text{P}$ -RMN foi o ortofosfato, variando de 49 a 318 mg kg<sup>-1</sup> (média 102 ± 25,7 mg kg<sup>-1</sup>) e representou 95 a 99% (média 98 ± 0,3%) de Pi (Tabela 5). Para o pirofosfato, as concentrações variaram de 1 a 9 mg kg<sup>-1</sup> (média 3 ± 0,8 mg kg<sup>-1</sup>) representando 1 a 5% (média de 2 ± 0,3%) de Pi extraível com NaOH+EDTA em  $^{31}\text{P}$ -RMN (Tabela 5).

O P orgânico extraído com NaOH+EDTA e determinado pela  $^{31}\text{P}$ -RMN é representado pelas formas de P-monoéster e P-diéster (tabela 4). Estes valores variaram de 16 a 88 mg kg<sup>-1</sup> (média 48 ± 6,3 mg kg<sup>-1</sup>), com uma porcentagem de 6 a 20% (média 12 ± 1,3%) do P total do solo (tabela 4). A forma mais preponderante de P orgânico encontrado foi o monoéster, sendo observado concentrações variando de 15 a 80 mg kg<sup>-1</sup> (média 44 ± 5,6 mg kg<sup>-1</sup>) e representou 87 a 95% (média de 92 ± 0,8%) do P orgânico total extraído com NaOH+EDTA em  $^{31}\text{P}$ -RMN.

O P-diéster é composto pela espécie detectada como DNA. O DNA foi encontrado em todos os sítios e variou de 1,0 a 8 mg kg<sup>-1</sup> (média 4 ± 0,7 mg kg<sup>-1</sup>). O P-diéster representou 5 a 13% do Po total (média de 8 ± 0,8 %) (Figura 4). De

acordo com a identificação das espécies observou-se uma grande heterogeneidade entre os sítios de eucalipto.

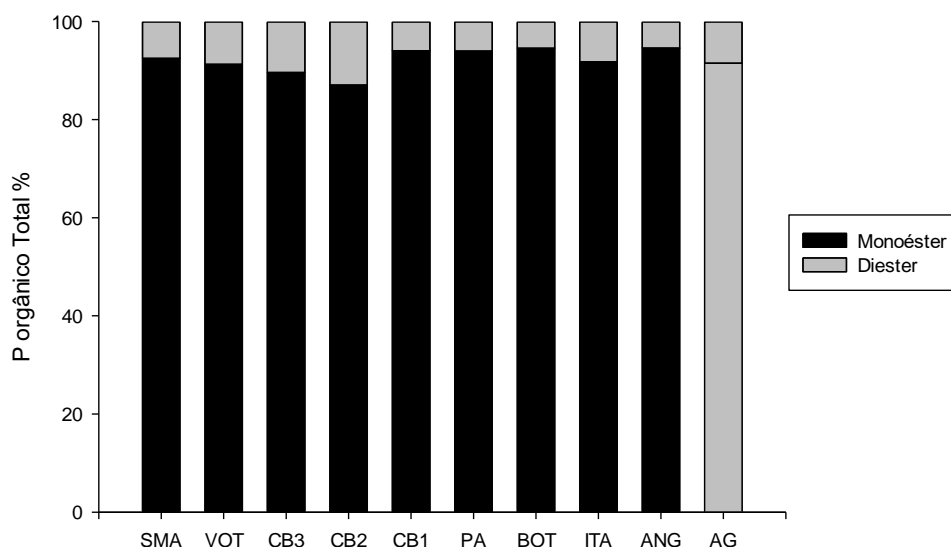
Analisando o grupo de P inorgânico, obteve-se um coeficiente de variação de 80 e 99% (n=10) para as espécies de ortofosfato e pirofosfato, respectivamente. Para as espécies do P orgânico foi observada uma variação de 41 e 59%, para monoéster e diéster, respectivamente.

Tabela 5. Concentração das espécies de P determinadas pela solução  $^{31}\text{P}$ -RMN em extratos de NaOH-EDTA de diferentes sítios de eucalipto do estado de São Paulo.

Sítios	P inorgânico (mg kg <sup>-1</sup> )		P orgânico (mg kg <sup>-1</sup> )		
	Ortofosfato	Pirofosfato	P-Monoéster	P-Diéster	M/D
SMA <sup>(1)</sup>	318	9	44	4	12.6
VOT <sup>(2)</sup>	144	4	80	8	10
CB3 <sup>(3)</sup>	89	2	58	7	8.3
CB2 <sup>(4)</sup>	97	2	48	7	6.8
CB1 <sup>(5)</sup>	72	2	46	3	15.3
PA <sup>(6)</sup>	79	4	40	3	16
BOT <sup>(7)</sup>	63	1	15	1	15
ITA <sup>(8)</sup>	49	1	47	4	11.8
ANG <sup>(9)</sup>	51	1	29	2	14.5
AG <sup>(10)</sup>	54	1	30	3	9.8

Sítios representados pelas siglas: (1) São Miguel Arcanjo; (2) Votorantim; (3) Capão Bonito 3; (4) Capão Bonito 2; (5) Capão Bonito 1; (6) Paraibuna; (7) Botucatu; (8) Itatinga; (9) Angatuba; (10) Agudos. M/D: relação entre P-monoéster e P-diéster.

Figura 4 - Distribuição relativa das formas de P-monoéster e P-diéster em diferentes sítios de eucalipto do estado de São Paulo.



Sítios representados pelas siglas: SMA-São Miguel Arcanjo; VOT-Votorantim; CB3-Capão Bonito 3; CB2-Capão Bonito 2; CB1-Capão Bonito 1; PA-Paraibuna; BOT-Botucatu; ITA-Itatinga; ANG-Angatuba; AG-Agudos.

#### Correlação entre os atributos do solo e as espécies de P

O sítio SMA foi retirado da análise para que a normalização dos dados fosse possível de ser realizada devido à alta variação destes dados em relação aos demais sítios, justificada pela anterior utilização do sítio com o plantio de batata, aumentando a fertilidade do mesmo.

De acordo com os resultados obtidos através da correlação de Pearson, observou-se uma alta correlação entre as espécies de ortofosfato e pirofosfato ( $r = 0,87$ ,  $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ), visto que ambas representam a fração inorgânica do P presente no solo. O ortofosfato também foi correlacionado positivamente com o P-Diéster ( $r = 0,68$ ,  $p < 0,05$ ,  $n = 9$ ). Assim como as formas inorgânicas, as formas orgânicas de P (diéster e monoéster) também apresentaram uma forte correlação com  $r = 0,91$ ,  $p < 0,001$ ,  $n = 9$  (Tabela 6).

Tabela 6 – Matriz de correlação de Pearson entre as espécies de fósforo do solo de diferentes sítios de eucalipto no estado de São Paulo (n=9).

	Ortofosfato	Monoéster	Diéster	Pirofosfato
Ortofosfato	<b>1</b>			
Monoéster	0.65	<b>1</b>		
Diéster	<b>0.68*</b>	<b>0.91***</b>	<b>1</b>	
Pirofosfato	<b>0.87**</b>	0.62	0.54	<b>1</b>

Os valores em negrito apresentam um nível de significância  $\alpha=0,001^{***}$ ,  $0,01^{**}$  e  $0,05^*$

Foram correlacionadas as características químicas e físicas dos sítios de eucalipto com as espécies encontradas (Tabela 7). O teor de argila correlacionou com todas as espécies de fósforo encontradas, incluindo os fósforos totais e fósforo extraído por mehlich<sup>-1</sup> do solo (ortofosfato, monoéster, diéster, pirofosfato, P Total<sub>RMN</sub>, P Total<sub>NaOH+EDTA</sub>, P<sub>Mehlich-1</sub>, P Total<sub>sulf</sub>) com  $r = 0,80$   $p < 0,01$ ;  $0,79$   $p < 0,05$ ;  $0,77$   $p < 0,05$ ;  $0,84$   $p < 0,01$ ;  $0,88$   $p < 0,01$ ;  $0,82$   $p < 0,01$ ;  $-0,90$   $p < 0,001$ ;  $0,80$   $p < 0,01$ , para  $n = 9$ , respectivamente. Assim como a argila, o teor de carbono também apresentou correlação com todas as espécies de fósforo encontradas, exceto com o P<sub>total</sub><sub>sulf</sub>. ( $r = 0,84$   $p < 0,01$ ;  $0,78$   $p < 0,05$ ;  $0,77$   $p < 0,05$ ;  $0,67$   $p < 0,05$ ;  $0,89$   $p < 0,01$ ;  $0,87$   $p < 0,01$ ;  $-0,67$   $p < 0,05$ , para  $n = 9$ ). Apenas o pirofosfato não se correlacionou com a capacidade de troca de cátions (ortofosfato apresentou  $r = 0,78$   $p < 0,05$ ,  $n = 9$ ; o monoéster  $r = 0,82$   $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ; o diéster  $r = 0,89$   $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ; o P<sub>total</sub><sub>RMN</sub>  $r = 0,88$   $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ; o P<sub>total</sub><sub>NaOH+EDTA</sub>  $r = 0,77$   $p < 0,05$ ,  $n = 9$ , o P<sub>total</sub><sub>sulf</sub>  $r = 0,77$   $p < 0,05$ ,  $n = 9$  e o P<sub>Mehlich-1</sub>  $r = -0,72$   $p < 0,05$ ,  $n = 9$ ).

Tabela 7 – Matriz de correlação de Pearson entre as espécies de fósforo e as características químicas e físicas do solo de diferentes sítios de eucalipto no estado de São Paulo (n=9).

	Ortofosfato	Monoéster	Diéster	Pirofosfato	Ptotal <sub>RMN</sub>	Ptotal <sub>NaOH+EDTA</sub>	Ptotal <sub>Sulf</sub>	P <sub>mehlich</sub> <sup>-1</sup>
Argila	<b>0.80**</b>	<b>0.79*</b>	<b>0.77*</b>	<b>0.84**</b>	<b>0.88**</b>	<b>0.81**</b>	<b>0.82**</b>	<b>-0.90***</b>
Carbono	<b>0.84**</b>	<b>0.78*</b>	<b>0.77*</b>	<b>0.67*</b>	<b>0.89**</b>	<b>0.87**</b>	0.66	<b>-0.67*</b>
T	<b>0.78*</b>	<b>0.82**</b>	<b>0.89**</b>	0.62	<b>0.88**</b>	<b>0.77*</b>	<b>0.77*</b>	<b>-0.72*</b>

Os valores em negrito apresentam um nível de significância alfa=0,001\*\*\*, 0,01\*\* e 0,05\*

## Relações entre as espécies e frações de P

Assim como para as correlações das espécies com os atributos do solo, para que a normalização dos dados fosse possível de ser realizada, foi retirado da análise o sítio SMA. As frações de fósforo, segundo o método de Hedley, foram obtidas através de Costa et al. 2016 para fins de comparação com as espécies de P detectadas pelo método da  $^{31}\text{P}$ -RMN.

As frações Pi resina, Pi  $\text{NaHCO}_3\text{O}$ , Pi HCl e P-lábil não se correlacionaram com nenhuma espécie identificada no solo. Todas as espécies identificadas se correlacionaram com o P-residual, P-mod.lábil e P-ocluído. Exceto para as frações descritas, o ortofosfato se correlacionou positivamente com todas as demais frações (Po  $\text{NaHCO}_3$   $r = 0.84$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 9$ , Pi NaOH  $r = 0.77$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ , Po NaOH  $r = 0.75$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ , Pi NaOH+U  $r = 0.80$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 9$ , Po NaOH+U  $r = 0.78$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ , P residual  $r = 0.89$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 9$ , P Mod. Lábil  $r = 0.90$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 9$ , e P ocluído  $r = 0.92$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 9$ ).

O pirofosfato se correlacionou positivamente, fortemente, com Pi NaOH ( $r = 0.94$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 9$ ). Também se correlacionou com as frações de Pi NaOH+U e Po NaOH+U ( $r = 0.85$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 9$ ,  $r = 0.85$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 9$ , respectivamente) (Tabela 8). Já as formas de fósforo orgânicas monoéster e diéster também se correlacionaram com Pi NaOH+U ( $r = 0.72$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ ;  $r = 0.68$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ , respectivamente) (Tabela 8).

Quando correlacionados com os totais de P do solo e o P extraído por Mehlich<sup>-1</sup> só não obtivemos correlação positiva entre o  $\text{P}_{\text{totalRMN}}$  e o  $\text{P}_{\text{totalNaOH+EDTA}}$  com as frações Pi resina, Pi  $\text{NaHCO}_3$ , Pi HCl e P-lábil. O  $\text{P}_{\text{Mehlich}^{-1}}$  se correlacionou positivamente com o Pi resina ( $r = 0.75$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ ) e Pi  $\text{NaHCO}_3$  ( $r = 0.75$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ ) e negativamente com Pi NaOH+U ( $r = -0.85$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 9$ ) e P residual ( $r = -0.69$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ ). O  $\text{P}_{\text{sulf}}$  se correlacionou positivamente apenas com o Pi NaOH+U ( $r = 0.69$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ ) e negativamente com o Pi resina ( $r = -0.70$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ ) (Tabela 9).

Tabela 8 – Matriz de correlação de Pearson entre as espécies de fósforo e as características químicas e físicas do solo de diferentes sítios de eucalipto no estado de São Paulo (n=9).

	Pi Resina	Pi NaHCO <sub>3</sub>	Po NaHCO <sub>3</sub>	Pi NaOH	Po NaOH	Pi NaOH+U	Po NaOH+U	Pi HCl	P Residual	P-lábil	P-mod. Lábil	P-Ocluso
Ortofosfato	-0.11	-0.43	<b>0.84**</b>	<b>0.77*</b>	<b>0.75*</b>	<b>0.80**</b>	<b>0.78*</b>	-0.31	<b>0.89***</b>	0.45	<b>0.90***</b>	<b>0.92***</b>
Monoéster	-0.56	-0.35	0.39	0.57	0.62	<b>0.72*</b>	0.47	0.12	<b>0.78*</b>	0.06	<b>0.71*</b>	<b>0.73*</b>
Diéster	-0.51	-0.49	0.43	0.50	0.64	<b>0.68*</b>	0.41	0.16	<b>0.72*</b>	0.05	<b>0.69*</b>	<b>0.74*</b>
Pirofosfato	-0.13	-0.36	0.66	<b>0.94***</b>	0.47	<b>0.85**</b>	<b>0.85**</b>	-0.15	<b>0.87**</b>	0.33	<b>0.77*</b>	<b>0.88**</b>

Os valores em negrito apresentam um nível de significância alfa=0,001\*\*\*, 0,01\*\* e 0,05\*

Tabela 9 – Matriz de correlação de Pearson entre os totais de fósforo extraídos com diferentes métodos e as frações de fósforo do solo de diferentes sítios de eucalipto no estado de São Paulo (n=9).

	Pi Resina	Pi NaHCO <sub>3</sub>	Po NaHCO <sub>3</sub>	Pi NaOH	Po NaOH	Pi NaOH+U	Po NaOH+U	Pi HCl	P Residual	P-lábil	P-mod. Lábil	P-Ocluso
Ptotal <sub>RMN</sub>	-0.35	-0.44	<b>0.71*</b>	<b>0.75*</b>	<b>0.77*</b>	<b>0.85**</b>	<b>0.72*</b>	-0.10	<b>0.94***</b>	0.31	<b>0.91***</b>	<b>0.93***</b>
Ptotal <sub>NaOH+EDTA</sub>	-0.25	-0.32	<b>0.68*</b>	<b>0.72*</b>	<b>0.85**</b>	<b>0.83**</b>	<b>0.78*</b>	-0.18	<b>0.95***</b>	0.37	<b>0.95***</b>	<b>0.88**</b>
Ptotal <sub>Sulf</sub>	<b>-0.70*</b>	-0.57	0.15	0.55	0.23	<b>0.69*</b>	0.30	0.15	0.60	-0.26	0.42	0.61
P <sub>Mehlich<sup>-1</sup></sub>	<b>0.75*</b>	<b>0.75*</b>	0.01	-0.57	-0.34	<b>-0.85**</b>	-0.45	-0.08	<b>-0.69*</b>	0.45	-0.50	-0.63

Os valores em negrito apresentam um nível de significância alfa=0,001\*\*\*, 0,01\*\* e 0,05\*



Analisando os totais de P orgânico e inorgânico obtidos através da RMN, obteve-se para a forma orgânica correlação positiva apenas entre o Pi NaOH+U ( $r = 0.72$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ ) e P residual ( $r = 0.77$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ ) (Tabela 10). Já a forma inorgânica se correlacionou positivamente com o Po NaHCO<sub>3</sub> ( $r = 0.76$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ ), Pi NaOH ( $r = 0.90$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 9$ ), Pi e Po NaOH+U ( $r = 0.86$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 9$ ;  $r = 0.85$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 9$ , respectivamente) e fortemente correlacionado com o P residual ( $r = 0.91$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 9$ ) (Tabela 10).

Tabela 10 – Matriz de correlação de Pearson entre os totais de fósforo por RMN e as frações de fósforo do solo de diferentes sítios de eucalipto no estado de São Paulo (n=9).

	Pi total <sub>RMN</sub>	Po total <sub>RMN</sub>
Pi Resina	-0.13	-0.55
Pi NaHCO <sub>3</sub>	-0.41	-0.43
Po NaHCO <sub>3</sub>	<b>0.76*</b>	0.42
Pi NaOH	<b>0.90**</b>	0.55
Po NaOH	0.65	0.65
Pi NaOH+U	<b>0.86**</b>	<b>0.72*</b>
Po NaOH+U	<b>0.85**</b>	0.45
Pi HCl	-0.23	0.15
P Residual	<b>0.91***</b>	<b>0.77*</b>

Os valores em negrito apresentam um nível de significância  $\alpha=0,001^{***}$ ,  $0,01^{**}$  e  $0,05^*$

## DISCUSSÃO

### P no solo e <sup>31</sup>P-RMN

Em sua maioria, os solos avaliados apresentaram baixos teores de P no solo, assim como é visto na maioria dos solos brasileiros, com elevado intemperismo em exceção ao sítio SMA que apesar de não ter sofrido adubação é advindo de um cultivo seguinte à cultura da batata, fato este que pode ter colaborado atuando como fonte do nutriente ao solo. Dentre os compostos identificados nos 10 sítios, o ortofosfato apresentou maior concentração. A alta concentração dessa espécie nos sítios, mesmo sem adubação fosfatada, sugere uma mineralização do P orgânico decorrente da decomposição da serapilheira, ciclagem da matéria orgânica e

renovação das raízes (Muñoz e Beer, 2001). De acordo com o trabalho desenvolvido por Gama-Rodrigues e Barros (2002), o P presente nos resíduos das plantas de eucalipto representa quase 60% do P acumulado na parte aérea das plantas. Lehmann et al. (2001) corroboram com a hipótese ao afirmarem que em sistemas agroflorestais a deposição de resíduos ricos em P são facilmente mineralizáveis, aumentando a disponibilidade de P inorgânico em solos intemperados.

Considerando, ainda, o P inorgânico, as baixas concentrações de pirofosfato encontradas em todos os sítios de eucalipto indicam que a atividade microbiana nos solos é baixa visto que o pirofosfato tem origem da atividade fúngica (Koukol et al., 2008). Segundo Turner e Engelbrecht (2011), apesar da espécie de pirofosfato ser inorgânica, eles podem ser considerados funcionalmente parecidos ao P orgânico, pois são de origem biológica e demandam hidrólise por enzimas de fosfatase antes da absorção pela planta.

Dentre os compostos de P orgânico encontrados, o DNA contribuiu com baixos teores ao P orgânico total. Resultados semelhantes de concentrações baixas de DNA também foram encontrados por Condrón et al. (2005). Turner e Engelbrecht (2011) encontraram em seu trabalho com florestas tropicais P orgânico constituído entre 50 a 66 % do P extraído em NaOH e determinado com RMN-<sup>31</sup>P dos quais 68 a 96 % foram fosfatos monoésteres e o restante DNA. O DNA constitui a fração de fosfatos diésteres do P orgânico e esta fração é comumente, quando em pH próximo à 5,0 (Condrón et al., 2005), considerada lábil em solos devido à sua ciclagem relativamente rápida (Bowman e Cole, 1978). Os sítios presentes neste trabalho apresentam um pH do solo abaixo de 5,0, neste caso, o DNA pode ser adsorvido pelos minerais da fração argila, favorecendo a estabilização do P orgânico (Khanna et al., 1998).

De acordo com os picos presentes nos espectros analisados (Figuras 2 e 3), acredita-se que haja presença de fosfatos inositolis, como myo-IHP e esteroisômeros como neo-IHP, chiro-IHP, e scyllo-IHP, assim como frutoses (Frutose-1-fosfato e D-Frutose-6-fosfato) e glicose nos sinais referentes aos compostos de P-monoéster. Isto porque nos espectros foram detectados sinais indicativos de myo-IHP em  $4,82 \pm 0,12 \delta$  ppm, n = 8;  $4,61 \pm 0,24 \delta$  ppm, n=8;  $4,34 \pm 0,06 \delta$  ppm, n = 8;  $3,38 \delta$  ppm, n = 1;  $3,28 \pm 0,07 \delta$  ppm, n = 10. Assim como sinais em  $3,04 \pm 0,0 \delta$  ppm, n = 2 indicando o scyllo-IHP,  $5,92 \delta$  ppm, n = 1;  $4,48$

$\pm 0,06 \delta$  ppm, n = 2;  $4,00 \pm 0,18 \delta$  ppm, n = 9;  $3,51 \pm 0,09 \delta$  ppm, n = 3; 3,24 ppm, n = 1 indicando a presença de chiro-IHP e sinais em  $3,46 \pm 0,04 \delta$  ppm, n = 5 indicando a presença de neo-IHP. A presença dos açúcares é indicada pelos sinais identificados em  $3,79 \delta$  ppm, n = 1 indicando D-frutose-1-fosfato (G1P),  $4,50 \pm 0,2 \delta$  ppm, n = 7 indicando D-glicose-6-fosfato (G6P) e  $3,89 \pm 0,16 \delta$  ppm, n = 10 indicando D-frutose-6-fosfato (F6P). Murphy et al. (2009) encontraram a espécie de myo-IHP representando entre 20 a 52% dos totais relatados para solos temperados. O myo-IHP é uma espécie presente em altas concentrações nas sementes e frutos senescentes (Raboy 2007). Informações sobre os esteroisômeros da espécie de myo-IHP possivelmente detectados, como neo-IHP, chiro-IHP, e scyllo-IHP tem ainda origem, dinâmica e função não conhecidas (Turner et al., 2012). Tsumura e Sato (1960) descreveram que no solo há uma enzima em *Pseudomonas hydrophila*, que catalisa a conversão de D-glicose em D-frutose. Acredita-se então que por atividade microbiana possa ter havido uma conversão da glicose em frutose justificando a viabilidade da presença dessas espécies nos sítios.

Alguns autores (He et al., 2011; Schneider et al., 2016; Aleixo, 2018) descrevem, ainda, a possibilidade da presença de  $\alpha$ -glicerofosfato e  $\beta$ -glicerofosfato na região do P-monoéster, como os possivelmente detectados nos sítios avaliados pelos sinais em  $4,15 \pm 0,33 \delta$  ppm, n = 10 para  $\alpha$ -glicerofosfato e  $4,75 \pm 0,28 \delta$  ppm, n = 8 para  $\beta$ -glicerofosfato, porém estas espécies são na verdade produtos de degradação fosfolipídica e os mononucleotídeos detectados em sinais  $3,68 \pm 0,09 \delta$  ppm, n = 6 são formados predominantemente por degradação de RNA (Cade-Menum et al., 2010).

#### Quantificação das espécies de P no solo

A eficiência da quantificação dos teores de  $P_{totalRMN}$  em função do  $P_{NaOH+EDTA}$  não foram superiores a 60% para a maioria dos sítios, com uma média de 56% demonstrando, assim, que algumas espécies não puderam ser identificadas pelos espectros gerados, podendo seus picos terem sido sobrepostos, diminuindo os compostos encontrados.

Em termos de porcentagem, a taxa de recuperação da extração do  $P_{totalRMN}$  e o  $P_{NaOH+EDTA}$  comparados à digestão sulfúrica foram de 22 a 150%, demonstrando

uma alta variação entre os sítios. Apesar da alta variação, o fato dos solos serem de ambiente tropical, com altos índices de óxidos de Fe e Al com elevada capacidade de adsorção do P faz com que a  $^{31}\text{P}$ -RMN com extrator de NaOH+EDTA seja mais adequada para o estudo de espécies de P pela eficiência do EDTA em complexar os íons paramagnéticos, melhorando a extração do P (Bowman e Moir, 1993). Com o uso de solução alcalina é possível obter um conteúdo expressivo da fração orgânica de P do solo, possibilitando a melhor determinação desse compartimento na extração do P total.

Correlação entre os atributos do solo, as frações advindas de Hedley e os componentes de P por  $^{31}\text{P}$ -RMN

O carbono orgânico do solo tem correlação com P orgânico, ressaltando a relação entre eles onde os solos mais argilosos e com maiores teores de carbono são os mesmos que apresentam os maiores teores de P orgânico (Turner e Engelbrecht, 2011). Esta correlação infere sobre a estabilização e adsorção da matéria orgânica nos sítios. A matéria orgânica é estabilizada em função das argilas favorecendo a formação de uma proteção física contra um ataque microbiano (Turner et al., 2003). Os teores de P total extraídos aumentam de acordo com a textura do solo, sendo os solos mais argilosos os de maiores teores desse nutriente. Sendo os solos tropicais avaliados, com alta influência do intemperismo e uma presença considerável de argila, pode-se considerar como importante fonte de nutriente a ser disponibilizado, em longo prazo, o P retido no interior dos agregados do solo. Justifica-se o fato do P-ocluso, retido no interior dos agregados, ter se correlacionado positivamente com todos os compostos do solo, sendo mais fortemente correlacionado com as formas inorgânicas de P, ortofosfato e pirofosfato. Segundo Linqvist et al. (1997), acredita-se que o tamanho do agregado do solo influencia a adsorção de P e a sua biodisponibilidade.

A correlação positiva, significativa, entre a espécie de pirofosfato e a argila aponta para a adsorção desta forma de P na fase mineral do solo conduzindo, assim, um importante processo abiótico de estabilização do pirofosfato do solo, uma vez que a intensidade da adsorção de pirofosfato no solo é maior que a do ortofosfato (Gunary, 1966). Os elevados teores de P inorgânico podem ser

explicados pela cultura do eucalipto possuir uma capacidade de produzir grande quantidade de resíduos vegetais com fontes de nutrientes como o P, via mineralização do P orgânico que é convertido à forma inorgânica (Costa et al., 2016).

#### Demanda do eucalipto x fósforo no solo

O acúmulo de P na parte aérea do eucalipto, pelo período de sete anos, é de 60 kg ha<sup>-1</sup> sendo que por exportação de P com a colheita da madeira saem do sistema 54 kg ha<sup>-1</sup> (Bazani et al., 2014). Considerando apenas para fins comparativos apesar da diferenciação na textura dos solos estudados, a densidade do solo = 1 temos que o teor médio de P<sub>NaOH+EDTA</sub> (colorimetria) total é igual a 548,0 kg ha<sup>-1</sup>, e para o P<sub>RMN</sub> total o teor médio encontrado foi de 304,0 kg ha<sup>-1</sup>. Os teores médios de P inorgânico e P orgânico extraído no <sup>31</sup>P-RMN foram de 208,6 kg ha<sup>-1</sup> e 96,0 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Considerando, para todos os teores obtidos, tanto totais quanto orgânico e inorgânico, sem levar em conta suas formas no solo e sua especiação, seria possível afirmar que é adequado o teor de P no sistema para compensar a acumulação de P pela parte aérea do eucalipto ao longo de sete anos e sua exportação de P pela colheita da madeira.

Sabe-se que os teores obtidos pelo sítio SMA, pela adubação recebida, superestima a média dos teores, para tanto foram realizados os cálculos das médias dos teores eliminando o sítio SMA, a fim de certificar a eficiência dos dados e, ainda, assim, o P encontrado nos sítios de eucalipto estudados seria capaz de nutrir adequadamente os plantios na fase de manutenção, considerando a contribuição do P orgânico no sistema.

Analisando os compostos de P inorgânico detectados nos sítios analisados, há predominância do ortofosfato, P dissolvido que não requer hidrólise para sua absorção, corroborando com a sustentabilidade do sistema, tendo sido encontrado o ortofosfato com média de 204,0 kg ha<sup>-1</sup>. O pirofosfato contribui com os teores de P inorgânico em média de 5,4 kg ha<sup>-1</sup>. O pirofosfato é uma espécie de origem microbiana ou vegetal que, via hidrólise enzimática microbiana, pode ser transformado em ortofosfato, podendo explicar então sua menor ocorrência nos sítios de eucalipto (Daí et al., 1996).

Foi encontrada no somatório das espécies de P diéster, que são menos reativos aos componentes do solo e de mais fácil mineralização (Turner et al., 2005), a média de 8,4 kg ha<sup>-1</sup>, podendo contribuir significativamente, via mineralização, para a nutrição do sistema ao longo do ciclo de sete anos. Assim como as espécies de P orgânico monoéster, que apesar de mais recalcitrantes, contribuem em longo prazo para a sustentabilidade do sistema, tendo média de 87,4 kg ha<sup>-1</sup>. Assim, o aporte de P orgânico nas espécies diéster e monoéster são tidas como colaboradoras na disponibilização do nutriente, paulatinamente, devido à sua mineralização.

A evidente importância da técnica de <sup>31</sup>P-RMN nos permite conhecer os compostos de fósforo e suas formas de labilidade em que se apresentam possibilitando uma acurácia e precisão da resposta da cultura ao suprimento do sistema.

## CONCLUSÃO

O uso da espectroscopia de ressonância magnética nuclear-<sup>31</sup>P nos sítios avaliados aprimorou nossa compreensão das transformações de P em sítios de eucalipto. As espécies de P identificadas variaram de acordo com a fertilização do solo para o sítio SMA, e com as características químicas e físicas como os teores de carbono e argila do solo. Em todos os sítios avaliados, a maior porção do P orgânico do solo consistiu de P-monoéster e baixa contribuição de P-diéster (DNA). Baixas concentrações de pirofosfato foram encontradas podendo evidenciar uma alta ciclagem deste composto em ortofosfato, contribuindo com o aporte de P inorgânico no solo. As concentrações de P presentes no solo manifestaram um potencial de fornecimento de P às plantas, mas as estimativas dos teores de P total presente no solo não são suficientes para estimar com precisão se eles são satisfatórios para suprir a demanda da cultura. Além do P inorgânico não estar totalmente disponível para as plantas, podendo parte desse P estar fixada aos óxidos de Fe e Al predominantes nos solos brasileiros, a taxa de decomposição do P orgânico é muito variável de acordo com o ambiente, clima, temperatura, microbiota presente no solo, entre outros fatores, não podendo ser estimada com exatidão.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAF - Anuário Estatístico da ABRAF: ano base 2012. (2013) *Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas*. Brasília. 146 p.
- Aleixo S., Gama-Rodrigues A. C., Costa M. G., Sales M. V. S., Gama-Rodrigues E. F., Marques, J. R. B. (2017) P transformations in cacao agroforests soils in the Atlantic Forest region of Bahia, Brazil. *Agroforest. Syst.* 91(3):423–437
- Aleixo, S. (2018) *Especiação e transformações do fósforo orgânico em solos florestais e agroflorestais na região da mata atlântica no Brasil*. Tese (Doutorado), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, RJ. p. 105.
- Alvarez V., V. H., Ribeiro, A. C. (1999) Calagem. In A. C. Ribeiro, P. T. G. Guimarães, V. H. Alvarez V. (Eds.), *Recomendação para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais* (5 ed., pp. 43-60).
- Barros, N. F., Neves, J. C. L., Novais, R. F. (2014) Nutrição e adubação mineral do eucalipto. In A. B. Vale, C. C. Machado, J. M. M. Pires, M. B. Vilar, C. B. Costa, A. P. Nacif (Eds.), *Eucaliptocultura no Brasil: silvicultura, manejo e ambiência* (pp. 187-208). Viçosa - MG: Sociedade de Investigações Florestais - SIF.
- Barros, N. F., Novais, R. F. (1999) Eucalipto. In A. C. Ribeiro, P. T. G. Guimarães, V. H. Alvarez V. (Eds.), *Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais* (5 ed., pp. 303-305).
- Barros, N.F. & Comerford, N.B. (2002) Sustentabilidade da produção de florestas plantadas na região tropical. In: Alvarez V., V.H.; Schaefer, C.E.G.R.; Barros, N.F.; Mello, J.W.V. & Costa, L.M., eds. *Tópicos em ciência do solo*. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo,. v.2. p.487-592
- Bazani, J.H.; Gonçalves, J.L.M.; Rocha, J.H.T.; Melo, E.S.A.C.; Prieto, M. (2014) *Nutrição fosfatada em plantações de eucalipto*. *Info. Agron.* 148, 1–11.
- Bowman, R. A. (1989) A sequential extraction procedure with concentrated sulfuric acid and dilute base for soil organic phosphorus. *Soil Science Society of America Journal*, 53(2), 362-366.
- Bowman, R. A., Cole, C. V. (1978) Transformations of organic phosphorus substrates in soils as evaluated by NAHCO<sub>3</sub> extraction. *Soil Science*, 125(1), 49-54.
- Bowman, R.A., J.O. Moir. (1993) Basic EDTA as an extractant for soil organic phosphorus. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57:1516–1518.

- Brady, N. C., Weil, R. R. (2013) *Elementos da natureza e propriedades dos solos* (Bookman Ed. 3ª edição ed.). Porto Alegre - RS.
- Bruice, P. Y., Lee, I. (2004) *Química Orgânica*. 4 ed. Capítulo 14: Espectroscopia de RMN. Case Western Reserve University. 524-554p.
- Burak, D. L.; Fontes, M. P. F.; Becquer, T. (2011) Microagregados estáveis e reserva de nutrientes em Latossolo Vermelho sob pastagem em região de Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 41, n. 2, p. 229-241.
- Cade-Menun, B. J. (2005) *Characterizing phosphorus in environmental and agricultural samples by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy*. Geological and Environmental Sciences Department, Building 320, Room 118, Stanford University, Stanford, CA 94305-2115, USA.
- Cade-Menun, B.J. & Preston, C.M. (1996) A comparison of extraction procedures for <sup>31</sup>P NMR spectroscopy. *Soil Sci.*, 161:770-785.
- Cade-Menun, B.J. Liu, C.W. (2014) Solution <sup>31</sup>P-NMR spectroscopy of soils from 2005-2013: A review of sample preparation and experimental parameters, *Soil Science Society of America Journal*, 78(1), pp. 19-37.
- Cade-Menun, B.J., M.R. Carter, D.C. James, C.W. Liu. (2010) *Phosphorus forms and chemistry in the soil profile under long-term conservation tillage: A phosphorus-<sup>31</sup> nuclear magnetic resonance study*. J. Environ. Qual. 39:1647–1656.
- Chang, S. C., Jackson, M. L. (1957) Fractionation of soil phosphorus. *Soil Science*, Baltimore, v 84, p. 133-144.
- Condon LM, Turner BL, Cade-Menun BJ (2005) Chemistry and dynamics of soil organic phosphorus. In: Sharpley AN, Sims JT (eds) *Phosphorus: agriculture and the environment*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, pp 87–121.
- Condon, L. M. Moir, J.O. Tiessen, H. Stewart, J.W.B. (1990) *Soil Sci. Soc. Americana*. J. 54 1261.
- Condon, L.M., Newman, S. (2011) Revisiting the fundamentals of phosphorus fractionation of sediments and soils. J. *Soils Sediments* 11:830–840.
- Costa MG, Gama-Rodrigues AC, Gonçalves JLD, Gama-Rodrigues EF, Sales MVDS, Aleixo S (2016) Labile and Non-Labile Fractions of Phosphorus and Its Transformations in Soil under Eucalyptus Plantations, Brazil. *Forests* 7(1):15
- Costa, G. M. (2015) *Frações de P no solo em sítios de eucalipto no estado de São Paulo, Brasil*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 88p.



- Dai, K. H., David, M. B., Vance, G. F., Krzyszowska, A. J. (1996) Characterization of phosphorus in a spruce-fir Spodosol by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Soil Science Society of American Journal*, Madison, v.60, p.1943-1950.
- Dalal, R.C. (1977) Soil organic phosphorus. *Adv. Agron.*, 29:83-117
- Embrapa. (1999) *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes* (E. solos Ed.). Brasília - DF, Brasil: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.
- Fao - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (1981) Eucalypts for planting. *FAO Forestry Series* Vol. 11. M. R. Jacobs (Ed.), p. 735.
- Fao - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2010) Global Forest Resources. *FAO Forestry Paper* 163. Rome. 340 p.
- Faquim, V. (1994) *Nutrição mineral de plantas*. Lavras: Esal-Faepe. 227p.
- Ferreira, M.M. (2010) Caracterização física do solo. In: Lier, J.V.Q., ed. Física do solo. Viçosa, MG. *Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, 298p.
- Fixen, P. E., Gove, J. H. (1990) Testing soils for phosphorus. In: Westerman, R. L. (Ed) *Soil Testing and Plant Analysis*, 3 ed. Madison. p. 141-180.
- Fontes, A. G., Gama-Rodrigues, A. C., Gama-Rodrigues, E. F., Sales, M. V. S., Costa, M. G., Machado, R. C. R. (2014) Nutrient stocks in litterfall and litter in cocoa agroforests in Brazil. *Plant and Soil*, 1-23.
- Gama-Rodrigues, A. C., Barros, N. F. (2002). Ciclagem de nutrientes em floresta natural e plantios de eucalipto e de dandá no sudeste da Bahia, Brasil. *Revista Árvore*, 26(2), 193-207.
- Gama-Rodrigues, A.C. (1997) *Ciclagem de nutrientes por espécies florestais em povoamentos puros e mistos em solos de tabuleiro da Bahia, Brasil*. (Tese de Doutorado). Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 107p.
- Gatiboni, L. C., Kaminski, J., Rheinheimer, D. d. S., Brunetto, G. (2008) Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatases ácidas durante a diminuição do fósforo disponível no solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43, 1085-1091.
- Gatiboni, L.C. (2003) *Disponibilidade de formas de fósforo do solo às plantas* (Tese de Doutorado). Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 231p.
- Gatiboni, L.C.; Brunetto, G.; Rheinheimer, D.S.; Kaminsk, J. (2013) *Fracionamento químico das formas de fósforo do solo: Uso e limitações*. *Tóp. Ciênc. Solo*, 8, 141–187.

- Gonçalves, J.L.M.; Alvares, C.A.; Higa, A.R.; Silva, L.D.; Alfenas, A.C.; Stahl, J.; Ferraz, S.F.B.; Lima, W.P.; Brancalion, P.H.S.; Hubner, A.; et al. (2013) Integrating genetic and silvicultural strategies to minimize abiotic and biotic constraints in Brazilian eucalypt plantations. *For. Ecol. Manag.* 301, 6–27.
- Grant, C.A.; Platen, D.N.; Tomaziewicz, D.J.; Sheppard, S.C. (2001) A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. *Informações Agronômicas*, Piracicaba, n.95.
- Guerra, J. G. M., Almeida, D. L. d., Santos, G. d. A., Fernandes, M. S. (1996) Conteúdo de fósforo orgânico em amostras de solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 31(4), 291-299.
- Gunary, D., Hallsworth, E. G., and Crawford, D. V., (1966) Exp. Pedol. Proc. Univ. Nottingham Easter School *Agric. Sci.*, 1964, 149
- He, Z.Q., Olk, D.C., Cade-Menun, B.J. (2011) Forms and lability of phosphorus in humic acid fractions of Hord silt loam soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 75, 1712– 1722.
- Hedley, M. J., Stewart, J. W. B., Chauhan, B. S. (1982) Changes in inorganic and organic soil-phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal*, 46(5), 970-976.
- Khanna M, Yoder L, Calamai L, Stotzky G (1998) X-ray diffractometry and electron microscopy of DNA from *Bacillus subtilis* bound on clay minerals. *Science of Soils* 3(1)
- Kizewski, F., Liu, Y. T., Morris, A., Hesterberg, D. (2011) Spectroscopic Approaches for Phosphorus Speciation in Soil and Other Environmental Systems. *J Environ Qual* 40: 751-776.
- Koukol O, Novák F, Hrabal R (2008) Composition of the organic phosphorus fraction in basidiocarps of saprotrophic and mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* 40:2464–2467
- Lehmann J, Günther D, Socorro Da Mota M, Pereira De Almeida M, Zech W, Kaiser K (2001) Inorganic and organic soil phosphorus and sulfur pools in an amazonian multistrata agroforestry system. *Agroforest. Syst.* 53(2):113-124
- Leite, J. N. F. (2015) *Formas orgânicas e inorgânicas de fósforo no solo em função de plantas de cobertura e adubação nitrogenada* (Dissertação de mestrado) Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 57p.
- Leite, P. B., Alvarez V., V. H., Barros, N. F. de, Neves, J. C. L., Guarçoni M., A., & Zanão Júnior, A. (2009) Níveis críticos de fósforo, para eucalipto, em casa de

- vegetação, em função da sua localização no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33(5), 1311-1322.
- Linguist, B. A., P. W. Singleton, R. S. Yost, and K. G. Cassman. (1997) Aggregate size effects on the sorption and release of phosphorus in an Ultisol. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:160-166.
- Liu, J., Yang, J., Cade-Menun, B. J., Liang, X., Hu, Y. Liu, C. W., Zhao, Y., Li, L., Shi, J. (2013) Complementary Phosphorus Speciation in Agricultural Soils by Sequential Fractionation, Solution  $^{31}\text{P}$  Nuclear Magnetic Resonance, and Phosphorus K-edge X-ray Absorption Near-Edge Structure Spectroscopy. *J. Environmental. Quality.* 42:1763–1770.
- Maeda, S.; Bognola, I. A. (2011) Efeito da calagem, do fosfato natural de Gafsa e superfosfato triplo no crescimento inicial e absorção de fósforo em *Eucalyptus dunnii*. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, v. 31, n. 68, p. 355-361, out./dez.
- Makarov, M.I., L. Haumaier, W. Zech. (2002) The nature and origins of diéster phosphates in soils: A  $^{31}\text{P}$ -NMR study. *Biol. Fertil. Soils* 35:136–146.
- Martinazzo, R., Rheinheimer, D.S., Gatiboni, L.C., Brunetto, G., Kaminskil, J. (2007) Fósforo microbiano do solo sob sistema plantio direto em resposta à adição de fosfato solúvel, *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 31:563-570.
- Mendonça, F. (2013) *Avaliação dos métodos colorimétrico e espectrométrico (ICP-OES) na determinação de fósforo total em amostras ambientais.* (Trabalho de conclusão de curso). Santo André, Universidade Federal do ABC. 20p.
- MMA – Ministério do Meio Ambiente/Serviço Florestal Brasileiro. (2013) Florestas do Brasil em resumo - 2013: dados de 2007-2012. Brasília. 188 p. Disponível em <http://www.florestal.gov.br>. Acesso em 14 jan. 2017.
- Moreira, F. M. S., Siqueira, J. O. (2006) *Microbiologia e bioquímica do solo* (2ª ed.). Lavras - MG: Editora UFLA.
- Muñoz F, Beer J (2001) Fine root dynamics of shaded cacao plantations in Costa Rica. *Agrofor. Syst.* 51:119-130
- Murphy, J., Riley, J.P. (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytical Chemistry Acta*, Amsterdam, 27:31-36.
- Murphy, P.N.C., Bell, A., Turner, B.L. (2009) Phosphorus speciation in temperate basaltic grassland soils by solution  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy. *Eur. J. Soil Sci.* 60(4):638–651

- Negassa, W., Leinweber, P. (2009) How does Hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: A review. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 172:305-325.
- Newman R. H. and Tate K. R. (1980) Soil phosphorus characterisation by  $^{31}\text{P}$  NMR. *Comm. Soil Sci. & Plant Anal.*
- Novais, R. F.; Smyth, T. J.; Nunes, F. N. (2007) Fósforo. In: NOVAIS, R. F. et al. (Ed) *Fertilidade do solo*. Viçosa: SBCS. 1017p.
- Novais, R.F., Smyth, T.J. (1999) *Fósforo em solo e planta em condições tropicais*, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p.399.
- Oliveira, R. I., Gama-Rodrigues, A. C., Gama-Rodrigues, E. F., Zaia, F. C., Pereira, M. G., Fontana, A. (2014) Organic phosphorus in diagnostic surface horizons of different Brazilian soil orders. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38(5), 1411-1420.
- R Development Core Team (2009) R: a language and environment for statistical computing. R *Foundation for Statistical Computing*, Viena, Austrai. <http://www.R-project.org>.
- Raboy, V. (2007) Seed phosphorus and the development of low phytate crops. In: Turner BL, Richardson AE, Mullaney EJ (ed) *Inositol phosphates: linking agriculture and the environment*. CAB International, Wallingford, UK, pp 111–132
- Raij, B. van., Andrade, J.C., Cantarella, H., Quaggio, J.A. (2001) *Análise química para avaliação da fertilidade do solo*. Campinas: Instituto Agrônômico, 285p.
- Rheinheimer, D. S. (2000) *Dinâmica do fósforo em sistemas de manejo de solos*. Tese: Doutorado em Agronomia – Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRS. P.210.
- Rheinheimer, D. S., Anghinoni, I., Flores, A. F. (2002) Organic and inorganic phosphorus as characterizes by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance in subtropical soils under management systems. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. New York, v. 33, p. 1853-1871.
- Sannigrahi, P., Ingall, E.D., (2005) *Polyphosphates as a source of enhanced P fluxes in marine sediments overlain by anoxic waters: evidence from  $^{31}\text{P}$  NMR*. *Geochem. Trans.* 6, 52–59.
- Santana, C. R., Barros, N. F., Novais, R. F. Leite, H. G., Comenford, N. B. (2008) Alocação de nutrientes em plantios de eucalipto no Brasil. *R. Bras. Ci. Solo*, 32:2723-2733.

- Schachtman, D. P., Reid, R. J., Ayling, S. M. (1998) Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiol*, 116(2), 447-453.
- Schneider, K.D., Cade-Menun, B.J., Lynch, D.H., Voroney, R.P. (2016) Soil phosphorus form organic and conventional forage fields. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 80, 328–340.
- Shand, C.A., Cheshire, M. V., Bedrock, C.N., Chapman, P.J., Frase, A. R., and Chudek, J.A. Solid-phase <sup>31</sup>P NMR spectra of peat and mineral soils, humic acids and soil solution components: Influence of iron and manganese. *Plant Soil* 1999;214:153-163.
- Silva, F.C., Raij, B. (1999) Disponibilidade de fósforo em solos avaliada por diferentes extratores, *Pesq. Agropec. Bras.*, 34:267-288.
- SNIF – Sistema Nacional de Informações Florestais. Disponível em: <<http://www.florestal.gov.br/documentos/publicacoes/3230-boletim-snif-2017-ed1-final/file>>. Acesso em 02 de janeiro de 2019.
- SNIF – Sistema Nacional de Informações Florestais. Disponível em: <[www.florestal.gov.br/snif/producao-florestal/consumo](http://www.florestal.gov.br/snif/producao-florestal/consumo)>. Acesso em 04 de janeiro de 2018.
- SNIF – Sistema Nacional de Informações Florestais. Disponível em: <[www.florestal.gov.br/snif/producao-florestal/consumo](http://www.florestal.gov.br/snif/producao-florestal/consumo)>. Acesso em 04 de novembro de 2017.
- Stewart, J. W. B. e Sharpley, A. N. (1987) Controls on dynamics of soil and fertilizer phosphorus and sulfúfur. In Soil fertility and organic matter as critical components of production. Eds. R F Follett. J. W. B. Stewart and C. V. Cole. Pp. 101-102. Soil Sci Soc Am Spec. Pub 19. AM. Soc. Agron., Madison. Wisconsin, USA.
- Tsumura N. e Sato T. (1960) Conversion of D-Glucose to D-Fructose by a Strain of Soil bacteria. *Agr. Chem. SOC Japan*, Vol. 24, Nº. 3, pi 3263.
- Turner, B. L., Cade-Menun, B. J., Condron, L. M., Newman, S. (2005) *Extraction of soil organic phosphorus*. *Talanta* 66. 294–306.
- Turner, B. L., Cheesman AW, Godage HY, Riley AM, Potter BVL (2012) Determination of neo- and D- chiro-inositol hexakisphosphate in soils by solution <sup>31</sup>P NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 46:4994–5002
- Turner, B.J., B.M.J. Engelbrecht. (2011) Soil organic phosphorus in lowland tropical rain forests. *Biogeochemistry* 103:297–315.

- Turner, B.L., Leytem, A.B. (2004) Phosphorus compounds in sequential extracts of animal manures: Chemical speciation and a novel fractionation procedure. *Environ. Sci. Technol.* 38:6101–6108. doi:10.1021/es0493042
- Turner, B.L., N. Mahieu, L.M. Condron. (2003) Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectral assignments of phosphorus compounds in soil NaOH–EDTA extracts. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67:497–510.
- Turner, B.L.; Papházy, M.J.; Haygarth, P.M., Mckelvie, I.D. (2002) Inositol phosphate in the environment. *Phil. Trans. Royal Society B.*, 357:449-469.
- Yang, X.; Post, W. M. (2011) Phosphorus transformation as a function of pedogenesis: A synthesis of soil phosphorus data using Hedley fractionation method. *Biogeosciences.* 8, 2907–2916.

### 3.2 FÓSFORO DO SOLO EM FLORESTAS PLANTADAS DE EUCALIPTO NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL: MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

#### RESUMO

Os solos brasileiros possuem solos com alto grau de intemperismo, influenciado pelo clima tropical, acarretando em altos índices de óxidos de Fe e Al que adsorvem especificamente o fósforo (P) no solo, indisponibilizando o nutriente para as culturas. A maximização do desenvolvimento das culturas está associada à disponibilidade de P e no Brasil este nutriente é o maior limitador de produtividade do eucalipto. A determinação da fração orgânica de P é marcada por diversos problemas metodológicos, em particular, em solos tropicais. O conhecimento aprofundado das frações e quantificação do teor de P possibilita um real conhecimento da situação do solo para a adoção de um manejo eficiente. Para isso é importante testar diferentes extratores e métodos que ajudem na avaliação dos teores reais de P total, P inorgânico e P orgânico, considerando a última forma, nas condições dos solos brasileiros, uma importante fonte de P às plantas via decomposição e mineralização da fração. Neste contexto, os estudos das frações de P necessitam de uma maior compreensão do ciclo do nutriente. O objetivo deste trabalho foi avaliar, através de uma comparação de diferentes métodos de extração de P, qual é mais eficiente. Para extração do P foram utilizadas as metodologias de Hedley, Bowman, NaOH+EDTA e digestão sulfúrica, este último como referência. Os maiores teores extraídos de P total foram pelo método de Hedley com valor médio de 401 mg kg<sup>-1</sup> (variando de 204 a 739 mg kg<sup>-1</sup>), seguido da digestão sulfúrica

( $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{H}_2\text{O}_2$ ) com variações entre 276 a 430  $\text{mg kg}^{-1}$  (média de 384  $\text{mg kg}^{-1}$ ). Para o P total pelo método de Bowman e a extração com NaOH+EDTA se aproximaram com médias de 148 e 226  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente. Para a fração de P orgânico as médias verificadas entre os métodos de Hedley e NaOH+EDTA se aproximaram, com teores variando 58 a 273  $\text{mg kg}^{-1}$  (Hedley) e 81 e 214  $\text{mg kg}^{-1}$  (NaOH+EDTA). Nesta fração de P orgânico o método de Bowman extraiu menos de 50% da média do teor de P, quando comparado aos demais métodos de extração. O P inorgânico foi similar entre os métodos analíticos, tendo o método de Bowman extraído uma média de 106  $\text{mg kg}^{-1}$ , o fracionamento de Hedley com média de 105  $\text{mg kg}^{-1}$  e o extrator NaOH+EDTA com teor médio de 95  $\text{mg kg}^{-1}$ . O método de fracionamento de Hedley e a extração com NaOH+EDTA se mantiveram semelhantes quanto à eficiência de extração e recuperação do P no solo, porém o fracionamento é um método demorado e caro. Assim, o mais recomendado entre os métodos analisados é a extração de P através do extrator NaOH+EDTA, sendo tão eficiente quanto o Hedley, porém é mais simples, executável e rápido, além de possibilitar uma taxa reduzida de erro na quantificação dado a necessidade de apenas uma única amostra para extração dos compartimentos de P no solo.

## INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma área de 10.023.076 ha de florestas comerciais plantadas, com espécies de eucalipto representando 75% (7.543.707 ha) da área total (SNIF, 2017). A grande expansão das florestas de eucalipto na região tropical deve-se a uma ampla capacidade de adaptação e desenvolvimento da espécie, que possui uma rápida expansão radicular, elevada tolerância à deficiência de bases no solo, toxicidade por Al e acidez do solo (Costa et al., 2016). Entretanto, diversos fatores ambientais podem alterar, ou até mesmo limitar, o desenvolvimento e estabelecimento de uma floresta de eucalipto, e que estão intimamente ligados à disponibilidade de água e balanço de nutrientes no sistema solo-planta (Barros e Comerford, 2002; Santana et al., 2008). Segundo Bazani et al. (2014), a fertilização mineral é responsável por ampliar entre 30% a 50% a produção de madeira florestal. Por outro lado, a busca na sustentabilidade de ecossistemas produtivos tem ampliado ações de manejo adequado, subsidiado no amplo conhecimento das



necessidades fisiológicas e biodisponibilidade dos nutrientes em solos (nitrogênio e fósforo) de florestas plantadas de eucalipto.

Solos tropicais fortemente intemperizados possuem uma elevada deficiência de fósforo (P) causada pela elevada capacidade de adsorção de P à fase mineral. Esses sistemas possuem, predominantemente, caráter drenó que fixa a maior porção de P adicionado via fertilização mineral. A deficiência de P em solos tropicais é, portanto, um dos principais fatores nutricionais limitantes à produção vegetal (Grierson et al., 2004). Assim, condições em que a diminuição dos estoques de P no solo impõe sobre florestas plantadas de eucalipto, na forma de deficiência nutricional, mostram a necessidade crescente de aplicação de elevadas quantidades de fertilizantes fosfatados em sistemas florestais em sua fase de desenvolvimento. Contudo, ao longo dos últimos anos, a limitação do uso de P mineral é uma realidade, pois as reservas de P no solo são um recurso finito e não renovável em curto prazo (Laclau et al., 2010). Portanto, a quantificação de P e suas diferentes formas de disponibilidade no solo são relevantes para a manutenção da produção vegetal.

Nesse sentido, o P orgânico ( $P_o$ ) do solo torna-se um importante *pool* de reserva em solos tropicais, com a capacidade de suprir P à cobertura vegetal através de processos biogeoquímicos de mineralização (Condrón et al., 2005). Contribuir para o estudo das transformações do P no solo é um ponto estratégico na adoção de planos de manejo eficientes. Portanto, se faz necessário o aumento da disponibilidade de P às plantas e microrganismos através da ciclagem do  $P_o$  que é aportado ao solo por meio de resíduos vegetais que compõem a serapilheira de ecossistemas tropicais produtivos com elevado grau de intemperismo (Fontes et al., 2014). O ponto central da discussão acerca das metodologias que buscam estimar o P no solo tem como foco as concentrações do P inorgânico ( $P_i$ ) prontamente disponível à cobertura vegetal, para estimar a necessidade de fertilização fosfatada. Dentre as metodologias mais comumente adotadas, a extração ácida de P (P-Mehlich<sup>-1</sup>) figura como a mais utilizada para estimar o P disponível para o manejo da fertilidade do solo em florestas plantadas de eucalipto. Contudo, o método P-Mehlich<sup>-1</sup> não leva em consideração outras formas de P no solo que poderiam ser fontes para a cobertura vegetal. Como os valores de P obtidos pelo extrator Mehlich<sup>-1</sup> são muito baixos em solos com alta capacidade tampão da acidez de solos tropicais (Novais e Smyth, 1999), as atuais

recomendações poderiam superestimar as necessidades de aplicação de fertilizantes fosfatados principalmente em sistemas de produção de baixos insumos.

Outra metodologia comumente aplicada é a utilização do ácido sulfúrico para digestão completa do solo e obtenção do teor de P presente no solo (Olsen e Sommers, 1982), para que ocorra a decomposição da amostra, ou seja, para que a amostra seja digerida. Esta digestão ocorre através da decomposição de compostos orgânicos e inorgânicos empregando o ácido sulfúrico juntamente com a água oxigenada para otimizar o poder oxidante e aquecendo o material.

Diversos métodos são utilizados na análise de  $P_o$  no solo através de soluções extratoras, onde o elemento é retirado da fase sólida do solo por atuação de solvente ácido, por substituição de ânions, ou por complexação ou hidrólise de cátions combinados com P (Rodrigues, 2016). No geral, as formas e as transformações de P no solo de ecossistemas diversos continuam não totalmente compreendidas, mesmo com avanços em metodologias baseadas na extração de  $P_o$  no solo. A extração sequencial de P proposto por Hedley et al. (1982) figura como um método amplamente utilizado nos mais diversos estudos sobre as transformações de P em diferentes classes de solos e usos da terra, tanto em ecossistemas temperados como tropicais (Negassa e Leinweber, 2009; Condon e Newman, 2011). A extração sequencial permite caracterizar diferentes frações de  $P_i$  e  $P_o$  em uma escala de variação de solubilidade com base nas alterações de diferentes níveis de pH e força extratora, em ordem decrescente de labilidade no solo (Costa et al., 2016; Aleixo et al., 2017, Oliveira et al., 2018).

A extração sequencial de Bowman (1989), é considerada adequada para comparação de níveis de P em diferentes classes de solos tropicais (Condon et al., 1990), sobretudo acerca da dinâmica de  $P_o$  total do solo em pastagens e sistemas florestais tropicais (Cunha et al., 2007; Zaia et al., 2008a, 2012; Rita et al., 2013; Oliveira et al., 2014). Pode-se, ainda, complementarmente a essa metodologia, determinar a fração de  $P_o$  lábil extraída em bicarbonato de sódio (Bowman e Cole, 1978) utilizada para calcular as taxas de mineralização da fração lábil ao fósforo disponível à cobertura vegetal.

A extração proposta por Bowman e Moir (1993) utiliza uma fonte alcalina de NaOH associado ao  $Na_2EDTA$ , pois, assim, há uma junção do poder do bicarbonato de sódio que eleva o pH do solo e maximiza assim a solubilização das espécies de

P (Aleixo, 2018) com o poder de complexar os íons paramagnéticos de Fe e Al ampliando a taxa no percentual de recuperação de P, aprimorando a técnica de extração.

Apesar dos diversos métodos apresentarem eficiência na extração do P, a natureza do solo deve ser considerada, visto que ela pode influenciar no percentual de recuperação dos compartimentos de P (Turner et al., 2005). Estudos realizados comparando metodologias de extração de P mostraram diferenças nas determinações do nutriente, principalmente relacionando com o grau de intemperismo do solo estudado (Condrón et al., 1990). Além disso, alguns métodos propostos para avaliar os compartimentos de P no solo são pouco reprodutíveis e demandam múltiplos passos, aumentando a possibilidade de erros nas determinações (Bowman e Moir, 1993). Assim, estudos em solos tropicais comparando os métodos podem auxiliar na obtenção da melhor quantificação deste teor e, conseqüentemente, a uma aproximação mais real da situação do solo para a adoção de um manejo que propicie a maximização na utilização dos recursos naturais. Em climas tropicais, o P orgânico desempenha um papel fundamental na ciclagem do nutriente e faz-se necessário, então, uma avaliação precisa de seus teores no solo (Condrón et al., 1990). Apesar de existirem diversos artigos sobre a dinâmica do P no solo, há poucos estudos englobando solos tropicais com plantações de eucalipto além de basear-se principalmente em métodos de extração como o Mehlich<sup>-1</sup> e por resina extraída (Barros e Novais, 1999), sem considerar a dinâmica biogeoquímica e os *pools* orgânicos de P do solo que podem ser utilizados como fonte de nutrientes para a planta. Este trabalho teve como objetivo avaliar solos tropicais, altamente intemperizados, através de uma comparação de métodos sobre qual extração é mais eficiente na quantificação do P no solo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Descrição dos Sítios

O presente estudo foi realizado em sistemas florestais com eucalipto (*E. grandis* e *E. urophylla*, *E. grandis* (Parb.), *E. grandis* (G-232), *E. grandis* (Suz.)) em

9 sítios de diferentes condições edafoclimáticas e de manejo, distribuídos em sete municípios do estado de São Paulo (Tabela 1). As idades dos sítios variaram de 1,4 a 11,0 anos com um espaçamento de 3,0 x 2,0, exceto para os sítios CB1 com espaçamento de 3,0 x 3,0 e o sítio PA com espaçamento de 3,0 x 2,5 m. O clima nos municípios onde foram coletados os solos é considerado Cwa, segundo a classificação de Köppen, que configura um clima temperado úmido com inverno seco e verão quente, exceto para o sítio AG que foi caracterizado como Aw sendo o clima tropical com estação seca de inverno e temperaturas médias no mês mais frio do ano superior a 18°C. Com uma temperatura média entre os sítios de 20,5°C, variando de 19,9 a 21,6°C.

Na tabela 2 encontra-se apresentado o histórico de manejo da área dos sítios estudados. Tendo sido o solo coletado em áreas experimentais, onde são realizados diversos ensaios de fertilização, foram selecionadas parcelas com e sem fertilização de P no plantio, porém, para efeito de estudo todas as áreas foram consideradas sem adubação à base de P, visto que a amostragem de solo foi feita nas entrelinhas de plantio, não sofrendo influência da adubação em sulco de plantio. Em todos os sítios foram coletadas dez amostras simples de solo em cada parcela experimental (3 parcelas por sítio) na profundidade de 0–20 cm em um transecto diagonal à área útil das parcelas, nas entrelinhas de plantio, em 2010. As amostras simples deram origem a uma amostra composta por parcela, que foi seca ao ar, homogeneizada, destorroada e passada em peneira de 2 mm. Estas amostras foram usadas para as caracterizações físicas e químicas e determinação das frações de P.

Tabela 1 - Composição dos arranjos experimentais, com espécies, área útil de parcela, plantas por parcela, tipo de clima segundo a classificação de Köppen, temperatura (T) e precipitação (PP) médias anuais, e tipo e textura do solo do povoamento de diferentes sítios de eucalipto.

Sítios*	VOT <sup>(1)</sup>	CB3 <sup>(2)</sup>	CB2 <sup>(3)</sup>	CB1 <sup>(4)</sup>	PA <sup>(5)</sup>	BOT <sup>(6)</sup>	ITA <sup>(7)</sup>	ANG <sup>(8)</sup>	AG <sup>(9)</sup>
Área útil (m <sup>2</sup> )	96	144	144	360	180	144	144	216	144
Plantas por parcela	16	24	24	40	24	24	24	36	24
PP (mm)	1287	1210	1210	1210	1249	1302	1308	1262	1170
Solo <sup>(10)</sup>	PVAd	CXBd	LVd	LAd	LVAd	RQ	LVAd	RQ	LVd
Textura	muito argilosa	média	Muito argilosa	argilosa	argilosa	arenosa	média	arenosa	média

\*Sítios: (1) Votorantim; (2) Capão Bonito 3; (3) Capão Bonito 2; (4) Capão Bonito 1; (5) Paraibuna; (6) Botucatu; (7) Itatinga; (8) Angatuba; (9) Agudos, (10) Conforme EMBRAPA (1999): LVd = Latossolo Vermelho distrófico, RQ = Neossolo Quartzarênico, LAd = Latossolo Amarelo distrófico, CXBd = Cambissolo Háplico distrófico, LVAd = Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, PVAd = Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico. (Adaptado de Costa, 2016).

Tabela 2- Histórico de manejo dos sítios de eucalipto.

Sítios	Adubações	Adubação Complementar no Plantio	Adubação de Cobertura
VOT <sup>(1)</sup>	183 kg ha <sup>-1</sup> (Formulado NPK: 04-28-06)	10% de Ca, 4% de S, 0,3% de Cu e 0,7% de Zn	3 meses (~41 kg de K <sub>2</sub> O e 0,3% de B e 1% de Zn) e 9 meses (~126 kg de K <sub>2</sub> O e 1,5% de B)
CB3 <sup>(2)</sup>	183 kg ha <sup>-1</sup> (Formulado NPK: 04-28-06)	10% de Ca, 4% de S, 0,3% de Cu e 0,7% de Zn	3 meses (~40 kg de K <sub>2</sub> O e 1,5% de B), 6 meses (~75 kg de K <sub>2</sub> O, 0,5% de B e 1% de Zn) e 12 meses (~60 kg de K <sub>2</sub> O, 0,7% de B e 1% de Zn)
CB2 <sup>(3)</sup>	183 kg ha <sup>-1</sup> (Formulado NPK: 04-28-06)	10% de Ca, 4% de S, 0,3% de Cu e 0,7% de Zn	3 meses (~41 kg de K <sub>2</sub> O e 1,5% de B), 6 meses (~36 kg de K <sub>2</sub> O, 0,5% de B e 1% de Zn) e 12 meses (~35 kg de K <sub>2</sub> O, 0,7% de B e 1% de Zn);
CB1 <sup>(4)</sup>	190 kg ha <sup>-1</sup> (Formulado NPK: 04-28-06)	0,3% B	3 e 9 meses (8 kg ha <sup>-1</sup> de B)
PA <sup>(5)</sup>	120 kg ha <sup>-1</sup> (Formulado NPK: 04-28-06)	2,4% de Mg	SA
BOT <sup>(6)</sup>	18 kg ha <sup>-1</sup> (N e K <sub>2</sub> O)	13% S e 10% B	SA
ITA <sup>(7)</sup>	SA <sup>(10)</sup>	as	SA
ANG <sup>(8)</sup>	AS	as	SA
AG <sup>(9)</sup>	15 kg ha <sup>-1</sup> (N e K <sub>2</sub> O)	13% S e 10% B	SA

\*Sítios: <sup>(1)</sup> Votorantim; <sup>(2)</sup> Capão Bonito 3; <sup>(3)</sup> Capão Bonito 2; <sup>(4)</sup> Capão Bonito 1; <sup>(5)</sup> Paraibuna; <sup>(6)</sup> Botucatu; <sup>(7)</sup> Itatinga; <sup>(8)</sup> Angatuba; <sup>(9)</sup> Agudos; <sup>(SA)</sup> Sem Adubação.

## Caracterização física e química do solo

A caracterização química (Raij et al., 2001) e física (Embrapa, 1999) dos solos é mostrada na tabela 3. Verifica-se que os sítios apresentaram grande variabilidade nos atributos físicos e químicos. Os solos foram caracterizados como muito ácidos, em geral pH < 4,5, e o Ca orgânico do solo variou de 8,7 a 29 g dm<sup>-3</sup>. Os teores de K e Ca são considerados inadequados para a maioria dos sítios e os teores de Mg adequados para todos os sítios, para uma produtividade de 50 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, com base nos níveis críticos para eucalipto (Barros e Novais, 1999). O baixo nível de bases (Ca e K) e a elevada acidez potencial (H+Al) refletiram em níveis de saturação por bases (V%) abaixo do ideal (30%), para a maioria dos sítios, apesar da saturação por alumínio (m) estar dentro do máximo tolerável para o eucalipto (45%), para a maioria dos sítios (Alvarez e Ribeiro, 1999).

Tabela 3 – Caracterização física e química do solo, em povoamento de diferentes sítios de eucalipto.

Sítios	Argila	C	P <sup>1</sup>	pH	K	Ca	Mg	T	m	V
	g kg <sup>-1</sup>	g dm <sup>-3</sup>	mg kg <sup>-3</sup>	CaCl <sub>2</sub>	-----	mmolc dm <sup>-3</sup>	-----	-----	%-----	-----
VOT <sup>(1)</sup>	670	29,0	2,20	4,0	5,0	5,0	2,1	125,6	58,4	9,0
CB3 <sup>(2)</sup>	272	12,8	3,47	4,1	1,4	9,9	9,5	102,5	43,9	21,0
CB2 <sup>(3)</sup>	653	20,3	1,36	4,4	2,7	15,2	9,3	107,3	31,8	25,0
CB1 <sup>(4)</sup>	478	16,2	1,38	3,9	1,2	1,7	2,3	94,9	78,2	5,0
PA <sup>(5)</sup>	365	12,2	2,13	4,1	1,9	6,8	4,2	58,0	33,8	22,0
BOT <sup>(6)</sup>	100	8,7	8,33	4,0	0,4	4,0	5,0	49,5	36,9	25,0
ITA <sup>(7)</sup>	193	11,0	2,38	2,6	0,9	2,1	2,4	65,6	67,8	8,0
ANG <sup>(8)</sup>	100	10,4	8,46	4,0	0,6	5,0	2,5	47,0	44,5	17,0
AG <sup>(9)</sup>	167	12,2	3,98	3,9	4,8	4,8	2,4	70,7	52,2	17,0

\*Sítios: (1) Votorantim; (2) Capão Bonito 3; (3) Capão Bonito 2; (4) Capão Bonito 1; (5) Paraibuna; (6) Botucatu; (7) Itatinga; (8) Angatuba; (9) Agudos; P<sup>1</sup> Mehlich<sup>-1</sup>; m - Saturação por alumínio; T - Capacidade de troca de cátions a pH 7; V - Saturação por bases. (Adaptado de Costa, 2016).

## Métodos de análise de P no solo

Os dados utilizados referentes às extrações de fósforo com o fracionamento de Hedley et al.(1982) e através da extração pela metodologia proposta por

Bowman em 1989 foram extraídas do artigo de Costa et al. (2016) e da tese de Costa (2015), respectivamente.

Fracionamento de P do solo: Hedley (1982)

As frações de P do solo foram extraídas sequencialmente usando o método de Hedley et al., com modificações que separam o P do solo em cinco frações inorgânicas, três orgânicas e uma residual. A técnica consiste em extrair sequencialmente as frações de P, adicionando extratores com forças químicas de extração diferentes, que variam de menor até a maior força. Assim, extraem-se sucessivamente as frações de P orgânicas e inorgânicas presentes no solo nas formas mais lábeis até as mais recalcitrantes. Desta forma, obtêm-se:

A fração de P inorgânica extraída com resina trocadora de ânions (RTA):  $P_i$ -Resina;

A extração da fração mais lábil, facilmente mineralizável, de P orgânico e inorgânico é obtida pelo extrator  $\text{NaHCO}_3$  ( $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ):  $P_i$  e  $P_o\text{-NaHCO}_3$ ;

Na sequência, é extraído o P ligado aos óxidos de ferro e alumínio constituindo a fração orgânica e inorgânica de P pouco ou moderadamente lábil com a utilização do extrator  $\text{NaOH}$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ):  $P_i$  e  $P_o\text{-NaOH}$ ;

Para extração da fração orgânica e inorgânica de P retida no interior dos agregados é utilizada uma solução de  $\text{NaOH}$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) associada à sonificação:  $P_i$  e  $P_o\text{-Ocluso}$ ;

O P ligado ao Ca, oriundo de material primário, representa uma fração inorgânica, extraída com ácido clorídrico ( $\text{HCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$ ):  $P_i\text{-HCl}$ ;

E por último, é realizada uma digestão com  $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$  para obtenção da fração mais recalcitrante do P no solo: P-residual.

Nos extratos foram determinadas as frações  $P_i$  e P residual, pelo método colorimétrico de Murphy e Riley (1962) após o ajuste do pH, usando *p*-nitrofenol como indicador. As frações  $P_t$  pelo método colorimétrico de Dick e Tabatabai (1977). O  $P_{\text{HEDLEY}}$  orgânico total foi calculado pelo somatório das frações orgânicas ( $P_o\text{-NaHCO}_3 + P_o\text{-NaOH} + P_o\text{-Ocluso}$ ). O  $P_{\text{HEDLEY}}$  inorgânico total foi calculado pela soma de  $P_i$ -resina,  $P_i\text{-NaHCO}_3$ ,  $P_i\text{-NaOH}$ ,  $P_i\text{-Ocluso}$  e  $P_i\text{-HCl}$ . O  $P_{\text{HEDLEY}}$  total foi



calculado somando todas as frações obtidas com o fracionamento, incluindo o P residual.

#### Determinação de P do solo: Bowman (1989)

A extração do P foi realizada com a utilização do método de extração ácido-base de Bowman (1989), que solubiliza substâncias orgânicas por meio de uma inserção ácida ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  18 mol  $\text{L}^{-1}$ ) seguida por uma inserção básica (NaOH 0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ ) para neutralizar o extrato. O  $\text{P}_{\text{BOWMAN}}$  orgânico foi extraído junto às substâncias orgânicas, destruídas posteriormente por digestão do extrato. Como modificação deste método, adotou-se a proposta de Guerra et al. (1996), com o objetivo de clarear o extrato para a determinação do  $\text{P}_{\text{BOWMAN}}$  inorgânico extraído, utilizando carvão ativado livre de P inorgânico, evitando, assim, influenciar nas amostras, passando por sucessivas lavagens com a mesma solução extratora, com exceção para extração com  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , em que o carvão é lavado com HCl 6 mol  $\text{L}^{-1}$ .

Foi determinado o  $\text{P}_{\text{BOWMAN}}$  inorgânico, nos extratos clarificados (ácidos e alcalinos), pelo método de Murphy e Riley (1962). Os conteúdos de  $\text{P}_{\text{BOWMAN}}$  inorgânico, total e orgânico foram determinados nos extratos ácidos e alcalinos, onde:

$$\begin{aligned}\text{P}_{\text{BOWMAN}} \text{ orgânico total} &= \text{P}_{\text{BOWMAN}} \text{ orgânico}^{\text{Ácido}} + \text{P}_{\text{BOWMAN}} \text{ orgânico}^{\text{Alcalino}} \\ \text{P}_{\text{BOWMAN}} \text{ orgânico}^{\text{Ácido}} &= \text{P total}^{\text{ácido}} \text{ (digerido)} - \text{P inorgânico}^{\text{ácido}} \text{ (extraído)} \\ \text{P}_{\text{BOWMAN}} \text{ orgânico}^{\text{Alcalino}} &= \text{P total}^{\text{Alcalino}} \text{ (digerido)} - \text{P inorgânico}^{\text{Alcalino}} \\ &\text{ (extraído)}\end{aligned}$$

Para isso, pesa-se 2,0 g de solo seco ao ar em tubos Falcon e adiciona ao solo 3 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado (18 mol  $\text{L}^{-1}$ ) e agita-se o tubo suavemente até que o solo fique imerso completamente na solução ácida. Em seguida, adiciona-se 4 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilado (1 mL por vez), agitando suavemente o tubo à cada adição. Adiciona-se ao extrato mais 43 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada e, novamente, agita-se o tubo. Leva-se, então, o tubo Falcon à centrifuga por 10 min à 1500 x g. Ao final do tempo, o sobrenadante é filtrado (em papel filtro Whatman nº 42) e transferido para outro recipiente. O papel filtro utilizado é colocado junto ao tubo Falcon que contém o

solo e a ele adiciona-se 40 mL de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup>. Após adição da base, agita-se por 30 min à suspensão. Leva-se o tubo Falcon em banho-maria (80°C) e após o período de duas horas resfria-se o tubo em água corrente para posterior centrifugação e em seguida a filtragem como feita na extração ácida. Assim, obtêm-se os extratos ácido e alcalino. Retira-se então 5 mL de cada extrato para determinação do P total por digestão. Para digestão do extrato ácido, adiciona-se 1 mL de MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O saturado + 1 mL de HClO<sub>4</sub> concentrado e para o extrato básico acrescenta-se apenas 1 mL de HClO<sub>4</sub>. Leva-se o tubo ao bloco digestor a uma temperatura inicial de 80°C, chegando lentamente a atingir 180°C. Encerra-se a digestão quando há formação de um gel incolor no fundo do tubo de digestão. Espera-se o resfriamento do tubo, acrescenta ao gel 5 mL de H<sub>2</sub>O destilada e, novamente, aquece o tubo para que seja possível a transferência do líquido para um balão volumétrico e completa-se o volume a 50 mL. Retira-se então uma alíquota para quantificação do P total pelo método Murphy e Riley (1962), com neutralização da acidez pela adição de NaOH 5 mol L<sup>-1</sup> (gota a gota), em presença de p-nitrofenol e a leitura realizada em espectrofotômetro a 720 nm.

Para determinação do Pi, ácido e alcalino, em um frasco *snap-cap* adiciona-se 20 mL do extrato e junto a ele acrescenta-se 0,5 cm<sup>3</sup> de carvão ativado purificado e agita-se manualmente. Na sequência, filtram-se os extratos em papel filtro rápido. O extrato ácido de Pi clarificado e o extrato alcalino, foram então determinados pelo método de Murphy e Riley (1962) em espectrofotômetro à 720 nm.

#### Determinação de P do solo: extração com NaOH+EDTA (Bowman e Moir, 1993)

Foram utilizadas nove repetições de laboratório com 1,0 g de solo onde foi adicionado 10 mL de solução de 0,25 M NaOH + 50 mM EDTA e levadas para agitação “*end-over-end*” (120rpm) por 10 h em tubos falcon. Em seguida, os tubos foram centrifugados por 15 minutos por 5000 rpm e o sobrenadante foi filtrado em membranas de celulose de 45 µm. O teor de Pi no extrato foi determinado pelo método do molibdato-ácido ascórbico (Murphy e Riley, 1962) e o teor de P total foi após digestão pelo método de colorimetria de Dick e Tabatabai (1977).

Para a determinação do P total foi realizada a digestão dos extratos alcalinos com persulfato de amônio + ácido sulfúrico em autoclave. Para isso foram digeridos 1 mL do extrato com 10 mL de persulfato de amônio (7,5%) e 1 mL de ácido sulfúrico (1:1), em autoclave, por 3 horas a 121°C e 103 Kpa. Após o resfriamento do extrato digerido, o volume foi completado para 20 mL e as frações de P total nesses extratos foram analisadas pelo método proposto por Murphy & Riley (1962). Para a quantificação das frações inorgânicas, todos os extratos foram analisados por espectrofotometria a 882 nm, como proposto por Murphy e Riley (1962). O  $P_{\text{NaOH+EDTA}}$  orgânico foi calculado por diferença entre a concentração do  $P_{\text{NaOH+EDTA}}$  total e  $P_{\text{NaOH+EDTA}}$  inorgânico em cada extrato.

$$P_{\text{NaOH+EDTA}} \text{ orgânico} = P_{\text{NaOH+EDTA}} \text{ Total} - P_{\text{NaOH+EDTA}} \text{ inorgânico}$$

#### Determinação de P do solo: digestão sulfúrica

O P total foi determinado utilizando 0.1 g de solo em tubo de digestão, adicionado junto a ele 1 mL de cloreto de magnésio ( $\text{MgCl}_2$ ). Nos mesmos tubos foram adicionados 2.0 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado (1:1). Levaram-se os tubos ao bloco digestor aquecendo-os por 1 hora a 200°C e, após resfriamento, foram adicionados 2.0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e aquecido em bloco digestor por mais 1 hora a 100°C. Após seu resfriamento, o volume foi completado para 50 mL. O P total foi determinado após neutralizar a solução com uma gota de NaOH (10 mol/L), usando p-nitrofenol (0,25%) como indicador em espectrofotômetro à 882 nm. Esta extração foi usada para estimar a capacidade de recuperação de P pelos métodos em comparação. Da mesma forma, o P total extraído por digestão nitroperclórica (Bataglia et al., 1983), cedido de Costa (2015), foi usado para estimar a capacidade de recuperação de P total.

#### Análise estatística

Neste estudo, cada sítio foi tratado como uma pseudo-repetição. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Lilliefors, Kolmogorov-Smirnov

e Shapiro-Wilk e quando necessário foram transformados por raiz x. Os dados foram submetidos à análise descritiva e ao teste de médias, utilizando Tukey a 5% de probabilidade realizado através do programa R 3.2.1 (R Core Team, 2016) e o pacote “ExpDes.pt” (Ferreira et al., 2013). Correlações de Pearson foram estabelecidas entre as frações de P e entre as metodologias realizadas através do programa R 3.2.1 (R Core Team, 2016) e o pacote “ISwR” (Dalgaard, 2008). Para a construção do gráfico foi usado o programa SIGMAPLOT 12.0 (Systat Software inc.).

## RESULTADOS

Totais das formas orgânicas e inorgânicas de P em diferentes métodos de extração.

Valores de P orgânico total extraídos pelo fracionamento de Hedley e a extração com NaOH+EDTA foram substancialmente superiores aos teores determinados pelo método proposto por Bowman. Para o compartimento de P orgânico as médias dos teores de P entre os métodos de Hedley e NaOH+EDTA se aproximaram, variando 58 a 273 mg kg<sup>-1</sup> (Hedley) e 80 a 214 mg kg<sup>-1</sup> (NaOH+EDTA). Já o P orgânico extraído por Bowman quantificou, em média, menos de 50 mg kg<sup>-1</sup>, sendo o menos eficiente na quantificação desta fração quando comparado aos demais métodos de extração (tabela 4). O P inorgânico obteve semelhantes médias entre os métodos analíticos, tendo o método de Bowman extraído uma média de 106 mg kg<sup>-1</sup>, o fracionamento de Hedley com média de 105 mg kg<sup>-1</sup> e o extrator NaOH+EDTA com teor médio de 95 mg kg<sup>-1</sup>, como descritos na tabela 4. A fração inorgânica do P para as metodologias avaliadas não diferiu, significativamente, entre si ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 1).

De acordo com a análise descritiva os maiores teores extraídos de P total foram obtidos pelo método de Hedley com valor médio de 401 mg kg<sup>-1</sup> (variando de 204 a 739 mg kg<sup>-1</sup>). Seguido da digestão sulfúrica (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) com variações entre 276 a 430 mg kg<sup>-1</sup> (média de 384 mg kg<sup>-1</sup>). Para o P total o método de Bowman, extração com NaOH+EDTA e a digestão nitroperclórica se aproximaram com médias de 148, 226 e 234 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Verificou-se a diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) no compartimento de P total entre a digestão sulfúrica

(método mais rotineiro) e a extração pelo fracionamento de Hedley com os métodos de Bowman, extração com NaOH+EDTA e digestão nitroperclórica. Sendo que estes conjuntos: digestão sulfúrica + Hedley e Bowman + NaOH+EDTA + digestão nitroperclórica não diferiram, significativamente, entre si (Figura 1).

Tabela 4 - Frações de P nos diferentes tipos de extrações.

Sítios	VOT	CB3	CB2	CB1	PA	BOT	ITA	ANG	AG	Médias	CV	
----- mg kg <sup>-1</sup> -----											%	
P total	Dig. Nitroperclórica	523	254	357	266	239	92	161	107	103	234	56,9
	Dig. Sulfúrica	430	420	411	416	419	276	383	300	404	384	13,9
	Hedley	739	413	523	413	438	290	310	282	204	401	37,5
	Bowman	284	168	239	184	120	79	79	82	99	148	48,0
	NaOH+EDTA	410	247	264	230	220	146	194	187	137	226	33,8
P inorgânico	Hedley	134	116	138	126	127	78	75	85	64	105	26,0
	Bowman	212	112	172	137	86	49	63	55	67	106	51,0
	NaOH+EDTA	197	106	120	91	71	66	103	50	50	95	45,4
P orgânico	Hedley	273	131	170	117	122	103	93	99	58	130	45,0
	Bowman	72	56	67	47	34	30	16	27	32	42	42,8
	NaOH+EDTA	214	142	144	139	149	80	91	137	87	131	29,7

\* Sítios representados pelas siglas: VOT – Votorantim, CB3 - Capão Bonito 3, CB2 - Capão Bonito 2, CB1 - Capão Bonito 1, PA - Paraibuna, BOT – Botucatu, ITA – Itatinga, ANG - Angatuba, AG – Agudos.

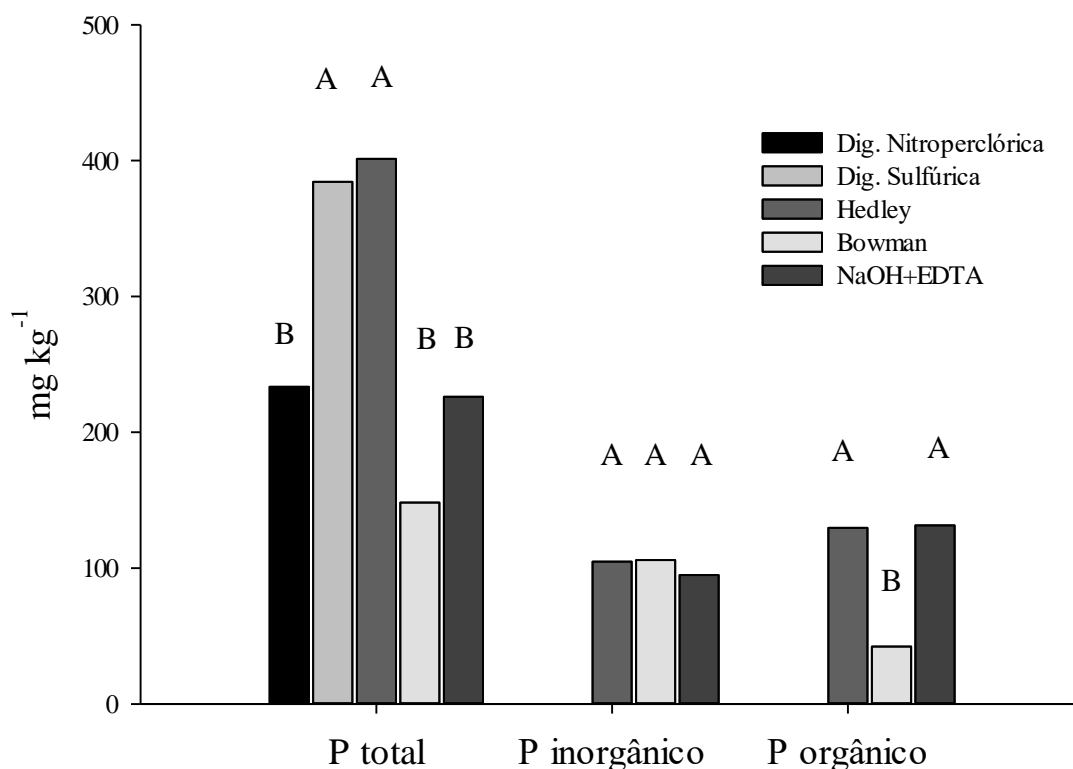


Figura 1 – Teores médios de fósforo segundo os diferentes métodos analíticos utilizados para extração de fósforo. Médias seguidas nas mesmas letras, por fração de fósforo não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### Correlação entre os métodos de extração de fósforo do solo

Por meio das correlações de Pearson, observou-se que entre os métodos de P orgânico (Figura 2), obtiveram correlação positiva os métodos de Hedley com Bowman ( $r = 0,82$ ,  $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ) e NaOH+EDTA ( $r = 0,88$ ,  $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ), além da extração com NaOH+EDTA se correlacionar positivamente também com o método de Bowman ( $r = 0,77$ ,  $p < 0,05$ ,  $n = 9$ ). A fração orgânica de P se diferenciou entre os métodos comparados, tendo o fracionamento de Hedley sido capaz de recuperar 33,6% de P, a extração por NaOH+EDTA 34,2% e a metodologia de Bowman apenas 10,9% de P, extraído por digestão sulfúrica (Figura 5) e este resultados aumentam quando comparados ao P total por digestão nitroperclórica, onde o fracionamento de Hedley foi capaz de recuperar 62,8 de P, a extração por NaOH+EDTA 67,5,3% e a metodologia de Bowman apenas 20,6% (Figura 6).

A diferença entre o P total e o somatório de P inorgânico e P orgânico através do fracionamento de Hedley é o teor do P residual, fração esta que é considerada como o P mais recalcitrante, que foi desconsiderada a título de comparação de frações. Algumas metodologias se correlacionaram, destacando-se as correlações positivas para a extração de P total entre os métodos de NaOH+EDTA/Hedley ( $r = 0,97$   $p < 0,001$ ,  $n = 9$ ), Bowman/Hedley ( $r = 0,89$   $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ) e Bowman/NaOH+EDTA ( $r = 0,88$   $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ), em povoamento de diferentes sítios de eucalipto (Figura 4). A digestão nitroperclórica se destacou correlacionando-se com todos os métodos de extração avaliados, diferente do P extraído por digestão sulfúrica que não se correlacionou com nenhum outro método avaliado. Já para o P inorgânico destacaram-se positivamente as correlações entre NaOH+EDTA/Bowman ( $r = 0,87$   $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ) e Bowman/Hedley ( $r = 0,83$   $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ). (Figura 3).

Como a digestão sulfúrica é um método de baixo custo e de robustez que extrai o P total do solo sendo o método mais utilizado, os demais métodos e seus compartimentos foram comparados a ele através de uma taxa de recuperação, em porcentagem, do quanto de P os demais métodos extraem em função dessa digestão com  $H_2SO_4+H_2O_2$ . Foi determinado (Figura 5) que o compartimento de P total extraído pelo método de Hedley foi superior à digestão sulfúrica com uma recuperação de 103,5%. O método com o extrator NaOH+EDTA conseguiu recuperar mais da metade do P extraído com  $H_2SO_4+H_2O_2$ , chegando a, aproximadamente, 60%. Já o método proposto por Bowman ficou bem abaixo, com uma taxa de recuperação que não ultrapassou 40% de P extraído. Para o *pool* inorgânico de P a taxa de recuperação dos três métodos foi aproximadamente igual, ficando próximas de 30%, sendo que o fracionamento por Hedley recuperou 27,2% do P, o método de Bowman recuperou 26,7% e a extração com NaOH+EDTA recuperou 24,3%, não diferindo entre si.

A digestão nitroperclórica também foi utilizada como recurso se comparada aos métodos avaliados por uma taxa de recuperação, em porcentagem (figura 6). Como a digestão nitroperclórica teve uma taxa de recuperação de 61% em relação a digestão sulfúrica, dada diferença na força de digestão dos ácidos em questão, os teores obtidos por esta extração se aproximaram mais dos teores obtidos pelos métodos de Hedley, Bowman e NaOH+EDTA, fazendo assim com que sua taxa de recuperação fosse mais alta, quando comparada a estes métodos. O P inorgânico



teve uma taxa, em média de 48,9%, com um acréscimo de 22,8 % em relação à digestão sulfúrica. Para o P total essa diferença foi ainda maior, onde o Hedley passou de 103,5% para 195,4%, o método Bowman apesar de também ter sido mais alto, continuou tendo a pior porcentagem entre os outros métodos com uma média de 68,3% e a extração com NaOH+EDTA chegou mais próximo ao digerido com solução nitroperclórica, ultrapassando-a, com uma média de 112,8%.

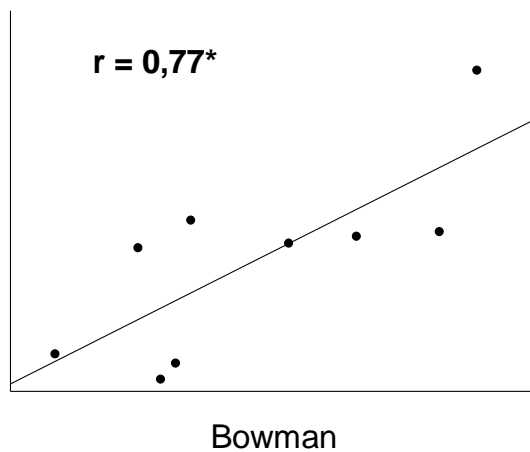
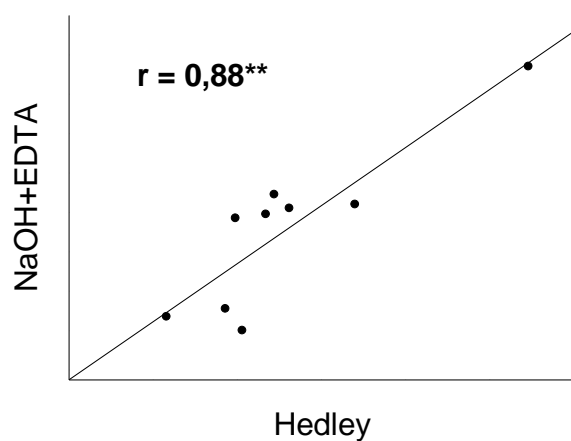
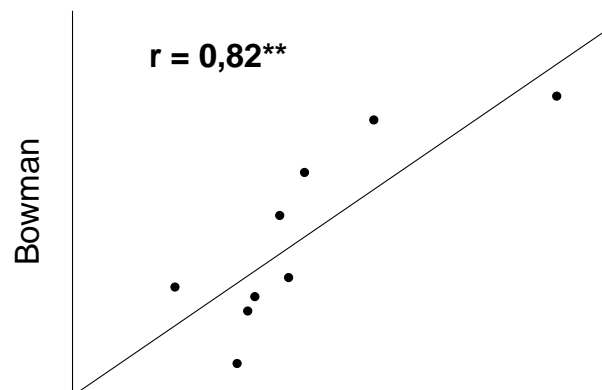


Figura 2 - Correlação de Pearson entre os diferentes métodos de extração de P orgânico do solo. Significância alfa=\*\*\*0,001, \*\*0,01 e \* 0,05

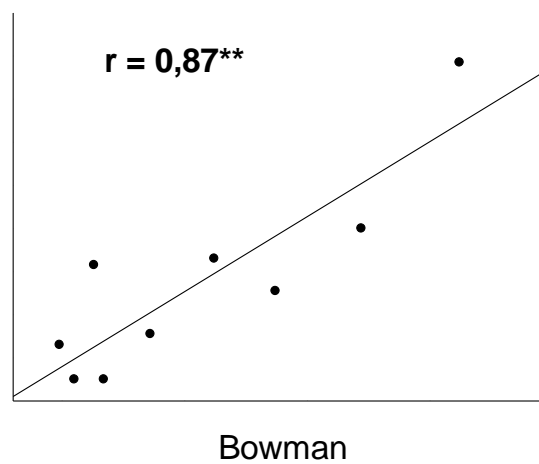
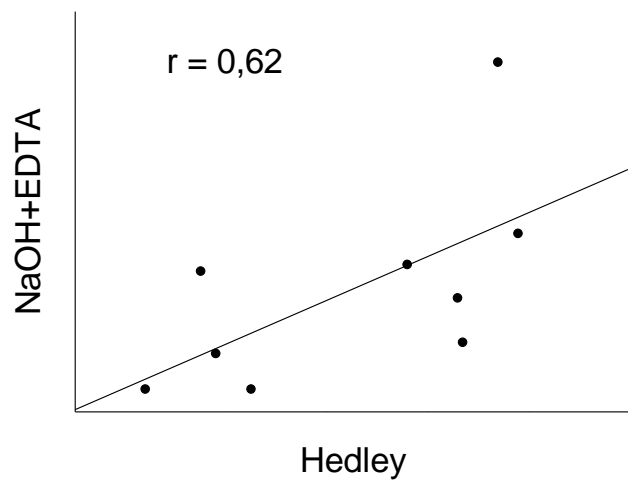
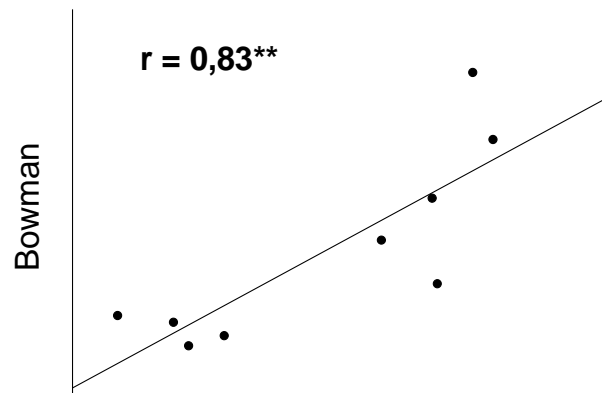


Figura 3 - Correlação de Pearson entre os diferentes métodos de extração de P inorgânico do solo. Significância alfa=\*\*\*0,001, \*\*0,01 e \* 0,05

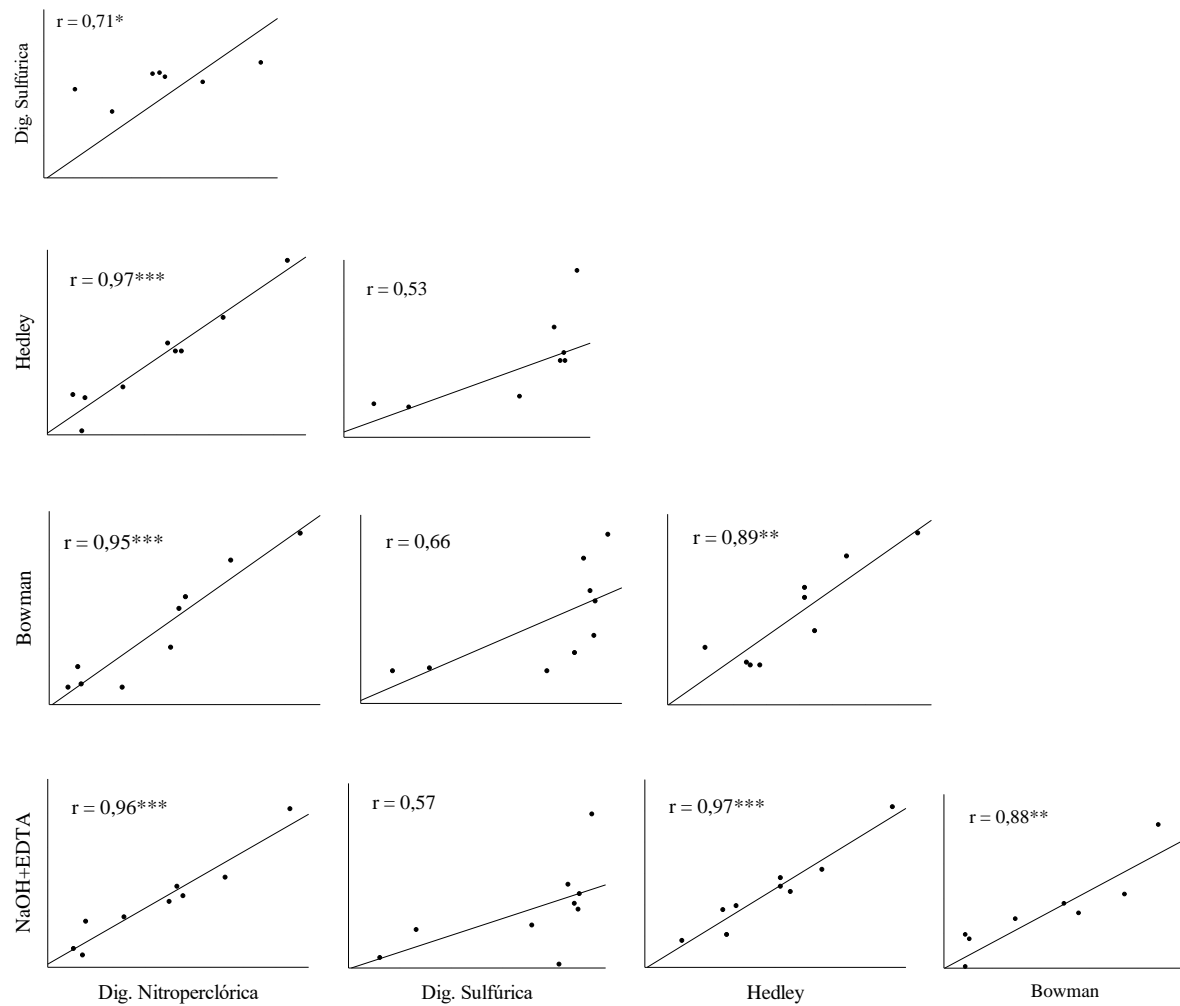


Figura 4 - Correlação de Pearson entre os diferentes métodos de extração de P total do solo. Significância alfa=\*\*\*0,001, \*\*0,01 e \*0,05

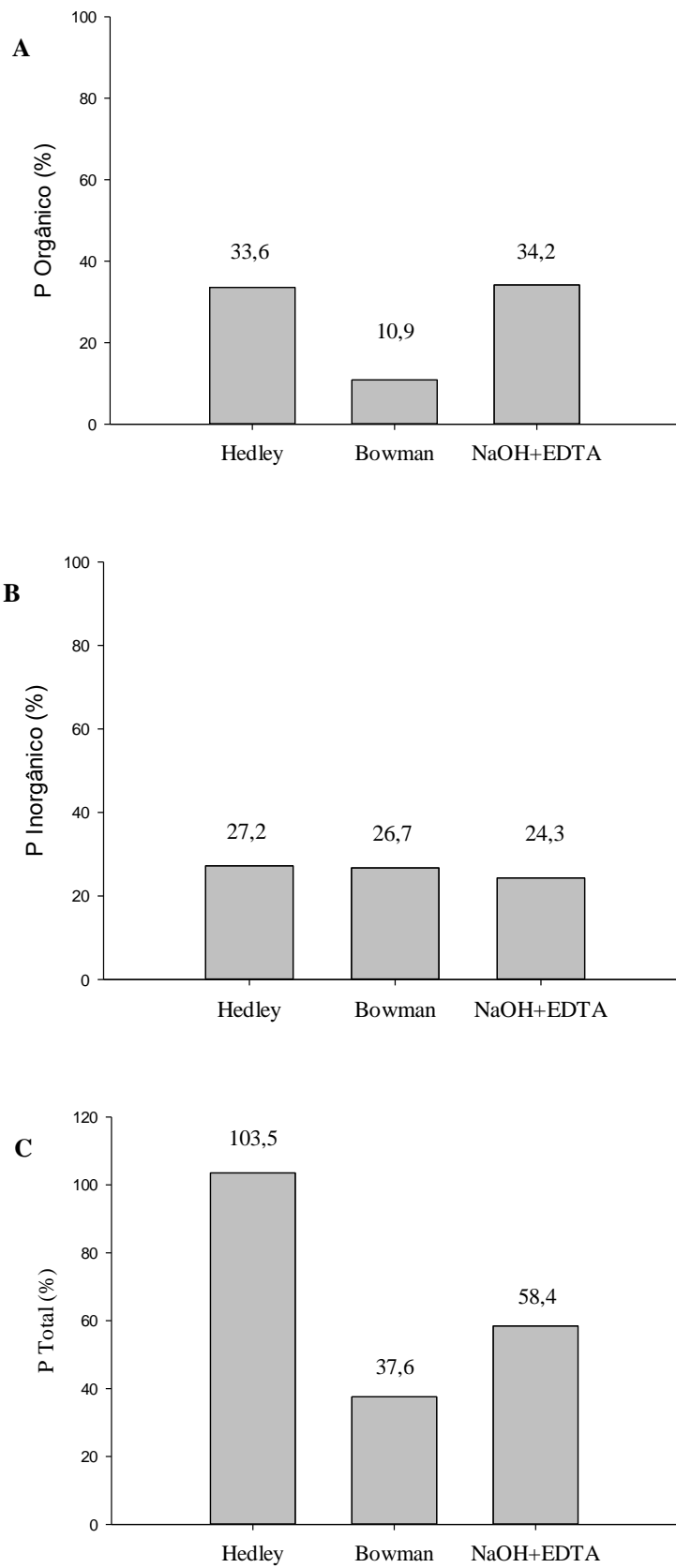


Figura 5 – Taxa de recuperação (%) do P do solo por diferentes métodos em relação à digestão sulfúrica (A) P orgânico; (B) P inorgânico e (C) P total.

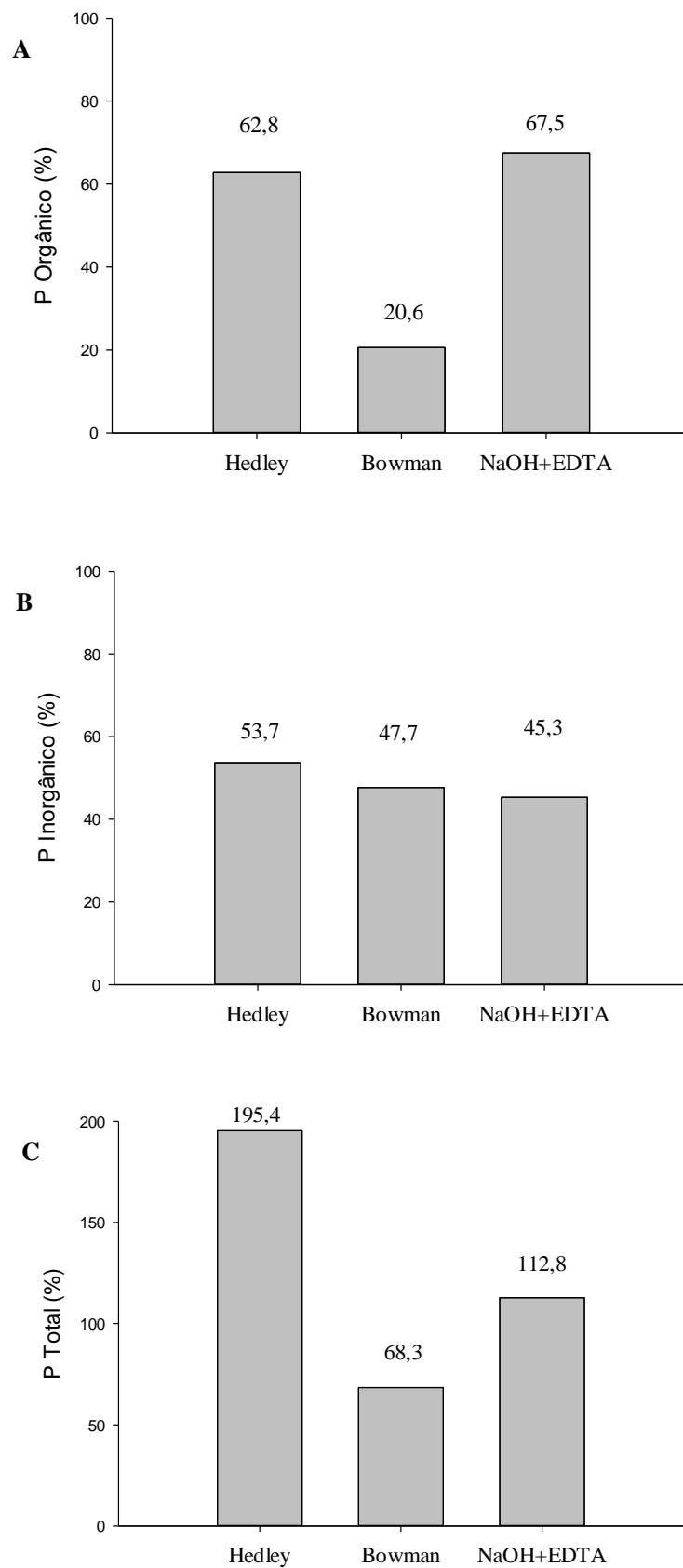


Figura 6 – Taxa de recuperação (%) do P do solo por diferentes métodos em relação à digestão Nitroperclórica (A) P orgânico; (B) P inorgânico e (C) P total.

## DISCUSSÃO

Distribuição das frações orgânicas e inorgânicas de fósforo em diferentes métodos de extração.

A proposta de Hedley determina as frações de P extraídas, associando-as a um grau decrescente de disponibilidade às plantas (Hedley et al., 1982) descrevendo de forma concisa as transformações de P ao longo do desenvolvimento do solo na dinâmica dos *pools* de P (Tiessen e Moir, 2007). Segundo Aleixo et al. (2017), o fator preponderante desta metodologia para extração de P em fracionamento é o fato de se obter através dele o P orgânico extraído por bicarbonato ( $\text{NaHCO}_3$ ), por NaOH e o Po resultante da aplicação do ultrassom, além de utilizar resina trocadora de ânions (RTA) que reproduz de forma semelhante o processo de absorção de P-solução pelos vegetais *in situ* (Silva e Raij, 1999). Por não possuírem limites nítidos entre os compartimentos de P presentes no solo, a quantificação exata do mesmo nem sempre tem a precisão desejada. Este fator pode explicar a superioridade dos teores encontrados por esse método, por se tratar de um fracionamento, as frações de P podem ser superestimadas. E ainda, o método de Hedley possui uma fração que conta com o ultrassom onde ocorre a quebra dos agregados, permitindo que o P retido em seu interior seja extraído.

A metodologia proposta por Bowman (1989), consiste na solubilização das substâncias orgânicas através da adição de ácido e, em seguida, aumentando o pH do meio pela adição de substância alcalina (Oliveira, 2012). Desta forma obtém-se o P total e o P inorgânico e por diferença entre eles, determina-se o P orgânico. Este fato pode ter influenciado o resultado superior quanto ao P inorgânico do método de Bowman em relação à metodologia de Hedley. Na tabela 4 também é possível observar os maiores valores de P extraído com NaOH+EDTA, comparando diretamente com a metodologia de Bowman. Este fato pode ser explicado, pois o EDTA se complexa com os íons paramagnéticos de Fe e Al possibilitando que a leitura do P total seja mais precisa que o método proposto por Bowman em 1989.

Correlação entre as metodologias de extração de fósforo do solo.

A metodologia proposta por Hedley de fracionamento do P se destaca com relação às correlações entre as metodologias. O método de fracionamento de Hedley (1982) que objetiva o fracionamento das frações de P faz com que a subestimação dos dados seja maior, assim, é esperado que pela sua superioridade na extração do conteúdo de P, sua correlação com os demais métodos seja positiva.

Bowman e NaOH+EDTA se correlacionam positivamente em todos os compartimentos avaliados, isto pode ser explicado pelo fato da extração com NaOH+EDTA ter sido uma proposta iniciada com o intuito de melhorar a acurácia da extração do P pelo método de Bowman (1989), acrescentando o EDTA (etilenodiaminatetraacetato) na solução de extrato alcalino. O EDTA tem a função de complexar os íons paramagnéticos de Fe e Al fazendo com que mais formas de P sejam acessadas mais facilmente pelo extrator (Bowman e Moir, 1993).

Taxa de recuperação do fósforo extraído pelos diferentes métodos propostos.

Para extração do P disponível no solo são, em geral, utilizados reagentes químicos com diferentes modos de ação, que em solução geram dissolução ácida e/ou troca iônica e/ou complexação de cátions e/ou hidrólise de cátions (Santos et al., 2008).

Com a utilização da digestão sulfúrica para extração do fósforo total do solo temos a ocorrência da dissolução ácida onde o ácido sulfúrico promove a dissolução parcial dos coloides inorgânicos. O extrator NaOH+EDTA (método de Bowman e Moir, 1993) complexa o metal do grupo funcional dos coloides, através da complexação dos cátions (ferro e alumínio) e o NaOH acarreta na hidrólise de cátions, onde o P é liberado dos compostos devido à adição do ânion hidroxila solubilizando o P orgânico associado à matéria orgânica do solo (Bowman e Moir, 1993).

Na extração de P pelo método de Bowman (1989) tem-se o uso de solução ácida e básica fazendo possível com que ocorra dissolução ácida liberando o P retido no Ca, Fe e Al. E, a extração sequencial de Hedley (1982) com o uso de



extratores com diferentes forças removem o P orgânico e inorgânico através dos diferentes modos de ação de cada extrator, indo desde a dissolução ácida a hidrólise dos cátions.

Não foram observadas diferenças entre as proporções de P das frações orgânicas e inorgânicas extraídas pelo fracionamento de Hedley, mantendo-se aproximadas a 30%, para ambas as frações do P total extraído por digestão ácida, sendo estes valores corroborados pelos trabalhos de Rheinheimer e Anghinoni (2003), Zaia et al., (2008), Turner e Engelbrecht (2011), Costa et al., (2016) com, aproximadamente, 26 a 31%.

O P residual composto do fracionamento de Hedley não foi computado às frações inorgânicas e orgânicas, tendo girado em torno de 41,5% do P total. Esta fração é altamente recalcitrante (Gatiboni et al., 2007) se inserindo no sistema em longo prazo. Trabalhos realizados em solos tropicais por Araújo et al. (2004), Gama-Rodrigues et al. (2014) e Costa et al. (2016) encontraram valores semelhantes.

As taxas de recuperação (digestão sulfúrica) de P Total extraído pela metodologia de Bowman correspondem a uma variação entre 20,6 a 66,1% com uma média de 37,6%. Aleixo (2018) em solos florestais e agroflorestais na região da mata atlântica no Brasil encontrou para o P total pelo extrator NaOH+EDTA uma variação de 28 a 83%, corroborando com nossos resultados que variaram de 34 a 95%. Também são relatados em trabalhos com solos tropicais a predominância da fração inorgânica sobre a orgânica para esta metodologia (Guerra et al., 1996, Rita et al., 2013; Oliveira et al., 2014; Costa et al., 2016). A taxa de recuperação encontrada pelo P orgânico na metodologia de Bowman é validada por trabalhos de Rita et al. (2013) que verificaram teores entre 11 e 32,5%.

Os níveis de P totais medidos pelo método de Hedley e a digestão sulfúrica não diferiram estatisticamente, sendo semelhantes. Já os teores obtidos por digestão nitroperclórica foram 39% inferiores ao obtido pela digestão sulfúrica. Segundo relatos de Olsen e Sommers (1982), em solos altamente intemperizados a digestão nitroperclórica acarreta em teores mais baixos de P total. Szott e Melendez (2001) também encontraram, em sistemas agroflorestais, teores menores de P total para solos digeridos com solução nitroperclórica quando comparados à digestão sulfúrica, chegando esta diferença em até 10%. Esta diferença na taxa de recuperação do P total pode ser atribuída à digestão

incompleta quando utilizado  $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$  associado a perdas de material em bloco digestor devido aos teores de areia presentes no solo que acarretam em perdas de material em temperatura recomendada. Uma alternativa para evitar estas perdas são o uso do funil de vidro (haste curta- ângulo:  $60^\circ$ ) no topo do tubo no bloco digestor.

Em nosso trabalho, observou-se uma variação na taxa de recuperação (digestão nitroperclórica) do P total extraído por Bowman entre 49,1 a 96,1% (média=68,3%). Condrón et al. (1990) encontraram em solos tropicais valores para recuperação do P total extraído por Bowman em relação à digestão nitroperclórica com uma variação entre 30 a 107%, com uma média de 77%. Guerra et al. (1996) encontraram valores semelhantes com uma variação entre 48 a 109%. Zaia (2009) também para extração pelo método de Bowman, obteve uma taxa de recuperação do P total dos solos em sistemas agroflorestais de cacau no Sul da Bahia, variando de 40 a 169%. Cunha et al. (2007) obtiveram em solos sob florestas montanas, pastagens e eucalipto no norte fluminense, valores mais baixos, variando entre 50 e 82%.

## CONCLUSÃO

Os diferentes métodos avaliados de extração de P do solo foram a extração sequencial proposta por Hedley et al. (1982), a extração proposta por Bowman (1989), a extração proposta por Bowman e Moir (1993) e, para fins de comparação à digestão sulfúrica. O método de extração de P por digestão sulfúrica foi usado a título de comparação das taxas de recuperação do P extraído pelos demais métodos analíticos utilizados, visto que a digestão ácida permite apenas quantificar o P total não possibilitando conhecer as frações inorgânicas e orgânicas do P no solo, sendo esta última fração de grande relevância, dado à baixa fertilidade dos solos brasileiros, altamente intemperizados, onde este compartimento pode se comportar como uma fonte do nutriente, em longo prazo, via processos de mineralização, dada à cultura do eucalipto possuir elevada capacidade de aporte de resíduos. Os resultados deste estudo demonstram que o fracionamento proposto por Hedley superestima consideravelmente o conteúdo de P do solo, comparado com valores obtidos pelas metodologias estudadas, determinando

maiores valores totais de P no solo dado ao uso sequencial de diferentes extratores com crescente força de extração sequencial, removendo o P inorgânico e P orgânico das formas mais fracamente retidas até as formas mais estáveis. O método de fracionamento de Hedley e a extração com NaOH+EDTA se mantiveram semelhantes, estatisticamente, quanto à eficiência de extração e recuperação do P no solo, sendo o fracionamento um método demorado e caro. Assim, o mais recomendado entre os métodos analisados é a extração de P através do extrator NaOH+EDTA, sendo tão eficiente quanto ao Hedley, porém mais simples e rápido, abrangendo um número menor de manipulações e diminuindo, então, possíveis erros. Além disso, existe a vantagem da metodologia com o extrator NaOH+EDTA possuir uma única amostra para extração dos compartimentos de P no solo, o que facilita a reprodução e gera uma maior consistência dos dados. Através da extração com NaOH+EDTA é possível compreender e estabelecer o potencial das frações lábeis em fornecer P à cultura de eucalipto maximizando a sustentabilidade do sistema. Entende-se a importância de mais estudos a fim de verificar a composição da fração orgânica possibilitando a melhor compreensão da contribuição desta fração através de seus compostos no solo, tornando possível avaliar seus efeitos em sistemas florestais de eucalipto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aleixo, S., Gama-Rodrigues, A. C., Costa, M. G., Sales, M. V. S., Gama-Rodrigues, E. F., Marques, J. R. B. (2017) P transformations in cacao agroforests soils in the Atlantic forest region of Bahia, Brazil. *Agroforest Systems*, doi:10.1007/s10457-016-9939-6.
- Aleixo, S. (2018) *Especiação e transformações do fósforo orgânico em solos florestais e agroflorestais na região da mata atlântica no Brasil*. Tese (Doutorado), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, RJ. p. 105.
- Alvarez V., V. H., Ribeiro, A. C. (1999) Calagem. In A. C. Ribeiro, P. T. G. Guimarães, V. H. Alvarez V. (Eds.), *Recomendação para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais* (5 ed., pp. 43-60).

- Araújo, M. S. B., Schaefer, C. E. R., Sampaio, E. V. S. B. (2004) Soil phosphorus fractions from toposequences of semi-arid Latosols and Luvisols in northeastern Brazil. *Geoderma*, 119(3-4), 309-321.
- Barros, N. F., Novais, R. F. (1999) Eucalipto. In A. C. Ribeiro, P. T. G. Guimarães, V. H. Alvarez V. (Eds.), *Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais* (5 ed., pp. 303-305).
- Barros, N.F. e Comerford, N.B. (2002) Sustentabilidade da produção de florestas plantadas na região tropical. In: Alvarez V., V.H.; Schaefer, C.E.G.R.; Barros, N.F.; Mello, J.W.V. e Costa, L.M., eds. *Tópicos em ciência do solo*. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.2. p.487-592
- Bazani, J. H., Gonçalves, J. L. M., Rocha, J. H. T., Melo, E. S. A. C., Prieto, M. (2014) Nutrição fosfatada em plantações de eucalipto. *Informações Agronômicas*, 1-11.
- Bowman, R. A. (1989) A sequential extraction procedure with concentrated sulfuric acid and dilute base for soil organic phosphorus. *Soil Science Society of America Journal*, 53(2), 362-366.
- Bowman, R.A., Cole, C.V. (1978) An exploratory method for fractionation of organic phosphorus from grassland soils, *Soil Sci.* 125,49-54
- Bowman, R. A., Moir, J. O. (1993) Basic EDTA as an extractant for soil organic phosphorus. *Soil Science Society of America Journal*, 57(6), 1516-1518.
- Condon, L.M., Newman, S. (2011) Revisiting the fundamentals of phosphorus fractionation of sediments and soils. *J. Soils Sediments* 11, 830–840.
- Condon, L. M. Moir, J.O. Tiessen, H. Stewart, J.W.B. (1990) *Soil Sci. Soc. Americana*. J. 54 1261.
- Condon, L. M., Turner, B. J., Cade-Menun., (2005) Chemistry and dynamics of soil organic phosphorus. In: T. Sims, A.N. Sharpley (Eds.), *Phosphorus: Agriculture and the Environment*. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisconsin, USA.
- Costa M. G., Gama-Rodrigues A. C., Gonçalves J. L. D. M., Gama-Rodrigues E. F., Sales M. V. D. S., Aleixo S. (2016) Labile and Non-Labile Fractions of Phosphorus and Its Transformations in Soil under Eucalyptus Plantations, Brazil. *Forests* 7(1):15
- Costa, G. M. (2015) *Frações de P no solo em sítios de eucalipto no estado de São Paulo, Brasil*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 88p.

- Cunha, G.M.; Gama-Rodrigues, A.C.; Costa, G.S.; Velloso, A.C.X. (2007) Fósforo orgânico em solos sob florestas montanas, pastagens e eucalipto no Norte Fluminense. *R. Bras. Ci. Solo*, 31:667-671.
- Dick, W.A., Tabatabai, M.A. (1977) Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds, *Journal of Environmental Quality*, 6:82-85.
- Embrapa. (1999) *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes* (E. solos Ed.). Brasília - DF, Brasil: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.
- Fontes, A.G., Gama-Rodrigues, A.C., Gama-Rodrigues, E.F., Sales, M.V.S., Costa, M.G., Machado, R.C.R. (2014) Nutrient stocks in litterfall and litter in cocoa agroforests in Brazil. *Plant and Soil* 383, 313–335.
- Gatiboni, L. C., Kaminski, J., Rheinheimer, D. d. S., Flores, J. P. C. (2007) Biodisponibilidade de formas de fósforo acumuladas em solo sob sistema plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 31, 691-699.
- Grierson, P.F., Smithson, P., Nziguheba, G., Radersma, S., Comerford, N.B. (2004) Phosphorus dynamics and mobilization by plants. In: Noordwisk, M., Cadisch, G., Ong, C.K. (Eds) *Below-ground interactions in tropical agroecosystems: Concepts and models with multiple plant components*. CABI International, Wallingford, pp 127-142.
- Gama-Rodrigues, A.C., Sales, M.V.S., Silva, P.S.D, Comerford, N. B., Cropper, W. P., Gama-Rodrigues, E. F. (2014) An exploratory analysis of phosphorus transformations in tropical soils using structural equation modeling. *Biogeochemistry*, 118, 453-469.
- Guerra, J. G. M., Almeida, D. L. d., Santos, G. d. A., Fernandes, M. S. (1996) Conteúdo de fósforo orgânico em amostras de solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 31(4), 291-299.
- Hedley, M. J., Stewart, J. W. B., Chauhan, B. S. (1982) Changes in inorganic and organic soil-phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal*, 46(5), 970-976.
- Laclau, J.-P., Ranger, J., de Moraes Gonçalves, J. L., Maquère, V., Krusche, A. V., M'Bou, A. T., Deleporte, P. (2010) Biogeochemical cycles of nutrients in tropical Eucalyptus plantations: Main features shown by intensive monitoring in Congo and Brazil. *Forest Ecology and Management*, 259(9), 1771-1785.
- Murphy, J., Riley, J.P. (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, *Analytical Chemistry Acta*, Amsterdam, 27:31-36.

- Negassa, W., Leinweber., P. (2009) How does the Hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: A review. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 172, 305–325.
- Novais, R.F., Smyth, T.J. (1999) *Fósforo em solo e planta em condições tropicais*, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p.399.
- Oliveira, R. I. (2012) *Fósforo orgânico em horizontes diagnósticos superficiais de diferentes classes de solos brasileiros*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 49p.
- Oliveira, R. I., Gama-Rodrigues, A. C., Gama-Rodrigues, E. F., Zaia, F. C., Pereira, M. G., Fontana, A. (2014) Organic phosphorus in diagnostic surface horizons of different Brazilian soil orders. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38(5), 1411-1420.
- Raij, B. Van. *Fertilidade do solo e manejo de nutrientes*. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2011. 420p.
- Rheinheimer, D. d. S., Anghinoni, I. (2003) Accumulation of Soil Organic Phosphorus by Soil Tillage and Cropping Systems Under Subtropical Conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 34(15-16), 2339-2354.
- Rita, J. C. d. O., Gama-Rodrigues, A. C., Gama-Rodrigues, E. F., Zaia, F. C., Nunes, D. A. D. (2013) Mineralization of organic phosphorus in soil size fractions under different vegetation covers in the north of Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37, 1207-1215.
- Rodrigues, G. I., (2016) *Métodos de extração de fósforo e micronutrientes em latossolos com uso de energia ultrassônica*. (Dissertação mestrado em agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia.. 67 f. : il.
- Santana, C. R., Barros, N. F., Novais, R. F. Leite, H. G., Comenford, N. B. (2008) Alocação de nutrientes em plantios de eucalipto no Brasil. *R. Bras. Ci. Solo*, 32:2723-2733.
- Santos, D. R.; Gatiboni, L. C.; Kaminski, J. (2008) Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 576-586, Mar./Abr.
- Silva, F.C., Raij, B. (1999) Disponibilidade de fósforo em solos avaliada por diferentes extratores, *Pesq. Agropec. Bras.*, 34:267-288.

- SNIF – Sistema Nacional de Informações Florestais. Disponível em: <<http://www.florestal.gov.br/documentos/publicacoes/3230-boletim-snif-2017-ed1-final/file>>. Acesso em 02 de janeiro de 2019.
- Tiessen, H., Moir, J. (2007) Characterization of available P by sequential extraction. In: Carter, M.R., Gregorich, E.G. (eds.) Soil sampling and methods of analysis. *Canadian Society of Soil Science*, p.293-306.
- Turner, B. L., Cade-Menun, B. J., Condronc, L. M., Newmand, S. (2005) *Extraction of soil organic phosphorus*. *Talanta* 66. 294–306.
- Turner, B.J., B.M.J. Engelbrecht. (2011) Soil organic phosphorus in lowland tropical rain forests. *Biogeochemistry* 103:297–315.
- Viana, O.T., Gama-Rodrigues A. C., Gama-Rodrigues, E.F., Aleixo, S., Moreira, R.V.S., Sales, M.V.S, Marques, J.R.B. (2018) Phosphorus transformations in alfisols and ultisols under different land uses in the atlantic forest region of Brazil. *Geoderma Regional* 10.1016.
- Zaia, F.C., Gama-Rodrigues, A.C., Gama-Rodrigues, E.F., Machado, R.C.R. (2008) Fósforo orgânico em solos sob agroecossistemas de cacau. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32:1987-1995.

/

#### 4. RESUMO E CONCLUSÕES

Os solos tropicais demandam intenso estudo e conhecimento visando melhorar e aprimorar a fertilidade e manutenção dos solos, buscando uma sustentabilidade do sistema, dado seu baixo poder nutricional.

As plantas necessitam de nutrientes para seu máximo desempenho e produtividade, sendo o fósforo (P) o segundo elemento mais requerido pelas culturas e de extrema importância na fase inicial e de estabelecimento da planta. O entendimento das formas, dinâmica e conteúdo do P no solo nos propicia um manejo mais eficiente.

O conhecimento das espécies e compartimento de P nos sítios em estudo nos permite inferir que, inicialmente, as reservas de P no solo são adequadas para suprir o sistema com um aporte de P inorgânico capaz de manter as necessidades da espécie de eucalipto, porém a manutenção do nutriente se faz necessário visto que o solo é um sistema dinâmico e o P orgânico e inorgânico estimados podem variar de acordo com os teores de óxidos no solo e as influências do ambiente como a taxa de mineralização e influência da microbiota. Assim, o uso da espectroscopia de ressonância magnética nuclear-  $^{31}\text{P}$ , nos sítios avaliados, aprimorou nossa compreensão das transformações de P em sítios de eucalipto.

Entre os métodos analíticos comparados, o método de fracionamento de Hedley e a extração com NaOH+EDTA se mantiveram semelhantes à eficiência de extração e recuperação do P no solo, porém, o fracionamento é um método demorado e caro. Assim, a mais recomendada entre os métodos analisados é a



extração de P através do extrator NaOH+EDTA, sendo tão eficiente quanto o Hedley, porém é mais simples e rápido.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAF - *Anuário Estatístico da ABRAF*: ano base 2012. (2013) Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. Brasília. 146 p.
- Aleixo S., Gama-Rodrigues A. C., Costa M. G., Sales M. V. S., Gama-Rodrigues E. F., Marques, J. R. B. (2017) P transformations in cacao agroforests soils in the Atlantic Forest region of Bahia, Brazil. *Agroforest. Syst.* 91(3):423–437.
- Aleixo, S. (2018) *Especiação e transformações do fósforo orgânico em solos florestais e agroflorestais na região da mata atlântica no Brasil*. Tese (Doutorado), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, RJ. p. 105.
- Alvarez V., V. H., Ribeiro, A. C. (1999) Calagem. In A. C. Ribeiro, P. T. G. Guimarães, V. H. Alvarez V. (Eds.), *Recomendação para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais* (5 ed., pp. 43-60).
- Araújo, M. S. B., Schaefer, C. E. R., Sampaio, E. V. S. B. (2004) Soil phosphorus fractions from toposequences of semi-arid Latosols and Luvisols in northeastern Brazil. *Geoderma*, 119(3-4), 309-321.
- Barros, N. F., Novais, R. F. (1999) Eucalipto. In A. C. Ribeiro, P. T. G. Guimarães, V. H. Alvarez V. (Eds.), *Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais* (5 ed., pp. 303-305).
- Barros, N. F., Neves, J. C. L., Novais, R. F. (2014) Nutrição e adubação mineral do eucalipto. In A. B. Vale, C. C. Machado, J. M. M. Pires, M. B. Vilar, C. B. Costa, A. P. Nacif (Eds.), *Eucaliptocultura no Brasil: silvicultura, manejo e ambiência* (pp. 187-208). Viçosa - MG: Sociedade de Investigações Florestais - SIF.
- Barros, N.F. e Comerford, N.B. (2002) Sustentabilidade da produção de florestas plantadas na região tropical. In: Alvarez V., V.H.; Schaefer, C.E.G.R.; Barros, N.F.; Mello, J.W.V. e Costa, L.M., eds. *Tópicos em ciência do solo*. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.2. p.487-592.
- Bazani, J.H.; Gonçalves, J.L.M.; Rocha, J.H.T.; Melo, E.S.A.C.; Prieto, M. (2014) Nutrição fosfatada em plantações de eucalipto. *Info. Agron.* 148, 1–11.
- Bowman, R. A. (1989) A sequential extraction procedure with concentrated sulfuric acid and dilute base for soil organic phosphorus. *Soil Science Society of America Journal*, 53(2), 362-366.

- Bowman, R. A., Cole, C. V. (1978) Transformations of organic phosphorus substrates in soils as evaluated by  $\text{NaHCO}_3$  extraction. *Soil Science*, 125(1), 49-54.
- Bowman, R. A., Moir, J. O. (1993) Basic EDTA as an extractant for soil organic phosphorus. *Soil Science Society of America Journal*, 57(6), 1516-1518.
- Brady, N. C., Weil, R. R. (2013) *Elementos da natureza e propriedades dos solos* (Bookman Ed. 3ª edição ed.). Porto Alegre - RS.
- Bruice, P. Y., Lee, I. (2004) *Química Orgânica*. 4 ed. Capítulo 14: Espectroscopia de RMN. Case Western Reserve University. 524-554p.
- Burak, D. L.; Fontes, M. P. F.; Becquer, T. (2011) *Microagregados estáveis e reserva de nutrientes em Latossolo Vermelho sob pastagem em região de Cerrado*. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v. 41, n. 2, p. 229-241.
- Cade-Menun, B. J. (2005) *Characterizing phosphorus in environmental and agricultural samples by  $^{31}\text{P}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy*. Geological and Environmental Sciences Department, Building 320, Room 118, Stanford University, Stanford, CA 94305-2115, USA.
- Cade-Menun, B.J. & Preston, C.M. (1996) A comparison of extraction procedures for  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy. *Soil Sci.*, 161:770-785.
- Cade-Menun, B.J. Liu, C.W. (2014) "Solution  $^{31}\text{P}$ -NMR spectroscopy of soils from 2005-2013: A review of sample preparation and experimental parameters.", *Soil Science Society of America Journal*, 78(1), pp. 19-37.
- Cade-Menun, B.J., M.R. Carter, D.C. James, C.W. Liu. (2010) *Phosphorus forms and chemistry in the soil profile under long-term conservation tillage: A phosphorus- $^{31}$  nuclear magnetic resonance study*. J. Environ. Qual. 39:1647–1656.
- Chang, S. C., Jackson, M. L. (1957) Fractionation of soil phosphorus. *Soil Science*, Baltimore, v 84, p. 133-144.
- Condon LM, Turner BL, Cade-Menun BJ (2005) Chemistry and dynamics of soil organic phosphorus. In: Sharpley AN, Sims JT (eds) *Phosphorus: agriculture and the environment*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, pp 87–121.
- Condon, L. M. Moir, J.O. Tiessen, H. Stewart, J.W.B. (1990) *Soil Sci. Soc. Americana*. J. 54 1261.

- Condrón, L.M., Newman, S. (2011) Revisiting the fundamentals of phosphorus fractionation of sediments and soils. *J. Soils Sediments* 11:830–840.
- Costa M. G., Gama-Rodrigues A. C., Gonçalves J. L. D. M., Gama-Rodrigues E. F., Sales M. V. D. S., Aleixo S. (2016) Labile and Non-Labile Fractions of Phosphorus and Its Transformations in Soil under Eucalyptus Plantations, Brazil. *Forests* 7(1):15.
- Costa, G. M. (2015) *Frações de P no solo em sítios de eucalipto no estado de São Paulo, Brasil*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 88p.
- 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. *R. Bras. Ci. Solo*, 31:667-671, 2007.
- Dai, K. H., David, M. B., Vance, G. F., Krzyszowska, A. J. (1996) Characterization of phosphorus in a spruce-fir Spodosol by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Soil Science Society of American Journal*, Madison, v.60, p.1943-1950.
- Dalal, R.C. (1977) Soil organic phosphorus. *Adv. Agron.*, 29:83-117.
- Dick, W.A., Tabatabai, M.A. (1977) Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds, *Journal of Environmental Quality*, 6:82-85.
- Embrapa. (1999) *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes* (E. solos Ed.). Brasília - DF, Brasil: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.
- Fao - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (1981) Eucalypts for planting. *FAO Forestry Series* Vol. 11. M. R. Jacobs (Ed.), p. 735.
- Fao - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2010) Global Forest Resources. *FAO Forestry Paper* 163. Rome. 340 p.
- Faquim, V. (1994) *Nutrição mineral de plantas*. Lavras: Esal-Faepe. 227p.
- Ferreira, M.M. (2010) Caracterização física do solo. In: Lier, J.V.Q., ed. *Física do solo*. Viçosa, MG. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 298p.
- Fixen, P. E., Gove, J. H. (1990) Testing soils for phosphorus. In: Westerman, R. L. (Ed) *Soil Testing and Plant Analysis*, 3 ed. Madison. p. 141-180.

- Fontes, A.G., Gama-Rodrigues, A.C., Gama-Rodrigues, E.F., Sales, M.V.S., Costa, M.G., Machado, R.C.R. (2014) Nutrient stocks in litterfall and litter in cocoa agroforests in Brazil. *Plant and Soil* 383, 313–335.
- Gama-Rodrigues, A. C., Barros, N. F. (2002) Ciclagem de nutrientes em floresta natural e plantios de eucalipto e de dandá no sudeste da Bahia, Brasil. *Revista Árvore*, 26(2), 193-207.
- Gama-Rodrigues, A.C. (1997) *Ciclagem de nutrientes por espécies florestais em povoamentos puros e mistos em solos de tabuleiro da Bahia, Brasil*. (Tese de Doutorado). Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 107p.
- Gama-Rodrigues, A.C., Sales, M.V.S., Silva, P.S.D, Comerford, N. B., Cropper, W. P., Gama-Rodrigues, E. F. (2014) *An exploratory analysis of phosphorus transformations in tropical soils using structural equation modeling*. *Biogeochemistry*, 118, 453-469.
- Gatiboni, L. C., Kaminski, J., Rheinheimer, D. d. S., Brunetto, G. (2008) Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatases ácidas durante a diminuição do fósforo disponível no solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43, 1085-1091.
- Gatiboni, L. C., Kaminski, J., Rheinheimer, D. d. S., Flores, J. P. C. (2007) Biodisponibilidade de formas de fósforo acumuladas em solo sob sistema plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 31, 691-699.
- Gatiboni, L.C. (2003) *Disponibilidade de formas de fósforo do solo às plantas* (Tese de Doutorado). Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 231p.
- Gatiboni, L.C.; Brunetto, G.; Rheinheimer, D.S.; Kaminsk, J. (2013) Fracionamento químico das formas de fósforo do solo: Uso e limitações. *Tóp. Ciênc. Solo*, 8, 141–187.
- Gonçalves, J.L.M.; Alvares, C.A.; Higa, A.R.; Silva, L.D.; Alfenas, A.C.; Stahl, J.; Ferraz, S.F.B.; Lima, W.P.; Brancalion, P.H.S.; Hubner, A.; et al. (2013) Integrating genetic and silvicultural strategies to minimize abiotic and biotic constraints in Brazilian eucalypt plantations. *For. Ecol. Manag.* 301, 6–27.
- Grant, C.A.; Platen, D.N.; Tomaziewicz, D.J.; Sheppard, S.C. (2001) A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. *Informações Agrônomicas*, Piracicaba, n.95.
- Grierson, P.F., Smithson, P., Nziguheba, G., Radersma, S., Comerford, N.B. (2004) Phosphorus dynamics and mobilization by plants. In: Noordwijk, M., Cadisch,

- G., Ong, C.K. (Eds) *Below-ground interactions in tropical agroecosystems: Concepts and models with multiple plant components*, CABI International, Wallingford, pp 127-142.
- Guerra, J. G. M., Almeida, D. L. d., Santos, G. d. A., Fernandes, M. S. (1996) Conteúdo de fósforo orgânico em amostras de solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 31(4), 291-299.
- Gunary, D., Hallsworth, E. G., and Crawford, D. V., (1966) Exp. Pedol. Proc. Univ. Nottingham Easter School *Agric. Sci.*, 1964, 149.
- He, Z.Q., Oik, D.C., Cade-Menun, B.J. (2011) Forms and lability of phosphorus in humic acid fractions of Hord silt loam soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 75, 1712– 1722.
- Hedley, M. J., Stewart, J. W. B., Chauhan, B. S. (1982) Changes in inorganic and organic soil-phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal*, 46(5), 970-976.
- Khanna M, Yoder L, Calamai L, Stotzky G (1998) X-ray diffractometry and electron microscopy of DNA from *Bacillus subtilis* bound on clay minerals. *Science of Soils* 3(1).
- Kizewski, F., Liu, Y. T., Morris, A., Hesterberg, D. (2011) *Spectroscopic Approaches for Phosphorus Speciation in Soil and Other Environmental Systems*. *J Environ Qual* 40: 751-776.
- Koukol O, Novák F, Hrabal R (2008) Composition of the organic phosphorus fraction in basidiocarps of saprotrophic and mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* 40:2464–2467.
- Laclau, J.-P., Ranger, J., de Moraes Gonçalves, J. L., Maquère, V., Krusche, A. V., M'Bou, A. T., Deleporte, P. (2010) Biogeochemical cycles of nutrients in tropical Eucalyptus plantations: Main features shown by intensive monitoring in Congo and Brazil. *Forest Ecology and Management*, 259(9), 1771-1785.
- Lehmann J, Günther D, Socorro Da Mota M, Pereira De Almeida M, Zech W, Kaiser K (2001) Inorganic and organic soil phosphorus and sulfur pools in an amazonian multistrata agroforestry system. *Agroforest. Syst.* 53(2):113-124
- Leite, J. N. F. (2015) *Formas orgânicas e inorgânicas de fósforo no solo em função de plantas de cobertura e adubação nitrogenada* (Dissertação de mestrado) Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 57p.

- Leite, P. B., Alvarez V., V. H., Barros, N. F. de, Neves, J. C. L., Guarçoni M., A., & Zanão Júnior, A. (2009) Níveis críticos de fósforo, para eucalipto, em casa de vegetação, em função da sua localização no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33(5), 1311-1322.
- Linguist, B. A., P. W. Singleton, R. S. Yost, and K. G. Cassman. (1997) Aggregate size effects on the sorption and release of phosphorus in an Ultisol. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:160-166.
- Liu, J., Yang, J., Cade-Menun, B. J., Liang, X., Hu, Y. Liu, C. W., Zhao, Y., Li, L., Shi, J. (2013) Complementary Phosphorus Speciation in Agricultural Soils by Sequential Fractionation, Solution  $^{31}\text{P}$  Nuclear Magnetic Resonance, and Phosphorus K-edge X-ray Absorption Near-Edge Structure Spectroscopy. *J. Environmental. Quality.* 42:1763–1770.
- Maeda, S.; Bognola, I. A. (2011) Efeito da calagem, do fosfato natural de Gafsa e superfosfato triplo no crescimento inicial e absorção de fósforo em *Eucalyptus dunnii*. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, v. 31, n. 68, p. 355-361, out./dez.
- Makarov, M.I., L. Haumaier, W. Zech. (2002) The nature and origins of diéster phosphates in soils: A  $^{31}\text{P}$ -NMR study. *Biol. Fertil. Soils* 35:136–146.
- Martinazzo, R., Rheinheimer, D.S., Gatiboni, L.C., Brunetto, G., Kaminskil, J. (2007) Fósforo microbiano do solo sob sistema plantio direto em resposta à adição de fosfato solúvel, *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 31:563-570.
- Mendonça, F. (2013) *Avaliação dos métodos colorimétrico e espectrométrico (ICP-OES) na determinação de fósforo total em amostras ambientais.* (Trabalho de conclusão de curso). Santo André, Universidade Federal do ABC. 20p.
- MMA – Ministério do Meio Ambiente/Serviço Florestal Brasileiro. (2013) Florestas do Brasil em resumo - 2013: dados de 2007-2012. Brasília. 188 p. Disponível em <http://www.florestal.gov.br>. Acesso em 14 jan. 2017.
- Moreira, F. M. S., Siqueira, J. O. (2006) *Microbiologia e bioquímica do solo* (2ª ed.). Lavras - MG: Editora UFLA.
- Muñoz F, Beer J (2001) Fine root dynamics of shaded cacao plantations in Costa Rica. *Agrofor. Syst.* 51:119-130.

- Murphy, J., Riley, J.P. (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, *Analytical Chemistry Acta*, Amsterdam, 27:31-36.
- Murphy, P.N.C., Bell, A., Turner, B.L. (2009) Phosphorus speciation in temperate basaltic grassland soils by solution  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy. *Eur. J. Soil Sci.* 60(4):638–651.
- Negassa, W., Leinweber, P. (2009) How does the Hedley sequential phosphorus fractionation reflect impacts of land use and management on soil phosphorus: A review. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 172, 305–325.
- Newman R. H. and Tate K. R. (1980) Soil phosphorus characterisation by  $^{31}\text{P}$  NMR. *Comm. Soil Sci. & Plant Anal.*
- Novais, R. F.; Smyth, T. J.; Nunes, F. N. (2007) Fósforo. In: NOVAIS, R. F. et al. (Ed) *Fertilidade do solo*. Viçosa: SBCS. 1017p.
- Novais, R.F., Smyth, T.J. (1999) *Fósforo em solo e planta em condições tropicais*, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p.399.
- Oliveira, R. I. (2012) *Fósforo orgânico em horizontes diagnósticos superficiais de diferentes classes de solos brasileiros*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 49p.
- Oliveira, R. I., Gama-Rodrigues, A. C., Gama-Rodrigues, E. F., Zaia, F. C., Pereira, M. G., Fontana, A. (2014) Organic phosphorus in diagnostic surface horizons of different Brazilian soil orders. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38(5), 1411-1420.
- R Development Core Team (2009) *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austrai. <http://www.R-project.org>.
- Raboy, V. (2007) Seed phosphorus and the development of low phytate crops. In: Turner BL, Richardson AE, Mullaney EJ (ed) *Inositol phosphates: linking agriculture and the environment*. CAB International, Wallingford, UK, pp 111–132.
- Raij, B. van, Andrade, J.C., Cantarella, H., Quaggio, J.A. (2001) *Análise química para avaliação da fertilidade do solo*. Campinas: Instituto Agrônômico, 285p.



- Rheinheimer, D. d. S., Anghinoni, I. (2003) Accumulation of Soil Organic Phosphorus by Soil Tillage and Cropping Systems Under Subtropical Conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 34(15-16), 2339-2354.
- Rheinheimer, D. S. (2000) *Dinâmica do fósforo em sistemas de manejo de solos*. Tese: Doutorado em Agronomia – Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRS. P.210.
- Rheinheimer, D. S., Anghinoni, I., Flores, A. F. (2002) Organic and inorganic phosphorus as characterizes by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance in subtropical soils under management systems. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. New York, v. 33, p. 1853-1871.
- Rita, J. C. d. O., Gama-Rodrigues, A. C., Gama-Rodrigues, E. F., Zaia, F. C., Nunes, D. A. D. (2013) Mineralization of organic phosphorus in soil size fractions under different vegetation covers in the north of Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37, 1207-1215.
- Rodrigues, G. I., (2016) *Métodos de extração de fósforo e micronutrientes em latossolos com uso de energia ultrassônica*. (Dissertação mestrado em agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia. 67 f. : il.
- Sannigrahi, P., Ingall, E.D., 2005 *Polyphosphates as a source of enhanced P fluxes in marine sediments overlain by anoxic waters: evidence from 31P NMR*. *Geochem. Trans.* 6, 52–59.
- Santana, C. R., Barros, N. F., Novais, R. F. Leite, H. G., Comenford, N. B. (2008) Alocação de nutrientes em plantios de eucalipto no Brasil. *R. Bras. Ci. Solo*, 32:2723-2733.
- Santos, D. R.; Gatiboni, L. C.; Kaminski, J. (2008) Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 576-586, Mar/Abr.
- Schachtman, D. P., Reid, R. J., Ayling, S. M. (1998) Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. *Plant Physiol*, 116(2), 447-453.
- Schneider, K.D., Cade-Menun, B.J., Lynch, D.H., Voroney, R.P. (2016) Soil phosphorus form organic and conventional forage fields. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 80, 328–340.

- Shand, C.A., Cheshire, M. V., Bedrock, C.N., Chapman, P.J., Frase, A. R., and Chudek, J.A. Solid-phase  $^{31}\text{P}$  NMR spectra of peat and mineral soils, humic acids and soil solution components: Influence of iron and manganese. *Plant Soil* 1999;214:153-163.
- Silva, F.C., Raij, B. (1999) Disponibilidade de fósforo em solos avaliada por diferentes extratores, *Pesq. Agropec. Bras.*, 34:267-288.
- SNIF – Sistema Nacional de Informações Florestais. Disponível em: <<http://www.florestal.gov.br/documentos/publicacoes/3230-boletim-snif-2017-ed1-final/file>>. Acesso em 02 de janeiro de 2019.
- SNIF – Sistema Nacional de Informações Florestais. Disponível em: <[www.florestal.gov.br/snif/producao-florestal/consumo](http://www.florestal.gov.br/snif/producao-florestal/consumo)>. Acesso em 04 de janeiro de 2018.
- SNIF – Sistema Nacional de Informações Florestais. Disponível em: <[www.florestal.gov.br/snif/producao-florestal/consumo](http://www.florestal.gov.br/snif/producao-florestal/consumo)>. Acesso em 04 de novembro de 2017.
- Stewart, J. W. B. e Sharpley, A. N. (1987) Controls on dynamics of soil and fertilizer phosphorus and sulfur. In Soil fertility and organic matter as critical components of production. Eds. R F Follett, J. W. B. Stewart and C. V. Cole. Pp. 101-102. Soil Sci Soc Am Spec. Pub 19. AM. Soc. Agron., Madison, Wisconsin, USA.
- Tiessen, H., Moir, J. (2007) Characterization of available P by sequential extraction. In: Carter, M.R., Gregorich, E.G. (eds.) Soil sampling and methods of analysis. *Canadian Society of Soil Science*, p.293-306.
- Tsumura N. e Sato T. (1960) Conversion of D-Glucose to D-Fructose by a Strain of Soil bacteria. *Agr. Chem. SOC Japan*, Vol. 24, Nº 3, pi 3263.
- Turner, B. L., Cade-Menun, B. J., Condron, L. M., Newman, S. (2005) Extraction of soil organic phosphorus. *Talanta* 66. 294–306.
- Turner, B. L., Cheesman AW, Godage HY, Riley AM, Potter BVL (2012) Determination of neo- and D- chiro-inositol hexakisphosphate in soils by solution  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 46:4994–5002.
- Turner, B.J., B.M.J. Engelbrecht. (2011) Soil organic phosphorus in lowland tropical rain forests. *Biogeochemistry* 103:297–315.

- Turner, B.L., Leytem, A.B. (2004) Phosphorus compounds in sequential extracts of animal manures: Chemical speciation and a novel fractionation procedure. *Environ. Sci. Technol.* 38:6101–6108. doi:10.1021/es0493042.
- Turner, B.L., N. Mahieu, L.M. Condon. (2003) Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectral assignments of phosphorus compounds in soil NaOH–EDTA extracts. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67:497–510.
- Turner, B.L.; Papházy, M.J.; Haygarth, P.M., Mckelvie, I.D. (2002) Inositol phosphate in the environment. *Phil. Trans. Royal Society B.*, 357:449-469.
- Viana, O.T., Gama-Rodrigues A. C., Gama-Rodrigues, E.F., Aleixo, S., Moreira, R.V.S., Sales, M.V.S, Marques, J.R.B. (2018) Phosphorus transformations in alfisols and ultisols under different land uses in the atlantic forest region of Brazil. *Geoderma Regional* 10.1016.
- Yang, X.; Post,W.M. (2011) Phosphorus transformation as a function of pedogenesis: A synthesis of soil phosphorus data using Hedley fractionation method. *Biogeosciences.* 8, 2907–2916.
- Zaia, F.C., Gama-Rodrigues, A.C., Gama-Rodrigues, E.F., Machado, R.C.R. (2008) Fósforo orgânico em solos sob agroecossistemas de cacau. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32:1987-1995.