

ATIVIDADE DA FOSFATASE ÁCIDA NO FEIJOEIRO E SUA CORRELAÇÃO COM PARÂMETROS DE CRESCIMENTO¹

Itamar Pereira de Oliveira², Michael Djie Thung³,
Carla Maria Ribeiro de Souza⁴ e Renato S. Mota dos Santos⁵

ABSTRACT

ACTIVITY OF ACID PHOSPHATASE IN COMMON BEAN AND ITS CORRELATION WITH SOME PARAMETERS OF PLANT GROWTH

A field experiment was carried out at the experimental field of Embrapa Arroz e Feijão with the objective to select representative parameters of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plant growth to be correlated with acid phosphatase activity. The importance of this phosphatase is related with its ability to improve phosphorus up fall under low concentration in acid soil. Five common bean cultivars were tested harvesting plants at weekly interval starting from 7 till 56 days after germination. The enzyme activity in decreasing order was observed in the LM 300030, Carioca, A-176, CNF-10 and Jalo cultivars at 14 day old plants. All the plant parameters analyzed correlated negatively with enzyme activity. Then, the phosphatase activity was considered as a complementary mechanism to the plant to supply its phosphorus needs. The curves of acid phosphatase activity, inorganic and total phosphorus were similar and expressed by second grade equations while both, inorganic and total phosphorus, decreased according to negatively exponential equation modelings.

KEY WORDS: Phosphatase, acid soil, common bean, *Phaseolus vulgaris*, genotypes.

INTRODUÇÃO

A expressão do potencial produtivo de uma cultivar é exteriorizada de acordo com o seu grau de adaptação aos ambientes, muitas vezes adversos às condições ideais para seu desenvolvimento. O processo produtivo, neste caso, é acionado por mecanis-

RESUMO

Um experimento em condições de campo foi realizado no campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão, Goiânia (GO), com a finalidade de selecionar parâmetros representativos do desenvolvimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) para serem correlacionados com a atividade da fosfatase ácida. A importância desta fosfatase está relacionada com a sua habilidade de retirar fósforo em condições de baixo teor deste nutriente em solo ácido. Foram testadas cinco cultivares de feijão através do recolhimento semanal de plantas entre 7 e 56 dias após germinação. Os maiores valores da atividade, em ordem decrescente, foram observadas nas cultivares LM 300030, Carioca, A-176, CNF-10 e Jalo, em plantas com idade entre 7 e 14 dias. Todos os parâmetros de crescimento analisados correlacionaram-se negativamente com a atividade desta enzima. Por isso, a atividade da fosfatase foi considerada um mecanismo complementar que a planta utiliza para suprir suas necessidades em fósforo. As curvas de atividade da fosfatase ácida, fósforo inorgânico e fósforo total foram semelhantes e expressas por equações do segundo grau, enquanto os fósforos, inorgânico e total, decresceram de acordo com o modelo negativo de equações exponenciais.

PALAVRAS-CHAVE: Fosfatase, acidez do solo, feijão, *Phaseolus vulgaris*, genótipos.

mos químicos e fisiológicos, envolvendo sintetados, enzimas e hormônios, para que a planta complete o seu desenvolvimento. Em ambientes pobres em fósforo, um dos mecanismos envolvidos é a produção de fosfatase ácida.

Esta enzima, a fosfatase, no reino vegetal pode ser constitutiva ou induzida por fatores externos como

1. Pesquisa realizada entre a Embrapa Arroz e Feijão e Centro Internacional de Agricultura Tropical. Entregue para publicação em setembro de 1999.

2. Embrapa Arroz e Feijão. C.P. 179. CEP. 75.375.000. Santo Antonio de Goiás. Goiás.

3. Centro Internacional de Agricultura Tropical.

4. Bolsista do CNPq.

5. Pós-graduando em Agronomia da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO.

deficiência de fósforo inorgânico ou dificuldade de absorver fósforo em condições de falta de água. O fósforo inorgânico constitui uma fração expressiva do fósforo total em muitos solos (Appiah 1975). Tarafdard *et al.* (1981) verificaram que a atividade da fosfatase ácida apresenta uma correlação significativa com o fósforo inorgânico. A concentração de fósforo inorgânico no tecido da planta constitui um parâmetro de eficiência ao uso de fósforo. Quanto menor o teor de fósforo inorgânico no tecido, maior a atividade da fosfatase ácida no mecanismo do uso de fósforo pelas plantas (Freitas 1995).

Formas distintas desta enzima, denominadas isoenzimas, ocorrem como resultado das respostas adaptativas ou, então, naturalmente em diferentes órgãos da mesma planta (Tamura *et al.* 1982). Elas podem estar livres no solo ou ligadas à parede celular ou até mesmo localizadas na face externa do plasmalema. Embora o papel desta enzima não seja totalmente conhecido, sabe-se que, pelo fato de absorver do solo apenas formas inorgânicas de fosfato, a planta pode ser um agente transportador destes compostos ou um agente hidrolisador dos ésteres dos fosfatos no meio, convertendo formas não disponíveis em disponíveis. A habilidade de retirar fósforo em situações com baixo teor de fósforo disponível foi associada à capacidade das plantas em acidificar a região da raiz. MacLachlan (1976) observou uma relação direta entre a capacidade de a planta absorver fósforo do solo e a atividade da fosfatase ácida. Besford (1976) considera que o teste de fosfatase ácida pode ser usado como teste rápido para diagnosticar deficiência no uso de fósforo.

A fosfatase ácida encontrada no solo nem sempre é de origem vegetal. A atividade da fosfatase ácida exocelular foi determinada como estimativa da capacidade de absorção das formas inorgânicas de fosfatos no solo. A concentração de enzima aumenta quando a quantidade de fósforo é baixa ou quando a planta não consegue explorar o fósforo inorgânico disponível. Como indicativo de que estas fosfatases são enzimas adaptativas, ocorre a intensificação da sua síntese pela planta ou por microrganismos, determinada pela exigência metabólica de fosfato pelos seres vivos.

Se a produção de fosfatases é mecanismo de adaptação que ocorre em maior quantidade em situações de baixa disponibilidade de fósforo, ou em plantas com menor capacidade de utilizar fósforo inorgânico do solo, a relação inversa entre produção de massa e atividade enzimática pode, então, ser útil quando se desejam discriminar espécies capazes de

utilizar melhor o fósforo do solo. Alguns parâmetros representativos do crescimento da planta e relacionados com a atividade desta enzima podem ser observados na seleção de plantas a serem adaptadas a ambientes pobres em fósforo.

O índice da atividade de fosfatase ácida poderia também ser indicador da carência de fósforo, de produções das cultivares ou da indisponibilidade induzida deste nutriente por elevadas concentrações de alumínio trocável ou de manganês disponível no solo.

O presente trabalho tem como objetivos avaliar o comportamento da enzima fosfatase ácida e conhecer a correlação entre a atividade da fosfatase ácida com os pesos verde e seco da parte áreas, raiz e total, densidade ótica e os teores de fósforo inorgânico, em cinco cultivares do feijoeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão, Goiânia (GO), em latossolo-vermelho escuro, contendo 1 e 27 g kg⁻¹ de P e K; 1,5 e 0,7 cmol_c kg⁻¹ de Ca e Mg, respectivamente, com cinco cultivares do feijoeiro (Carioca, LM 300030, A-176, CNF-10 e Jalo). As raízes foram submetidas aos testes de fosfatase ácida pelo método colorimétrico (Bessey *et al.* 1946, McLachlan 1976), e tiveram o fósforo inorgânico (PI) (MacLachlan 1976, Thung 1995) analisado em intervalos de sete em sete dias, após a germinação, até 56 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições.

O sistema radicular foi lavado em água corrente, com sabão neutro e com água destilada. As amostras de 2 gramas foram colocadas em soluções reagentes. Os tubos foram incubados por 40 minutos a 30°C (Freitas 1995). Após a incubação, juntaram-se 3 ml de extrato a 3 ml de tampão PNPP + ctanol 1% + Triton X-100 0,1%. Os tubos foram vedados e submetidos a vácuo sob pressão negativa de 50 mm de mercúrio até que as bolhas de ar características fossem retiradas da solução.

As leituras da densidade ótica (DO) foram realizadas no espectrofotômetro em absorbância, com comprimento de onda de 410 nm, contra uma prova em branco que continha todos os ingredientes, exceto extrato da raiz. A atividade da fosfatase ácida foi expressa pela relação DO/g de matéria seca.

A solução de paranitrofenilfosfato (PNPP) foi composta de 27, 216 g de acetato de sódio (3H₂O), diluídos em 500 ml de água, e titulou-se até pH 5,5

com ácido acético 0,2M, adicionando 500 mg de paranitrofenolfosfato e completando-se para 1.000 ml.

O tampão básico de coloração de PNPP foi composto de 0,084 de glicerina, 3,920 g de hidróxido de sódio, completando o volume para 1.000 ml com água e elevando o pH a 12,6. No momento da sua utilização adicionou-se álcool etílico 1% e Triton X-100 0,1%.

O fósforo inorgânico (PI) foi analisado a 2,5cm da raiz principal, lavada com água destilada. Colocaram-se 5 ml de água destilada nos tubos de reações, que foram, então, mantidos em banho-maria a 45 °C durante 40 minutos. Extraiu-se 1,2 ml de extrato, colocou-se na água gelada para reduzir o efeito de oxirredução e adicionaram-se 2,1 ml de solução de mistura de ácido ascórbico (solução A) + heptamolíbato de amônio (solução B). As amostras foram levadas para estufa a 45°C por 20 minutos. As leituras foram feitas no espectrofotômetro, em comprimento de onda a 820 nm, contra uma prova em branco que continha todos os reagentes menos a raiz. Utilizaram-se tanto a solução dupla da mistura A, contendo 10% de ácido ascórbico, quanto a mistura B, contendo 0,42% de heptamolíbato de amônio.

Após a leitura das soluções, foi feita uma curva padrão de P com a finalidade de transformar a leitura em absorbância em mg kg⁻¹ de PI (fósforo inorgânico) e posteriormente para 0,1 g L⁻¹ (Figura 1).

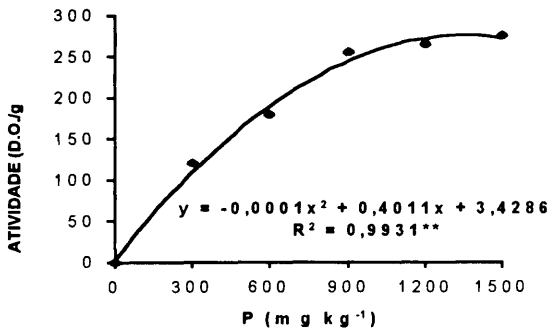


Figura 1. Curva padrão relacionando leituras das dosagens crescentes de fósforo e densidade ótica (DO), onde atividade = densidade ótica/g.

A determinação de P-total foi realizada levando as plantas inteiras (parte aérea, raiz a 2,5 cm) à estufa a 105°C durante 48 horas. Após secas, foram moídas e submetidas à análise foliar (Moraes & Rabelo 1986).

Os dados dos parâmetros de produção (crescimento da raiz, massa da matéria verde total, massa da matéria verde da raiz e da parte aérea, fosfatase

ácida da massa da matéria verde da raiz, matéria seca da raiz, fosfatase ácida da matéria seca da raiz, massa da matéria seca da parte aérea e massa da matéria seca total da raiz) foram anotados com a finalidade de verificar a correlação entre a produção e a atividade da fosfatase ácida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observaram-se diferenças significativas da atividade da fosfatase ácida entre cultivares (Figura 2). As cultivares que apresentaram maior atividade da fosfatase ácida foram Carioca, LM 300030 e A-176. A importância destas respostas diferenciadas está no conhecimento da capacidade de desenvolvimento e produção de determinadas cultivares em solos pobres em fósforo. Já se observou que a concentração desta enzima aumenta na planta quando esta é desenvolvida em ambiente com baixas concentrações de fósforo ou quando ela não consegue explorar o fósforo inorgânico disponível.

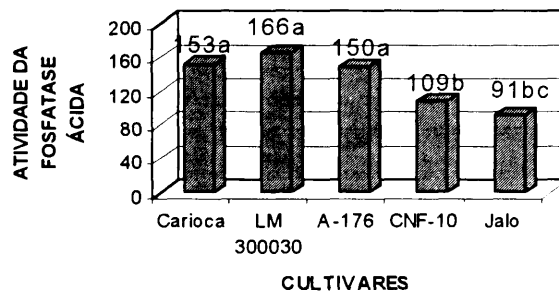


Figura 2. Resposta diferencial da atividade ácida entre cultivares aos 14 dias após a germinação.

As fosfatases são enzimas adaptativas e a intensificação da sua síntese em plantas ou em microrganismos é determinada pela necessidade de fósforo para o seu desenvolvimento. MacLachlan (1976), ao observar a relação entre a capacidade da planta em absorver fósforo e a atividade da fosfatase ácida, atribuiu a habilidade de retirar fósforo em situações com baixo teor de fósforo disponível à capacidade da planta em acidificar a região em torno da raiz.

Os parâmetros de crescimento correlacionaram positivos linearmente com a densidade ótica (Tabela 1), significando que quanto mais velha a planta, maiores quantidades de fósforo, em valores absolutos, encontram-se no seu tecido e maiores leituras são obtidas no espectrofotômetro. O mesmo não correu com a atividade da fosfatase ácida, que é um parâmetro relativo, isto é, a atividade é o produto da

divisão da densidade ótica pela quantidade em grammas de matéria seca, equivalente à matéria verde utilizada nos testes de atividade da fosfatase ácida (AFA=DO/g). Matile (1965) e Baker & Takeo (1974) haviam observado que uma maior atividade da enzima ocorre em tecidos novos. Isto pode explicar por que a concentração de fósforo no tecido e a atividade da fosfatase ácida vão diminuindo à medida que a planta vai envelhecendo. O peso verde da raiz (-0,94), o peso seco total da raiz (-0,92), o peso seco da raiz (-0,92), o comprimento da raiz (-0,92), a fosfatase ácida do peso verde da raiz a 2,5 cm (-0,88), o peso verde total (-0,87) foram significativos e negativamente correlacionados linearmente com a atividade da fosfatase ácida. (Tabela 1).

As cultivares com maior atividade da fosfatase ácida apresentaram menores comprimentos das raízes (Figuras 2, 3 e 4). É provável que estas cultivares por disporem de um sistema radicular pouco desenvolvido apresentem dificuldade em absorver nutrientes, dentre eles o fósforo. Para conseguir retirar as quantidades necessárias deste nutriente do ambiente, o feijoeiro desenvolve o mecanismo da atividade da fosfatase. Breseghelo *et al.* (1987) concluíram haver maior grau de atividade da fosfatase ácida em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) com sistema radicular reduzido, sugerindo ser a atividade da fosfatase ácida um mecanismo complementar de absorção de fósforo.

Tabela 1. Correlação linear entre densidade ótica (DO) e atividade da fosfatase ácida (AFA) com parâmetros de crescimento em plantas do feijoeiro com 14 dias após a germinação.

	CR ¹	PVR ²	PVPA ³	PVT ⁴	PVRFA ⁵	PSR ⁶	PSRFA ⁷	PSPA ⁸	PSRT ⁹
DO	NS	0,88*	0,89*	0,89*	0,94*	0,92*	NS	0,89*	NS
AFA	-0,92	-0,94*	NS	-0,87*	NS	-0,92*	-0,88*	NS	-0,92*

* Correlação significativa ao nível de 1%

1. CR = comprimento da raiz, 2. PVR = peso verde da raiz, 3. PVPA = peso verde da parte aérea, 4. PVT = peso verde total, 5. PVRFA = fosfatase ácida na massa verde da raiz a 2,5 cm, 6. PSR = peso seco da raiz, 7. PSRFA = fosfatase ácida na matéria seca da raiz a 2,5 cm, 8. PSPA = peso seco da parte aérea, 9. PSRT = peso seco total da raiz.

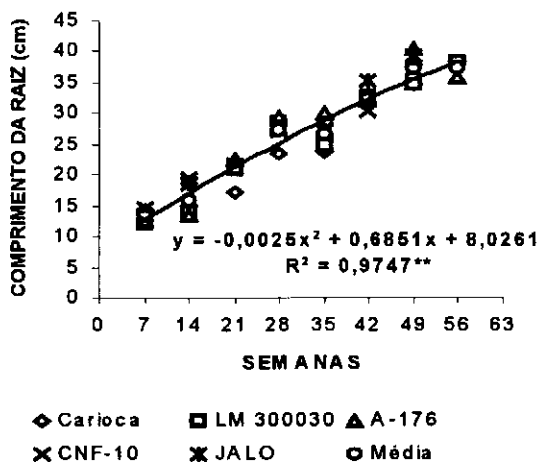


Figura 3. Comprimento da raiz do feijoeiro.

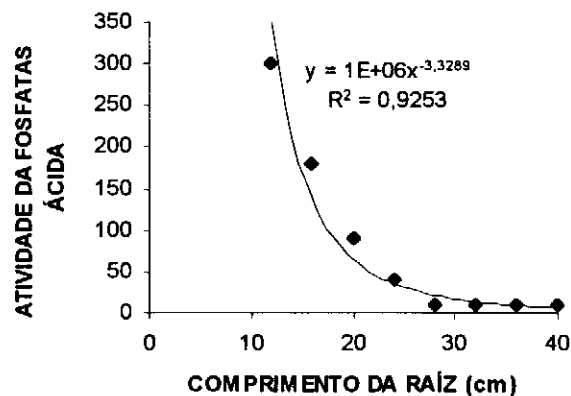


Figura 4. Comprimento de raiz em relação à atividade da fosfatase ácida do feijoeiro

Os maiores valores de atividade da fosfatase ácida foram observadas em plantas com idade entre 7 e 14 dias (Figura 5). Mesmo que a planta não apresente a máxima atividade da enzima, é nesta fase que ela produz volume de massa verde suficiente para ser usado nos testes analíticos. As duas primeiras semanas constituem o tempo necessário para que a planta consuma suas próprias reservas provenientes das sementes. Somente após este período é que as folhas trifoliadas apresentam uma área satisfatória para realizar a fotossíntese e fabricar suas próprias reservas. A amostragem em plantas, 15 dias após a germinação, é correta para conseguir dados da atividade de fosfatase ácida, pois a planta se encontra em pleno desenvolvimento e numa fase em que esta enzima encontra-se ainda bastante ativa.

Os teores de fósforo inorgânico e de fósforo total apresentaram uma redução proporcional ao envelhecimento da planta. (Figuras 6 e 7). Algumas considerações importantes devem ser desenvolvidas para explicar os resultados obtidos, porque, embora seja considerada constitutiva no reino vegetal, esta enzima pode ser induzida por fatores externos. Como endoenzima ela pode funcionar como carreadora do fósforo e favorecer a sua absorção (Bielecki 1973); como exoenzima pode atuar como condicionador do ambiente. Se ácido, ela pode hidrolisar o fósforo não disponível, tornando-o acessível ao sistema radicular (Appiah 1975). Freitas (1995) considera que quanto menor o teor de fósforo orgânico no tecido, maior a eficiência da enzima nos mecanismos de obtenção de fósforo pelo vegetal.

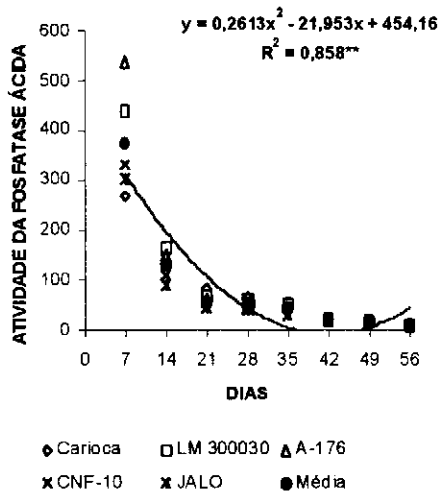


Figura 5. Atividade da fosfatase ácida na raiz de cinco cultivares do feijoeiro.

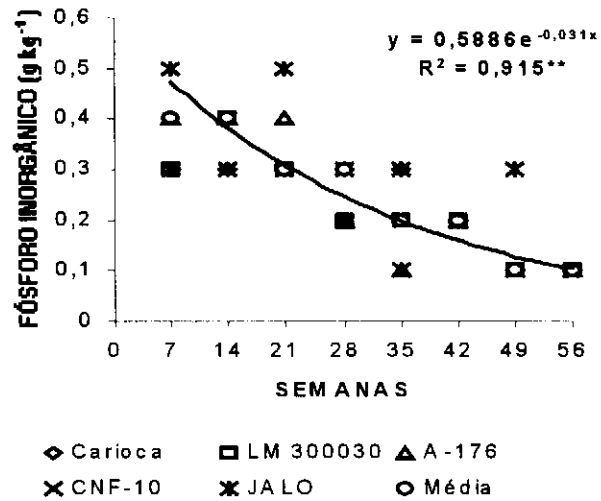


Figura 6. Concentração média de fósforo inorgânico na raiz do feijoeiro em relação à idade da planta

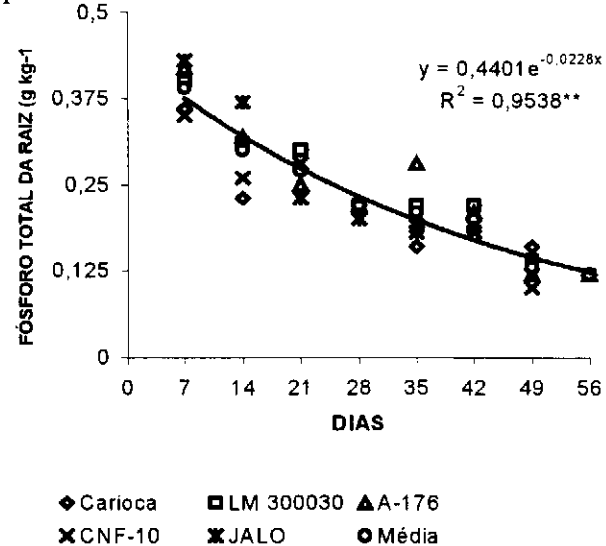


Figura 7. Concentração de fósforo total na raiz do feijoeiro em relação à idade da planta.

O que se pode observar é que a atividade desta enzima é oposta ao processo de crescimento vegetal. (Tabela 2 e Figuras 8 e 9). Enquanto as massas das matérias verde e seca aumentam com a idade da planta, a atividade do enzima decresce. Esses resultados sugerem que existe algum mecanismo regulador na planta, que ativa a enzima no momento oportuno em que a planta necessita do nutriente. A atividade da enzima é grande enquanto a planta não apresenta um volume de raiz suficiente para absorver o fósforo do ambiente. À medida que o crescimento da parte aérea, que corresponde ao desenvolvimento radicular, vai-se tornando independente, a atividade da fosfatase ácida vai decrescendo.

Tabela 2. Correlação linear entre peso verde (PVR) e peso seco da raiz (PSR) com alguns parâmetros de crescimento em plantas feijoeiro, 14 dias após a germinação.

	PVPA ¹	PVT ²	PVRFA ³	PSR ⁴	PSRFA ⁵	PSPA ⁶	DO ⁷	LI ⁸	LI ⁹	PSR ¹⁰	PST ¹¹
PVPA	-	0,99**	0,98**	0,93	-	0,98**	0,89*	-	0,93*	0,93*	0,98**
PVR ¹²	0,95*	0,97*	-	0,98**	0,94*	0,98**	0,88*	0,91*	0,92*	0,99**	0,98*
PVT	0,99**	-	0,99**	0,95*	0,99**	0,99**	0,89*	0,93*	0,93*	0,95*	0,99**
PSPA	0,98**	0,99**	0,96**	0,97**	-	-	0,89*	0,95*	0,96*	0,97**	0,99**
PSR	0,93*	0,94*	0,92*	-	0,93*	0,97**	0,92*	0,87*	0,89*	-	0,98*
PST	0,97**	0,98**	0,95*	0,98**	0,98*	0,99**	0,90*	0,94*	0,98**	0,98**	-

* e ** significativos a 1 e 5% respectivamente.

1. PVPA = peso verde da parte aérea, 2. PVT = peso verde total, 3. PVRFA = fosfatase ácida na massa verde da raiz, 4. PSR = peso seco da raiz, 5. PSRFA = fosfatase ácida na matéria seca da raiz a 2,5 cm, 6. - PSPA = peso seco da parte aérea, 7. DO = densidade ótica, 8. LI = leitura de fósforo inorgânico no espectrofotômetro, 9. LI = leitura de fósforo inorgânico em (mg/kg⁻¹), 10. PSR = peso seco da raiz, 11. PST = peso seco total, 12. PVR = peso verde da raiz.

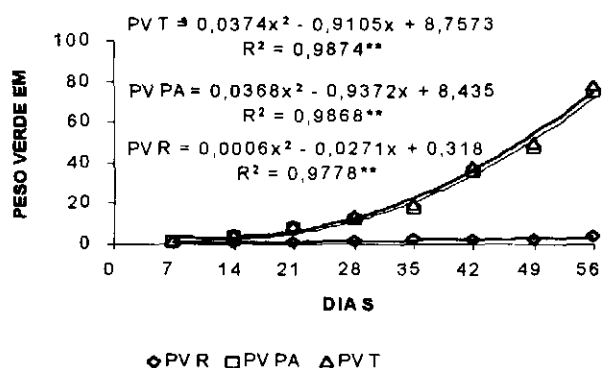


Figura 8. Peso verde médio do feijoeiro obtido semanalmente durante o período de experimentação.

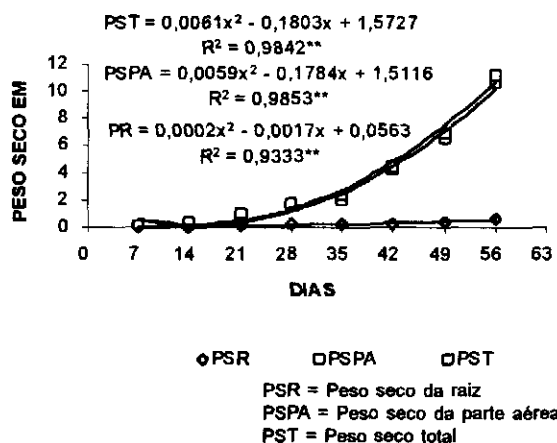


Figura 9. Peso seco médio do feijoeiro durante o período de experimentação.

Os testes de correlação mostraram que a atividade da fosfatase é inversamente proporcional ao peso verde, ao peso seco da raiz e ao peso total da planta. (Tabela 2). Já que todos os demais parâmetros repre-

sentativos do crescimento do feijoeiro correlacionam entre si, estes testes devem ser usados para testes de deficiência nutricional de fósforo. Atualmente, precisa ser definido até quanto a menor atividade da enzima reflete em menor teor de fósforo no tecido em determinada fase de crescimento da planta do feijoeiro bem nutrido. Observando as Figuras 4, 6 e 7 pode-se concluir que a tendência de comportamento similar da atividade da enzima com os teores de fósforo concordam com Besford (1976), que considera o teste da fosfatase ácida uma ferramenta que pode ser usada como teste rápido para diagnosticar a deficiência de fósforo na planta.

Associando os resultados com o desenvolvimento do feijoeiro em campo, onde a cultura é quase sempre desenvolvida em áreas com resíduo de adubação fosfatada, pode-se inferir que comportamentos diferenciais podem ser esperados quando se desenvolvem várias cultivares em uma mesma área. Oliveira & Malavolta (1982) e Oliveira *et al.* (1983) atribuíram à ação de alguma enzima, até então não definida, a diferenciação na eficiência do uso de fósforo nas várias cultivares do feijoeiro desenvolvidas na presença de alumínio e manganês. Oliveira *et al.* (1987) apresentaram resultados parciais que vêm confirmando a importância da atividade enzimática na absorção de fósforo.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, concluiu-se que a densidade ótica correlacionou o peso verde seco da parte aérea, raiz e total positivamente com os parâmetros da planta, tais como crescimento da raiz, peso verde da raiz, peso verde da parte aérea, peso verde total, peso verde da raiz a 2,5 cm do caule, peso seco da raiz, peso seco da parte

aérea e peso seco total da raiz. Ao contrário, a atividade da fosfatase ácida correlacionou negativamente com os mesmos parâmetros.

O comprimento da raiz, a produção de massa verde e a produção de matéria seca aumentaram, enquanto a atividade da fosfatase ácida e as concentrações de fósforo inorgânico e total reduziram com a idade da planta. A queda da atividade da fosfatase ácida, em função do crescimento da planta, foi muito menor em relação à queda das absorções de fósforo inorgânico e total. Enquanto a atividade foi descrita através de uma curva do segundo grau, as absorções de fósforo orgânico e total foram descritas através de equações exponenciais.

Todos os parâmetros de crescimento correlacionaram positivamente entre si e com as leituras de fósforo inorgânico no tecido. Devido a este resultado, pode-se inferir que o mecanismo da atividade da fosfatase ácida é um processo de compensação que o feijoeiro utiliza para cobrir suas carências em fósforo durante o seu desenvolvimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Appiah, M. R. 1975. Organic phosphorus and phosphatase activity in cocoa soils in Ghana. *Journal of Agricultural Science*, 8:45-50.
- Baker, J. & T. Takeo. 1974. Acid phosphatase in plant tissues: Changes in activity and multiple forms in tea leaves and tomato fruit during maturation and senescence. *Study of Tea*, 46: 63-75.
- Besford, R. T. 1976. Effect of phosphorus supply on acid phosphatase activity in the leaves of tomato plants. *Scientific Horticulture*, 9 (4):303-9.
- Bialeski, R. L. 1973. Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability. *Annual Review of Plant Physiology*, 24: 225-52.
- Breseghele, M. L. 1987. Respostas diferenciais de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) ao teste da fosfatase ácida. Dissertação de Mestrado. Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, 62p.
- Freitas, J. R. 1995. Atividade da enzima fosfatase ácida em folhas e raízes de feijoeiro *Phaseolus vulgaris*. Embrapa Arroz e Feijão, 26p. (Relatório interno).
- Matile, P. 1965. Lysosomes of root tip cells in corn seedlings. *Planta*, 79: 181-96.
- Malachlan, K. D. 1976. Comparative phosphorus responses in plants to a range of available phosphorus situation. *Australian Journal of Agriculture Research*, 27: 232-41.
- Moraes, J. F. V. & N. A. Rabelo. 1986. Um método simples para a digestão de amostras de plantas. Embrapa-CNPAF. 12p. (Documentos, 12).
- Oliveira, I.P. & E. Malavolta. 1982. Efeitos do alumínio e do manganês no feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 17 (4):549-57.
- Oliveira, I.P. & E. Malavolta. 1983. Uso de P³² nos testes de sensibilidade do feijoeiro ao alumínio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 18 (2):91-104.
- Oliveira, I.P., M. Thung, J. Kluthcouski, H. Aida & J. R. Carvalho. 1987. Avaliação de cultivares de feijão quanto à eficiência no uso de fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 22 (1): 39-45.
- Tamura, T., T. Minamikawa & T. Koshiba. 1982. Multiple forms of acid phosphatase in cotyledones of *Vigna mungo* seedlings. *Journal of Experimental Botanic*, 33 (137):1332-9.
- Tarafdard, J. C., A. B. Roy & G. Mandalak. 1981. Enzyme status of some jute-growing soils of west Bengal. *Australian Journal of Soil*, 2: 181-84.
- Thung, M. D. 1995. Teste enzimático da fosfatase ácida. Embrapa Arroz e Feijão, 15p. (Relatório interno).