

DEFICIÊNCIA DE COBRE E ZINCO EM PLANTAS DE TOMATE CULTIVADAS EM SOLUÇÕES NUTRITIVAS SUBMETIDAS A TRÊS DIFERENTES MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO^{1/}

Renildes Lúcio Ferreira Fontes^{2/}

Pedro Henrique Monnerat^{3/}

Victor Hugo Alvarez Venegas^{4/}

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de zinco como nutriente essencial para plantas superiores foi demonstrada por Mazé (1914), citado por HEWITT e SMITH (6), enquanto o cobre teve sua confirmação como elemento essencial feita por SOMMER (19) e LIPMAN e MACKINNEY (11).

Trabalhos com soluções nutritivas, envolvendo deficiências de cobre e zinco em plantas, são dificultados pela facilidade de ocorrência de contaminação, que pode originar-se do material utilizado (água, areia, recipiente, sais minerais, sementes etc....), bem como da atmosfera (poeira, substâncias voláteis, aeração etc....) (5, 6, 14, 21, 22).

^{1/} Parte da tese apresentada à UFV, pelo primeiro autor, como um dos requisitos para a obtenção do título de «Magister Scientiae» em Solos e Nutrição de Plantas.

Aceito para publicação em 11-05-1987.

^{2/} Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. 36570 Viçosa, MG.

^{3/} Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. 36570 Viçosa, MG. Pesquisador do CNPq.

^{4/} Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa. 36570 Viçosa, MG.

O cobre e o zinco podem ser removidos das soluções nutritivas, usando-se para isso a mesma técnica de purificação, que pode ser a adsorção e precipitação com CaCO_3 (6, 13, 20, 22), a extração com ditizona (difeniltiocarbazona) (5, 6, 15, 16, 21, 22) ou a extração com APDC (pirrolidina ditiocarbamato de amônio) (3, 12, 18, 23).

O objetivo deste trabalho foi testar três métodos de purificação de soluções nutritivas, visando induzir deficiências de cobre e zinco em plantas. Procurou-se determinar o método de purificação mais eficiente e que possibilitasse melhores condições de trabalho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição Mineral e em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Utilizou-se água desionizada. A areia para a germinação das sementes foi previamente tratada com HCl comercial 1:1, a qual continha ácido oxálico a 1%, quente (6).

Os subsídios e recipientes foram previamente lavados com HCl comercial 1:1 e enxaguados, quatro ou cinco vezes, com água desionizada. Utilizaram-se recipientes plásticos para o crescimento das plantas.

Foram utilizadas duas formulações de solução nutritiva:

a) Solução de Arnon (1938), citado por STOUT e ARNON (22), com KNO_3 6 mM, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 4 mM, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2 mM e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1 mM, usando-se precipitação e adsorção com CaCO_3 , seguida de extração com ditizona, para purificar as soluções (22).

b) Solução de Hoagland e Snyder (1933), citados por WALLIHAN e BRADFORD (23), com KNO_3 5 mM, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, modificada para 4 mM, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2 mM e KH_2PO_4 1 mM, usando-se extração com APDC para purificar as soluções, de acordo com WALLIHAN e BRADFORD (23).

Utilizou-se solução de micronutrientes de JOHNSON *et alii* (8), modificando-se a formulação para B 25 mM, Mn 2 mM, Cl 1,7 mM, Cu 0,5 mM, Mo 0,5 mM, Zn 2 mM e Fe 40 mM. A solução de crescimento utilizada foi obtida após a diluição da solução-estoque de micronutrientes de 1:1000. A solução de Fe^{3+} foi preparada com $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, sendo usado o Na_2EDTA como agente complexante.

A solução de micronutrientes, exceto a de íons ferro, não foi submetida a nenhuma técnica de purificação. A solução «a» foi purificada de acordo com os métodos I e II e a solução «b» de acordo com o método III, descritos a seguir.

2.1. Purificação das Soluções-Estoque

2.1.1. Método I

As soluções de KNO_3 1M, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 1M, MgSO_4 1M e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 1M foram purificadas por meio de adsorção com CaCO_3 (22), seguida de extração com ditizona (4, 5).

a. Adsorção e precipitação de Zn^{2+} e Cu^{2+} com CaCO_3 , na presença de íons cálcio e fosfato: em «erlenmeyer» de quatro litros, para cada solução-estoque, foram colocados 13g de CaCO_3 por litro de solução. Para MgSO_4 , adicionaram-se 10 ml de K_2HPO_4 1M e 10 ml de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 1M, por litro de solução-estoque. Para KNO_3 , foram adicionados 10 ml de K_2HPO_4 1M e, para $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 10 ml de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, por litro de solução-estoque.

Os frascos foram tampados com chumaços de algodão, agitados energeticamente e levados à autoclave, onde permaneceram durante 1 hora, à temperatura de 120°C e pressão de 1,4 atm. Após resfriamento, os frascos ficaram em repouso por 12 horas. Fez-se a filtração a vácuo das misturas, sendo os filtrados armazenados em «erlenmeyer» de pirex. A solução de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ foi acidificada com HNO_3 concentrado, ajustando-se o pH a 5,5, para que íons HPO_4^{2-} passassem a íons H_2PO_4^- , que é a forma iônica preferencialmente absorvida pelas plantas. A solução de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 1M apresenta pH básico, o que garante maior eficiência na remoção de cobre e zinco com CaCO_3 (20, 22). Não se utilizou solução de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ devido ao seu pH ácido, uma vez que a co-precipitação e adsorção de cobre e zinco com CaCO_3 são dependentes da menor acidez do meio (20).

b. Extração de cobre e zinco com ditizona

A solução de ditizona foi preparada de acordo com FRIES (4), dissolvendo-se 200 mg desse reagente em 100 ml de CHCl_3 (clorofórmio), em «erlenmeyer» de 500 ml. Transferiu-se a solução para um funil de separação, de 500 ml, adicionando-se 50 ml da solução de 0,02N de NH_4OH . Agitou-se por dois minutos e recolheu-se a fase aquosa em copo de Griffin. Repetiu-se a adição de NH_4OH por mais três vezes, ajuntando-se os extratos aquosos em um funil de separação, de 500 ml. Adicionaram-se 100 ml de CHCl_3 e 5 ml de HCl 1N, agitou-se por dois minutos e descartou-se a fase aquosa. Adicionaram-se 50 ml de água desionizada à fase orgânica e, após agitação por dois minutos, descartou-se a fase aquosa, armazenando-se a solução extratora. As extrações foram feitas mediante a dissolução da solução extratora, com CHCl_3 , na proporção de 1 para 20 (4).

Fez-se a extração simultânea de cobre e zinco em pH 5,0 (5), em funil de separação, de dois litros. Para um litro de cada solução-estoque, adicionaram-se 100 ml da solução extratora, agitando-se vigorosamente por quatro minutos. Para a solução de MgSO_4 , foram adicionados 10 ml de solução de citrato de amônio por litro, para prevenir a precipitação de fosfatos (22). Coloração violeta ou vermelha, na fase orgânica, indicava a presença de cobre ou de zinco, devendo descartar-se a fase orgânica e repetir a adição de 100 ml de solução de ditizona até que a coloração da solução extratora se apresentasse verde. A eficiência da extração foi confirmada, determinando-se, após as purificações, as concentrações de cobre e zinco nas soluções-estoque, usando-se o método de HOLMES (7).

2.1.2. Método II

Repetiu-se o método I, fazendo-se as extrações de cobre e zinco, separadamente, com ditizona. Para a extração de cobre, ajustou-se o pH das soluções a 2,5 (3, 15). A extração do zinco foi feita em pH 8,3, na presença de 100 ml de solução-tampão de citrato de amônio por litro de solução-estoque (15). As soluções-estoque foram iguais às purificadas por meio do método I.

2.1.3. Método III

A solução extratora foi preparada mediante a dissolução de 10 mg de pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC) em 100 ml de CHCl_3 (12, 23).

Soluções-estoque de KNO_3 5M, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 4M, MgSO_4 2M e KH_2PO_4 1M foram purificadas, separadamente, por extração de cobre e zinco com APDC (pirrolidina ditiocarbamato de amônio), dissolvido em CHCl_3 , em pH 4,5 (3, 12, 23).

A extração foi feita em funil de separação, de dois litros, misturando-se 100 ml

de solução extratora com um litro de solução-estoque de sal. Após a agitação da mistura durante cinco minutos, a fase orgânica foi descartada, restando-se a solução aquosa. Adicionaram-se mais 100 ml de CHCl_3 , agitou-se por cinco minutos e, após a separação das fases, descartou-se a solução extratora, armazenando-se a solução-estoque do sal, já purificada.

2.1.4. Purificação do cloreto férrico

Dissolveram-se 5,4 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 50 ml de HCl 0,5 N. Essa solução foi passada através de resina de troca aniônica marca DOWEX 1 x-8 (50-100 mesh), que tem a característica de reter o zinco quando este está presente em solução de HCl 0,5 N (10, 17, 23). A resina foi preparada e ativada de acordo com o procedimento descrito por COOPER (2), e o empacotamento da coluna seguiu o procedimento descrito por KRAUS e MOORE (10).

A solução do agente complexante foi preparada com 7,4 g de Na_2EDTA dissolvidos em 200 ml de água desionizada. Adicionou-se a solução de FeCl_3 purificada à de Na_2EDTA , em balão volumétrico de 500 ml, e completou-se o volume com água desionizada. A solução-estoque de Fe-EDTA foi armazenada em balão volumétrico recoberto com papel-alumínio.

O cloreto férrico foi purificado, devido à contaminação com zinco, frequentemente encontrada em sais ferrosos (23).

2.2. Delineamento, Instalação e Condução do Ensaio

Os tratamentos foram definidos de acordo com o seguinte fatorial: três métodos de purificação x três soluções de micronutrientes (ausência de cobre, ausência de zinco e solução completa). Os tratamentos, com quatro repetições, foram distribuídos no delineamento inteiramente casualizado.

O ensaio com plantas foi instalado com a cultura do tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill), cv. 'Kada'. As sementes foram colocadas para germinar em bandejas plásticas com areia tratada. Foram feitas irrigações, até o transplântio das mudas, com solução nutritiva sem cobre e sem zinco (solução «a» com um terço de sua concentração original). As mudas foram transplantadas, com cerca de 5 cm de altura, para recipientes plásticos de cinco litros, com soluções purificadas.

O pH das soluções foi mantido em 6,0 e o arejamento foi constante. O volume dos recipientes, sempre que necessário, era completado com água desionizada. As soluções foram trocadas 15 dias após o transplântio e, depois, de sete em sete dias, até a colheita das plantas. Foram feitas pulverizações com o inseticida AMBUSH 50 CE, de sete em sete dias, na dosagem de 0,2 ml por litro, para impedir o aparecimento da broca *Scrobipalpus absoluta*.

2.3. Colheita do Material Vegetal

As plantas foram colhidas 50 dias após o transplântio. Foram separados sistema radicular, caule e folhas. As folhas foram separadas em inferiores e superiores, tomando-se como limite o ponto médio da parte aérea, e em pecíolos e límbos.

As amostras foram deixadas na estufa, a 72°C, sob ventilação forçada, por 48 horas.

Determinou-se o peso do material seco, fez-se a digestão nitroperclórica das amostras e determinaram-se cobre e zinco por espectrofotometria de absorção atômica, segundo o método de ZAZOSKI e BURAU (24).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. *Matéria Seca das Plantas — Comparações entre os Métodos de Purificação de Soluções*

As menores produções de matéria seca das plantas submetidas à deficiência de cobre e zinco, em relação aos tratamentos completos, indicam que os três métodos de purificação permitiram a indução de deficiência desses micronutrientes (Quadros 1 e 2).

A extração de zinco com APDC correspondeu à produção de menores quantidades de matéria seca (Quadro 1). A análise de variância mostrou que foi esse o método de purificação mais eficiente na indução de deficiência de zinco nas plantas de tomate (Quadro 2).

Não houve diferença significativa entre os três métodos de purificação na indução de deficiência de cobre, exceto nas raízes, nas quais o método de extração com ditizona em pH 5,0 ocasionou a maior deficiência do micronutriente (Quadros 1 e 2).

De modo geral, os métodos I e II de purificação não diferiram significativamente entre si, para cobre ou para zinco (Quadro 2), o que mostra que a extração de cobre em pH 2,5 e de zinco em pH 8,3, com ditizona, não melhorou a eficiência de extração desses micronutrientes, em relação à extração em pH 5,0.

As soluções purificadas segundo o método III, extração com APDC, proporcionaram menores produções de matéria seca do que as das soluções purificadas de acordo com os métodos I e II, adsorção com CaCO_3 (Quadro 1). A análise de variância, para matéria seca produzida nas folhas, raízes e planta inteira, mostrou que houve diferença significativa entre a extração com APDC e a adsorção com CaCO_3 nos tratamentos com solução completa (Quadro 2).

No metabolismo vegetal, o NH_4^+ é incorporado diretamente aos esqueletos carbônicos, ao passo que o NO_3^- tem de ser reduzido a NH_3 para que possa ser utilizado pela planta (1). As soluções purificadas de acordo com os métodos I e II, solução «a», suprimam as plantas com NH_4^+ e NO_3^- , enquanto as soluções purificadas conforme o método III, solução «b», forneceram todo o nitrogênio na forma de NO_3^- , causa possível do menor crescimento vegetativo das plantas de tomate cultivadas em soluções completas purificadas por extração com APDC (Quadros 1 e 2). Esse efeito foi observado, também, nas plantas deficientes em zinco, o que não aconteceu com as deficientes em cobre (Quadros 1 e 2).

A purificação com CaCO_3 e ditizona, métodos I e II, consumiu um tempo de trabalho cerca de seis vezes maior do que o da extração com APDC, método III. O método II foi mais trabalhoso, devido à extração com ditizona em pH diferenciado. A extração com APDC possibilitou maior facilidade nos trabalhos de laboratório.

3.2. *Teores de Cobre e Zinco na Matéria Seca*

Os resultados da análise de variância, para teores de cobre (Quadro 3), não mostraram diferenças entre os métodos de purificação que justificassem o destaque de um deles como o melhor para induzir a deficiência desse micronutriente (Quadro 4).

A deficiência de cobre originou, em todas as partes da planta, exceto nas folhas superiores, teores de cobre abaixo de 4,0 ppm (Quadro 3). Esses baixos valores estão associados aos sintomas de deficiência observados e às pequenas produ-

ções de matéria seca em plantas deficientes nesse elemento (Quadro 1). Essas observações estão em consonância com as de JONES (9), que propõe o valor de 4,0 ppm na matéria seca como nível crítico de cobre em tecidos vegetais. Os teores de cobre nas folhas superiores (Quadro 3) atingiram valores superiores ao nível crítico citado. Deve-se ressaltar, porém, que isso não correspondeu à ausência de sintomas de deficiência nas referidas folhas.

As plantas deficientes em cobre apresentaram teores elevados de zinco, se comparados com os resultados obtidos para as plantas não deficientes (Quadro 5). Esse efeito foi devido a uma maior concentração de zinco nos tecidos deficientes em cobre, bem como à diluição do micronutriente nas plantas não deficientes, resultado das diferentes produções de matéria seca nos referidos tratamentos (Quadro 1). Assim, a análise de variância dos teores de zinco não mostrou diferenças, exceto para folhas superiores, quando se compararam as médias do tratamento completo com as médias dos tratamentos deficientes em cobre e em zinco (Quadro 6).

O nível crítico proposto por JONES (9) para o zinco é de 20 ppm na matéria seca. Nas raízes de plantas deficientes em zinco foram encontrados teores acima de 20 ppm, porém em todas as outras partes dessas plantas os teores ficaram abaixo desse valor (Quadro 5). É importante ressaltar que foi observado um efeito mais acentuado nas plantas deficientes devido à extração com APDC, visto que estas apresentaram teores de zinco sempre menores que seus correspondentes em plantas com deficiência devida à purificação das soluções com CaCO_3 e ditizona (Quadro 5). Essa diferença entre os métodos coincidiu com a obtida mediante a análise de produção de matéria seca (Quadros 1 e 2).

A análise de variância dos teores de zinco não revelou diferença entre a extração com APDC e os outros dois métodos de purificação nos tratamentos deficientes em zinco (Quadro 6). Entretanto, os resultados observados para produção de matéria seca (Quadros 1 e 2) e para teores de zinco nos tecidos vegetais (Quadro 5), aliados às observações dos sintomas de deficiência nas plantas, sugerem que a extração com APDC permitiu a indução de sintomas mais severos de deficiência de zinco.

A extração de cobre, com ditizona, em pH 2,5 não apresentou diferença em relação à extração em pH 5,0 (Quadro 4), não havendo também diferença entre as extrações de zinco em pH 8,3 e pH 5,0, com ditizona (Quadro 6).

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Este trabalho teve como objetivo testar três métodos de purificação de soluções nutritivas para a indução de deficiência de cobre e zinco em plantas. A eficiência dos métodos foi testada em um ensaio com plantas de tomate.

Os três métodos de purificação: 1) adsorção de cobre e zinco com CaCO_3 , seguida de extração com ditizona, em pH 5,0; 2) adsorção com CaCO_3 , seguida de extração de cobre, em pH 2,5, e zinco, em pH 8,3, com ditizona; 3) a extração de cobre e zinco com APDC (pirrolidina ditiocarbamato de amônio), em pH 4,5, permitiram a indução de deficiência desses elementos em plantas de tomate.

A extração com APDC foi o método mais eficiente na indução de deficiência de zinco, com bons resultados de indução de deficiência de cobre. A extração de cobre e zinco, com ditizona, em pH 2,5 e 8,3, respectivamente, não melhorou os resultados obtidos por meio da extração em pH 5,0.

O método de purificação por meio de extração com APDC (método III) mostrou ser o mais indicado para a indução de deficiência de cobre e zinco em tra-

QUADRO 1 - Matéria seca de partes e do total de plantas de tomate colhidas após 50 dias em soluções nutritivas submetidas a diferentes métodos de purificação de cobre e zinco, médias de quatro repetições

Deficiência	Método de purificação	Folhas	g/planta		
			Caulos	Raízes	Total
Cobre	I*	18,2	11,1	3,3	32,6
	II**	23,4	12,3	4,4	40,0
	III***	23,0	12,0	4,4	39,5
	Médias	21,5	11,8	4,0	37,4
Zinco	I	30,3	16,3	5,4	52,1
	II	34,3	19,8	5,7	59,8
	III	17,4	13,4	4,3	35,1
	Médias	27,6	16,5	5,1	49,0
Completo	I	52,2	28,1	9,4	89,7
	II	59,0	29,2	11,0	99,4
	III	44,6	25,8	8,3	78,8
	Médias	52,0	27,7	9,6	89,3
Médias		33,6	18,7	6,2	58,6

* Adsorção e precipitação de cobre e zinco (CaCO_3) + extração com ditizona (pH 5,0).

** Adsorção e precipitação de cobre e zinco (CaCO_3) + extração com ditizona (pH 5,0).

*** Adsorção e precipitação de cobre e zinco (CaCO_3) + extração com ditizona (pH 2,5).

**** Extração de cobre e zinco (APDC, pH 4,5).

QUADRO 2 - Análise de variação da produção de matéria seca de partes e do total de plantas de tomate colhidas após 50 dias em soluções nutritivas submetidas a diferentes métodos de purificação de cobre e zinco

Fontes de variação	G.L.	Quadrados médios			
		Folhas	Caulas	Raízes	Total
Completo vs cobre + zinco	1	6063,207**	1740,807**	198,868**	1702,294**
Cobre vs zinco	1	204,750*	133,670**	7,020**	813,400**
Ditizona vs APDC d/cobre	1	13,305	0,360	0,855	26,754
Ditizona (pH 5,0) vs ditizona (pH 2,5) d/cobre	1	54,132	3,001	2,251*	111,900
Ditizona vs APDC d/zinco	1	593,313**	57,567*	3,929**	1152,459**
Ditizona (pH 5,0) vs ditizona (pH 8,3) d/zinco	1	30,929	23,770	0,277	120,202
Ditizona vs APDC d/completo	1	322,300**	22,099	9,400**	664,759**
Ditizona (pH 5,0) vs ditizona (pH 2,5 e 8,3) d/completo	1	93,639	2,322	5,511**	185,570
Resíduo	27	26,885	13,518	0,405	73,486
TOTAL	35	-	-	-	-
C.V. (%)		14,64	15,42	19,68	10,18

** Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

* Significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

QUADRO 3 - Teores de cobre em partes de plantas de tomate, colhidas após 50 dias em soluções nutritivas submetidas a diferentes métodos de purificação de cobre e zinco. Médias de quatro repetições

Deficiência	Método de purificação	Folhas		Pecíolos		Caules	Raízes
		Superiores	Inferiores	Superiores	Inferiores		
Cobre							
	I*	4,3	2,8	3,6	3,0	3,2	3,4
	II**	4,9	2,8	2,9	2,9	2,8	3,8
	III***	3,2	2,5	2,5	2,9	2,7	3,1
	Médias	4,1	2,7	3,0	2,9	2,9	3,4
Zinco							
	I	9,4	6,3	4,5	5,4	6,6	14,2
	II	10,5	5,9	4,8	4,7	6,4	14,4
	III	12,2	8,2	3,8	6,0	5,9	23,7
	Médias	10,6	6,8	4,4	5,4	6,3	17,4
Completo							
	I	13,2	5,4	4,8	7,3	9,3	16,9
	II	10,1	6,9	4,7	4,8	6,4	13,9
	III	13,0	7,4	6,1	5,9	4,4	14,7
	Médias	12,1	6,6	5,2	6,0	6,7	15,2
Médias							
		9,0	5,4	4,2	4,8	5,3	12,0

* Adsorção e precipitação de cobre e zinco (CaCO₃) + extração com ditizona (pH 5,0).
** Adsorção e precipitação de cobre e zinco (CaCO₃) + extração com ditizona (pH 5,0).
*** Adsorção e precipitação de cobre e zinco (CaCO₃) + extração com ditizona (pH 8,5).
**** Extração de cobre e zinco (APDC, pH 4,5).

* Adsorção e precipitação de cobre e zinco (CaCO_3) + extração com ditizona (pH 5,0).

** Adsorção e precipitação de cobre e zinco (CaCO_3) + extração com ditizona (pH 8,3).

*** Extração de cobre e zinco (APDC, pH 4,5).

QUADRO 4 - Análise de variância dos teores de cobre (ppm na matéria seca) em partes de plantas de tomate colhidas após 50 dias em soluções nutritivas submetidas a diferentes métodos de purificação de cobre e zinco

Fontes de variação		Quadrados médios					
		Folhas		Pecíolos		Caulos	Raízes
		Superiores	Inferiores	Superiores	Inferiores		
Completo vs cobre + zinco	1	168,544**	27,011**	18,040**	27,714**	37,961**	180,595**
Cobre vs zinco	1	267,600**	101,352**	11,398**	35,843**	68,952**	1161,067**
Ditizona vs APDC d/cobre	1	5,601	0,148	1,358	0,005	0,246	0,795
Ditizona (pH 5,0) vs ditizona (pH 2,5) d/cobre	1	0,702	0,001	0,812	0,022	0,308	0,189
Ditizona vs APDC d/zinco	1	11,454	12,557*	1,744	2,502	0,843	229,525**
Ditizona (pH 5,0) vs ditizona (pH 8,3) d/zinco	1	3,808	0,312	0,171	1,807	0,092	0,088
Ditizona vs APDC d/completo	1	5,087	3,619	4,734**	0,015	32,806**	1,612
Ditizona (pH 5,0) vs ditizona (pH 2,5 e 8,3) d/completo	1	19,189	4,743	0,020	12,776*	20,090*	17,760
Resíduo	27	5,583	1,902	0,385	1,865	2,607	14,235
Total	35	-	-	-	-	-	-
C.V. (%)	-	26,22	25,73	14,79	28,47	30,21	31,33

** Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

* Significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

QUADRO 5 - Teores de zinco em partes de plantas de tomate colhidas após 50 dias em soluções nutritivas submetidas a diferentes métodos de purificação de cobre e zinco. Médias de quatro repetições

Deficiência	Método de purificação	Folhas		Pecíolos		Caules	Raízes
		Supe- riores	Infe- riores	Supe- riores	Infe- riores		
ppm							
Cobre	I*	64,1	28,9	56,5	84,3	104,3	74,9
	II**	81,2	33,4	57,8	61,4	97,0	77,0
	III***	54,2	27,0	48,1	40,9	65,4	56,8
	Médias	66,5	29,7	54,1	62,2	88,9	69,6
Zinco	I	18,3	18,3	15,8	16,6	15,6	22,4
	II	19,0	18,4	16,8	14,8	16,6	28,2
	III	13,2	13,0	12,9	12,5	14,4	18,4
	Médias	16,8	16,6	15,2	14,6	15,5	23,0
Completo	I	35,6	28,6	43,3	46,0	47,9	49,7
	II	34,2	24,9	38,3	41,3	43,6	35,0
	III	31,8	22,6	33,6	46,7	47,9	46,2
	Médias	33,9	25,4	38,4	44,7	46,5	43,6
Médias		39,1	23,9	35,9	40,5	50,3	45,4

* Adsorção e precipitação de cobre e zinco (CaCO_3) + extração com dióxido de hidrógeno (pH 5,0).

** Adsorção e precipitação de cobre e zinco (CaCO_3) + extração com dióxido de hidrógeno (pH 8,3).

*** Extração de cobre e zinco (APDC, pH 4,5).

QUADRO 6 - Análise de variância dos teores de zinco (ppm na matéria seca) em partes de plantas de tomate, colhidas após 50 dias em soluções nutritivas submetidas a diferentes métodos de purificação de cobre e zinco. Médias de quatro repetições

Fontes de variação	G.L.	Quadrados médios					
		Folhas		Pecíolos		Caulos	Raízes
		Superiores	Inferiores	Superiores	Inferiores		
Completo vs cobre + zinco	1	489,584*	38,558	113,557	314,210	260,642	57,620
Cobre vs zinco	1	14807,123**	1041,615**	9114,693**	13587,420**	32265,933**	13016,780**
Ditizona vs APDC d/cobre	1	909,709**	45,567	215,700**	2722,566**	3306,923**	979,203*
Ditizona (pH 5,0) x ditizona (pH 2,5) d/cobre	1	581,064**	40,455	3,137	1049,278*	107,018	8,756
Ditizona vs APDC d/zinco	1	79,988	74,189	30,781	28,036	8,413	125,172
Ditizona (pH 5,0) vs ditizona (pH 8,3) d/zinco	1	0,781	0,048	1,767	7,106	2,173	66,182
Ditizona vs APDC d/completo	1	24,462	45,567	138,864	24,120	12,226	38,785
Ditizona (pH 5,0) vs ditizona (pH 2,5 e 8,3) d/completo	1	3,112	26,867	50,350	44,368	36,765	434,977
Resíduo	27	92,286	23,717	36,787	163,958	89,795	168,015
Total	35	-	-	-	-	-	-
C.V. (%)	-	24,58	20,36	16,89	31,60	18,83	28,55

** Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

* Significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

balhos com solução nutritiva, devido à facilidade dos trabalhos de laboratório, ao menor tempo necessário para a sua aplicação e aos bons resultados obtidos no ensaio com plantas.

5. SUMMARY

(COPPER AND ZINC DEFICIENCY IN TOMATO PLANTS CULTIVATED IN NUTRITIVE SOLUTIONS SUBMITTED TO THREE DIFFERENT METHODS OF PURIFICATION)

The main goal of this work was to test three methods of purification of nutritive solutions to induce Cu and Zn deficiency in tomato plants.

The following three purification methods were tested: Method I: Adsorption of Cu^{2+} and Zn^{2+} with CaCO_3 followed by extraction with diphenylthiocarbazone (dithizone) at pH 5.0. Method II: Adsorption of Cu^{2+} and Zn^{2+} with CaCO_3 followed by extraction of Cu^{2+} with dithizone at pH 2.5. and Zn^{2+} at pH 8.3. Method III: Extraction of Cu^{2+} and Zn^{2+} with APDC (ammonium pyrrolidindithiocarbamate) at pH 4.5.

All three methods induced Cu and Zn deficiency, and there was no difference in the results achieved with methods I and II. Method III was the most efficient for inducing Zn deficiency. The method using APDC (method III) was judged best for inducing Cu and Zn deficiency in experiments with nutritive solutions.

6. LITERATURA CITADA

1. BEEVERS, L. *Nitrogen metabolism in plants*. London, Edward Arnold, 1976. 333 p.
2. COOPER, T.G. *The tools of biochemistry*. New York, John Wiley, 1977. 423 p.
3. DE, A.K.; KHOPKAR, S.M. & CHALMERS, R.A. Solvent extraction of metals. In: Chalmers, R.A. (ed.) *Séries in Analytical Chemistry*. London, Van Nostrand Reinhold, 1970. 259 p.
4. FRIES, J. *Analisis de trazas. Métodos Fotométricos Comprobados*. Darmstadt, E. Merck, 1971. 183 p.
5. HEWITT, E.J. *Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition*. 2 ed. East Mailling, Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops, 1966. 544 p. (Technical communication, 22).
6. HEWITT, E.J. & SMITH, T.A. *Plant mineral nutrition*. London, English University Press, 1975. 298 p.
7. HOLMES, R.S. Determination of total copper, zinc, cobalt, and lead in soils solutions. *Soil Sci.* 59:77-84, 1945.
8. JOHNSON, C.M., STOUT, P.R., BROYER, A. & CARLTON, A.B. Comparative chlorine requirements of different plant species. *Plant and Soil*. 8:337-353, 1975.
9. JONES, J.B. Jr. Plant tissue analysis for micronutrients. In: Mortvedt, J.J. (ed.). *Micronutrients in agriculture*. Madison, Soil Science Society of America, 1973. 666 p.

10. KRAUS, K.A. & MOORE, G.E. Anion Exchange Studies VI. The divalent transition elements manganese to zinc hydrochloric acid. *J. Am. Chem. Soc.* 75: 1460-1462, 1983.
11. LIPMAN, C.B. & MACKINNEY, G. Proof of the essential nature of copper for higher green plants. *Plant Physiol.*, 6:593-599, 1931.
12. LO, J.M. & YU, J.C.; HUTCHLSON, F.I. & WAL, C.M. Solvent extraction of dithiocarbamate complexes and back-extraction with mercury (II) for determination of trace metals in seawater by atomic adsorption spectrometry. *Anal. Chem.*, 54:2536-2539, 1982.
13. LYON, C.B.; BEESON, K.C. & ELLIS, G.H. Effects of micronutrient deficiencies on growth and vitamin content of the tomato. *Botan. Gaz.*, 104:495-514, 1943.
14. MITCHELL, R.L. Contamination problems in soil and plant analysis. *J. Sci. Food Agri.*, 11:553-560, 1960.
15. MORRISON, G.H. & FREISER, H. *Solvent extraction in analytical chemistry*, New York, John Wiley, 1957. 269 p.
16. REUTER, D.J.; LONERAGAN, J.F.; ROBSON, A.D. & PLASKETT, D. Zinc in subterranean clover (*Trifolium subterraneum*, L. cv. seaton park). Effects of zinc supply on distribution of zinc and dry weight among plant parts. *Aust. J. Agric. Res.*, 33:989-999, 1982.
17. RUSH, R.M. & YOE, J.H. Colorimetric determination of zinc and copper with 2 carboxy-2'-hydroxy-5'-sulfoformazylbenzene. *Anal. Chem.*, 26:1345-1347, 1954.
18. SANDELL, E.B. & ONISHI, H. *Photometric determination of traces of metals. General aspects*. N. York, John Wiley, 1978. 1-1085 p.
19. SOMMER, A.L. Further evidence of the essential nature of zinc for the growth of higher green plants. *Plant Physiol.* 3:217-221, 1928.
20. STEINBERG, R.A. Nutrient-solution purification for removal of heavy metals in deficiency investigations with *Aspergillus niger*. *J. Agric. Res.*, 51:413-414, 1935.
21. STOUT, P.R. Micronutrients in crop vigor. *J. Agric. and Food Chem.*, 4:1000-1006, 1956.
22. STOUT, P.R. & ARNON, D.I. Experimental methods for the study of the role of copper, manganese and zinc in the nutrition of higher plants. *Amer. Journ. Bot.*, 26:144-149, 1939.
23. WALLIHAN, E.F. & BRADFORD, G.R. Simplified methods for inducing micronutrient deficiencies. *Hort Sci.*, 12:327-328, 1977.
24. ZASOSKI, R.J. & BURAU, R.G. A rapid nitric-perchloric acid digestion method for multi-element tissue analysis. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 8: 425-436, 1977.