

**HÉLIO GARCIA BLANCO**  
ENGENHEIRO-AGRÔNOMO

ESTUDOS SÔBRE ABSORÇÃO DE ZINCO POR FÔLHAS  
DE CAFEIRO (Coffea arabica L.)

Tese para obtenção do título de Doutor  
em Agronomia, apresentada à Escola  
Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz",  
da Universidade de São Paulo.

PIRACICABA, S. P.

1970

E R R A T A

LOCALIZAÇÃO			EM LUGAR DE :	LEIA - SE :
Página	§	Linha		
			À meus filhos	A meus filhos
		2. <sup>a</sup>	Centilador	Cintilador
2	2. <sup>o</sup>	13. <sup>a</sup>	frutose, 1-6, difosfatase	frutose-1,6-difosfatase
5	2. <sup>o</sup>	11. <sup>a</sup>	LITTWER, BUKOVAC e TUKEY	WITTWER, BUKOVAC e TUKEY
8	4. <sup>o</sup>	4. <sup>a</sup>	envenenadores e que	envenenadores metabólicos e que
14	Tratamento	3	escuro; O <sub>2</sub> ; 17 <sup>o</sup> C ; pH 6,0	escuro; O <sub>2</sub> ; 30 <sup>o</sup> C ; pH 6,0
22	1. <sup>o</sup>	6. <sup>a</sup>	substitue	substitui
31	3. <sup>o</sup>	4. <sup>a</sup>	dose maior da solução	dose maior de sacarose e de ureia, sob luminosidade, na retirada do cátionio da solução
33	1. <sup>o</sup>	1. <sup>a</sup> e 2. <sup>a</sup>	penetração do fosfato,	penetração iônica do fosfato, do RB <sup>+</sup> e do Cl <sup>-</sup> . Entretanto a penetração do fosfato,
35	Item 5	2. <sup>a</sup>	das linhas, de regressão	das linhas de regressão
37	2. <sup>o</sup>	3. <sup>a</sup>	Observou-se, também,	Observou, também,
38	2. <sup>o</sup>	5. <sup>a</sup>	emprega do "sticking method"	emprega o "sticking method"
39	1. <sup>o</sup>	5. <sup>a</sup>	verificada	verificada
45	quadro 4 , col.	Zn	mg	ppm
47	4. <sup>o</sup>	5. <sup>a</sup>	micronutrientes	micronutriente
48	1. <sup>o</sup>	2. <sup>a</sup>	em fotômetro	em espectrofotômetro
57	2. <sup>o</sup>	3. <sup>a</sup>	MALAVOLTA et al (1967)	MALAVOLTA (1957)
61	3. <sup>o</sup>	2. <sup>a</sup>	zinco receberam	zinco que receberam
66	1. <sup>o</sup>	5. <sup>a</sup>	radiativa	radiotiva
73			MALAVOLTA, E. ; H. P. HAAG ; F. A. F. de MELLO e M. O. C. Brasil SOBR. <sup>o</sup> - 1965 -	MALAVOLTA, E. ; H. P. HAAG ; F. A. F. de MELLO e M. O. C. BRASIL SOBR. <sup>o</sup> - 1967 -
74			MAZÉ, P. - 1964 -	MAZÉ, P. - 1914 -

DEDICATÓRIA

À minha esposa

À meus filhos

Agradeço às seguintes pessoas e Instituições:

Dr. José Renato Sarruge pelas sugestões e colaboração na parte referente a radioisótopos.

Eng.<sup>o</sup>-Agr.<sup>o</sup> Domingos de Azevedo Oliveira pelas sugestões na parte estatística.

Prof. Disciplina Dr. Henrique Paulo Haag pela orientação segura e constante, sem a qual este trabalho não seria realizado.

Secção de Café, do Instituto Agronômico do Estado de São Paulo, pelas mudas de cafeeiro.

Departamento de Química da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (E.S.A.L.Q.) pela cessão dos laboratórios onde foram realizados êstes estudos.

Instituto Brasileiro de Café (I.B.C.), através do Dr. Henrique Paulo Haag, pelas verbas concedidas para o desenvolvimento dos experimentos.

Centro de Energia Nuclear na Agricultura (C.E.N.A.), pela cessão do cintilador utilizado na parte dos estudos com radioisótopos.

Coordenação do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (C.A.P.E.S.), pela bolsa concedida.

## ÍNDICE DE FIGURAS

<u>Figura</u>	<u>Página</u>
1 - Absorção de Zn em função do tempo. Os pontos são médias de 3 repetições .....	18
2 - Absorção de Zn em função da energia luminosa. Os pontos são médias de 3 repetições .....	21
3 - Absorção de Zn em função dos inibidores do processo respiratório. Os pontos são médias de 3 repetições .....	23
4 - Absorção de Zn em função da temperatura. Os pontos são médias de 3 repetições .....	25
5 - Absorção de Zn em função do pH da solução externa. Os pontos são médias de 3 repetições ...	27
6 - Absorção de Zn em presença de mercúrio, cobre e boro. Os pontos são médias de 3 repetições ..	29
7 - Absorção de Zn em presença de compostos orgânicos. Os pontos são médias de 3 repetições ...	32

## ÍNDICE DE QUADROS

<u>Quadro</u>	<u>Página</u>
1 - Absorção de Zn expressa em $\mu\text{g}$ do elemento por g de tecido foliar fresco de cafeeiro, de acordo com os tratamentos .....	14
2 - Teste em branco. Teores de zinco nos 4 pares de folhas da base (folhas velhas), de mudas de cafeeiro .....	42
3 - Teste em branco. Teores de zinco nos 4 pares de folhas do t $\hat{o}$ po (folhas novas), de mudas de cafeeiros .....	43
4 - Teste em branco. Teores de Zn em folhas de mudas de cafeeiro, e p $\hat{e}$ so s $\hat{e}$ co das amostras analisadas. Dados m $\acute{e}$ dios de 8 plantas .....	45
5 - Absorção de Zn, em funç $\hat{o}$ do tempo, por folhas de mudas de cafeeiro. Soluç $\hat{o}$ de $\text{Zn SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ , 0,02 % Zn. Dados m $\acute{e}$ dios de 6 repetiç $\hat{o}$ es .....	49
6 - Absorção de Zn de diversos compostos de zinco, por folhas de mudas de cafeeiro. Dados m $\acute{e}$ dios de 5 repetiç $\hat{o}$ es .....	55

7 - Absorção de Zn , em função do pH da solução externa de $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ (0,02 % Zn) , por folhas de mudas de cafeeiro. Dados médios de 5 repetições .....	58
8 - Efeito da sacarose e da uréia na absorção do Zn , retirado de uma solução de $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ (0,02 % Zn) , por folhas de mudas de cafeeiro. Dados médios de 4 repetições .....	63

## Í N D I C E

	Página
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. EXPERIMENTOS SÔBRE ABSORÇÃO FOLIAR DE ZINCO, AO NÍVEL DE TECIDO .....	7
2.1. REVISÃO DE LITERATURA .....	8
2.2. MATERIAL E MÉTODO .....	10
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	13
2.3.1. Absorção de zinco em função do tempo .....	18
2.3.2. Absorção de zinco em função da energia luminosa ..	20
2.3.3. Absorção de zinco em função dos inibidores do processo respiratório .....	22
2.3.4. Absorção de zinco em função da temperatura .....	24
2.3.5. Absorção de zinco em função do pH .....	26
2.3.6. Absorção de zinco em presença do boro, do cobre e do mercúrio .....	29
2.3.7. Absorção de zinco em presença de compostos orgânicos .....	31
2.4. CONCLUSÕES .....	34
3. EXPERIMENTOS SÔBRE ABSORÇÃO FOLIAR DE ZINCO, AO NÍVEL DE FÔLHAS INTEIRAS .....	36



	Página
3.1. REVISÃO DA LITERATURA .....	37
3.2. ESTUDO DA METODOLOGIA .....	38
3.2.1. Ensaio n.º 1 .....	39
3.2.1.1. Material e método .....	39
3.2.1.2. Resultados e discussão .....	40
3.2.2. Ensaio n.º 2 .....	44
3.2.2.1. Material e método .....	44
3.2.2.2. Resultados e discussão .....	44
3.2.3. Ensaio n.º 3 .....	45
3.2.3.1. Material e método .....	45
3.2.3.2. Resultados e discussão .....	48
3.2.4. Conclusões .....	50
3.3. MATERIAL E MÉTODO .....	52
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	54
3.4.1. Absorção de zinco de diferentes compostos de zinco .....	54
3.4.2. Absorção de zinco em função do pH .....	57
3.4.3. Absorção de zinco em presença de compostos orgânicos .....	61
3.5. CONCLUSÕES .....	64
4. CONCLUSÕES GERAIS .....	65
5. RESUMO .....	66
6. SUMMARY .....	68
7. LITERATURA CITADA .....	70

## 1. INTRODUÇÃO

O zinco é um dos elementos essenciais para o desenvolvimento das plantas.

A MAIZE, é atribuída a apresentação da primeira evidência convincente da essencialidade desse elemento, em uma série de experimentos relatados em 1914, 1915 e 1919 (THORNE, 1957), confirmada, posteriormente, pelos estudos de SOMMER e LIPMAN (1926) e SOMMER (1928). É justo destacar JAVILLIER (1908) como sendo o primeiro investigador a registrar a ocorrência de zinco em vegetais superiores, sugerindo, então, que esse elemento seria indispensável às plantas, onde agiria como agente catalisador. Posteriormente, em 1912, esse mesmo autor observou que espécies, como o milho, tinham o seu crescimento aumentado quando tratadas com o sulfato de zinco, no solo (THORNE, 1957).

Para os organismos inferiores, RAULIN, em 1863 e 1869, dava provas da necessidade do zinco para o crescimento de diversos fungos em meio de cultura e JAVILLIER, em 1914, chega à conclusão ser o zinco necessário a Aspergillus niger (THORNE, 1957).

Uma das funções desse micronutriente, na fisiologia vegetal, é o seu conhecido papel na biossíntese do ácido indol-acético (IAA). TSUI (1948) retomando observações realizadas por SKOOG (1940), demonstrou que a falta de zinco, provocava diminuição da concentração do IAA em tecidos de plantas de tomateiro de crescimento reduzido. Segundo WOOD (1953) o Zn seria necessário à síntese do amino-ácido triptofano, precursor do hormônio do crescimento IAA, fôsse esse formado por via do ácido indol-3-pirúvico ou através da triptamina (FRUTON e SIMMONDS, 1963). O indol-acetonitrila, isolado da couve (Brassica sp.), que é outro intermediário para a produção do IAA, também, tem necessidade do triptofano como seu precursor (FIESER e FIESER, 1965).

Uma importante enzima que tem zinco no seu grupo prostético é a anidrase carbônica, encontrada em animais e vegetais, catalisando a decomposição do ácido carbônico em água e dióxido de carbono e vice versa (SCHUTTE, 1964). Segundo esse autor, o CO<sub>2</sub> assim formado é utilizado pelos vegetais na fotossíntese, quando a taxa desse gás, fornecida normalmente pelo ar atmosférico, é consumida rapidamente.

O zinco desempenha relações importantes em diversos sistemas enzimáticos que regulam o metabolismo dos seres vivos. Para SCHWEIGART citado por SCHUTTE (1964), o zinco faz parte das seguintes enzimas: da carboxipolipeptidase triptica e da carbo-anidrase, como constituinte dos seus grupos prostéticos; da fosfomonoesterase alcalina, da carosinase, da peptidase, da aminopolipeptidase, da citrulinase, da oligometa-fosfatase e da desidrogenase alcoólica, tomando parte ativa do grupo prostético ou incorporado à enzima; da glicil-l-leucina-dipeptidase I, da polimetafosfatase, da fenoloxidase, da carboxilase, da aldolase, da enolase e da cisteina-desulfidrase, participando de uma função integrada que ainda não é compreendida; da aminopeptidase e da carboxilase (descarboxilase pirúvica), como ativador facultativo; e como inibidor da atividade enzimática, da frutose-1,6-difosfatase, da nucleotidase, da l-leucina-aminopeptidase, da glicil-glicina-dipeptidase, da glicil-l-leucina-dipeptidase I, da histidase, da DPN e TPN hidrolases, da arginase "a", da fosfohalogenase e da DPN citocromo-c-redutase (SCHUTTE, 1964).

Mesmo sendo necessário em pequenas quantidades, a carência de zinco nas plantas tem sido constatada em todas as regiões do globo, de um modo mais extensivo que qualquer outro micronutriente (American Zinc Institute).

Essa carência tem sido atribuída a três causas principais:

- 1 - Ao baixo conteúdo de zinco total no solo, comum em solos ácidos sujeitos à lavagem forte e à erosão.

- 2 - À indisponibilidade do elemento presente no solo para a cultura, de corrente da sua fixação por fatores como, alcalinidade, matéria orgânica, argilas e fosfatos.
- 3 - As práticas agrícolas que aumentam a indisponibilidade ou deprimem a retirada do zinco do solo, como, adubações fosfatadas ou nitrogenadas intensas, adubações orgânicas, calagem e outras (THORNE, 1957).

Os sintomas de carência de zinco nas plantas aparecem primeiro nas folhas mais velhas. Caracterizam-se pela presença de áreas de coloração que variam de verde-amarelo claro a esbranquiçadas, situadas entre as nervuras das folhas. Com a evolução da carência, ocorre morte dos tecidos dessas áreas, e queda prematura das folhas. Como resultado, os ramos mostram um número reduzido de folhas, próximas uma das outras devido ao encurtamento dos internódios, produzindo um aspecto denominado de "roseta", facilmente reconhecível em Citrus e cafeeiro, por exemplo. Nessa última cultura, as folhas se apresentam pequenas, estreitas, quebradiças e coriáceas e mal formadas (MALAVOLTA et al., 1967 e American Zinc Institute) . Para RAMAIAH et al. (1964) , essa deformação é causada pelo acúmulo de aminos ácidos livres nas folhas deficientes em zinco.

De acordo com MULLER (1959) , em cafeeiros carentes de zinco pode haver secamento dos ponteiros e morte prematura da planta, provocando com isso diminuição da produção, e até mesmo perda total das colheitas.

O cafeeiro parece possuir uma susceptibilidade especial a uma baixa concentração de zinco no solo (MULLER , 1958) . Talvez, por essa razão, os sintomas de deficiência têm sido observados em todas as regiões cafeeiras. Entre outras, foi constatado no Brasil, pela primeira vez, por FRANCO e MENDES (1953) ; na Colômbia por ROBINSON (1958); por GONZALES et al. (1952) entre outros, na Costa Rica ; por LAUDELOUT et al. (1956) , na África Central e por ANANTH e CHOKKANNA (1962) , na Índia.

LOTT et al. (1961) , em um levantamento de cafèzais do Estado de São Paulo e Paraná, pela análise foliar, apontam os seguintes números, em porcentagem, de cafèzais que continham menos de 8 ppm , considerado como o nível limiar de deficiência: 12 , 12 e 23% , no verão , outono e primavera, respectivamente. Se o limite crítico de carência fosse 10 ppm , como quer MULLER (1958) , êsses números passariam para 56, 38 e 90% de cafèzais com deficiência de zinco, respectivamente, para as mesmas estações do ano.

À vista desses dados, LOTT e colaboradores concluem que uma grande porcentagem dos cafèzais de São Paulo devem sofrer, em certo grau, de deficiência de zinco.

Desde que a deficiência de zinco possa reduzir a produção de café, sua correção é de grande importância econômica.

Em soluções nutritivas o zinco é absorvido mais rapidamente pelas folhas que por intermédio das raízes (ARZOLLA , 1955 ; ARZOLLA et al., 1956 ; MALAVOLTA et al., 1956) . Resultados semelhantes foram encontrados em experimentos de campo por MALAVOLTA et al. (1956 , 1959 , 1960) que indicam que a absorção pelas raízes do cloreto de zinco, marcado com  $^{65}\text{Zn}$  , foi várias vezes menor em comparação com a absorção foliar. As aplicações de compostos de zinco no solo não têm demonstrado bons resultados na correção da deficiência de Zinco (GONZALES et al. , 1952 ; PEREZ , 1957) , provavelmente porque, grande quantidade do corretivo é necessária (GONZALES et al., 1954) . Quando são aplicadas pequenas quantidades de corretivo, os efeitos, se existem, são de pequena duração, devido à fixação e ou à lavagem do zinco no solo (MULLER, 1966).

Essas evidências levam a concluir que a correção da carência de zinco deverá ser tentada, preferivelmente, através de pulverizações foliares.

Para a aplicação racional das aspersões foliares de nutrientes e outras substâncias, como fungicidas, inseticidas sistêmicos, herbí

cidas e reguladores de crescimento, na agricultura, é importante, entretanto, o desenvolvimento de estudos básicos de absorção foliar.

Apesar desses estudos terem sido intensificados, a partir de 1951, pelo uso de radioisótopos (WITTWER e TEUBNER, 1959), as informações sobre os mecanismos de absorção e as vias de entrada das substâncias nas folhas, têm sido fragmentárias e controvertidas (CAMARGO, 1968). JYUNG e WITTWER (1964) atribuem a problemas de metodologia, como a dificuldade de se manter constante a temperatura, a umidade da superfície da folha, a umidade relativa do ar e a concentração da solução externa, que são fatores que influem no processo de absorção, como causas das dificuldades de reprodução dos resultados. Várias técnicas têm sido desenvolvidas para a solução dos problemas de absorção foliar, com radioisótopos, como podem se ver na revisão de WITTWER, BUKOVAC e TUKEY (1963).

Outro problema que tem ocorrido nesses estudos é a dificuldade de se distinguir a absorção ativa da passiva (JYUNG e WITTWER, 1964).

Na retirada dos nutrientes pelas plantas são distinguidas, geralmente, duas fases. A primeira e inicial do processo de absorção, é denominada passiva, onde a substância aplicada externamente penetra nos tecidos, atravessando a cutícula, e se transloca nas paredes celulares por difusão, fluxo-em-massa, trocas iônicas ou por processos de adsorção, até o ponto de entrada no simplasto (CAMARGO, 1966). Para que os íons que estão na parede celular possam entrar no simplasto, eles devem atravessar a plasmalema, marcando o início da segunda fase da absorção, denominada ativa ou metabólica.

Segundo JYUNG e WITTWER (1965), a consumação da fase posterior requer fonte de energia (luz, açúcares, ATP), requer oxigênio e pode ser alterada por inibidores metabólicos. Além disso, ela é irreversível contra um gradiente de concentração; apresenta um coeficiente de temperatura  $Q_{10}$  maior que 2; depende do pH da solução externa, e apresenta especificidade e competição de outros íons.

Para que seja evidenciada a presença de absorção ativa, é necessária a comprovação de ocorrência de todos, ou parte desses fatores, visto que, um fator isolado, evidentemente, não seria suficiente para isso.

No presente trabalho, nos propomos a apresentar alguns estudos sobre a absorção foliar do zinco, em cafeeiro, que possam trazer alguma contribuição na nutrição desse elemento por meio de pulverizações foliares.

Na primeira fase do trabalho, em que foi utilizado  $^{65}\text{Zn}$ , procuraram-se evidências indicativas de ser a absorção de zinco, por folhas de cafeeiro, um processo metabólico. Na fase posterior desses estudos preocupamo-nos em estabelecer uma metodologia para verificar a viabilidade do uso de fontes de zinco não radioativo em certos tipos de experimentos de absorção foliar. Para comprovação dessa metodologia, foram repetidos alguns aspectos abordados na 1.<sup>a</sup> fase dos trabalhos como, por exemplo, influência do pH da solução externa na absorção do zinco. A viabilidade do uso de outros compostos solúveis de zinco, além do sulfato de zinco, também, foi abordada nessa fase dos estudos.

Este trabalho, em resumo, examina os seguintes aspectos da absorção foliar de zinco, pelo cafeeiro.

1.<sup>a</sup> fase: Absorção ao nível tecidual.

Estudos: Efeitos da temperatura, da luz, do oxigênio, do pH da solução externa, do 2,4 - dinitrofenol (DNP), da sacarose, da uréia, do boro, do cobre e do mercúrio na absorção foliar do zinco.

2.<sup>a</sup> fase: Absorção por folhas inteiras.

Estudos: Estabelecimento de metodologia apropriada, absorção de Zn de diferentes compostos, efeito do pH da solução externa, da sacarose e da uréia, na absorção foliar do zinco.

.....2. EXPERIMENTOS SÔBRE ABSORÇÃO FOLIAR  
DE ZINCO , AO NÍVEL DE TECIDO



## 2.1. REVISÃO DA LITERATURA

Apesar da pesquisa sôbre absorção de nutrientes e outros elementos ter sofrido um grande impulso, a partir de 1951, com a utilização de isótopos radioativos na técnica experimental, não existe, ainda, um volume de informação sôbre os problemas ligados à absorção de iônios por tecido mesofilar de plantas superiores terrestres.

No que se refere ao micronutriente Zn, não são encontrados dados de pesquisas ao nível de tecido, sôbre mecanismos de absorção foliar, de vegetais superiores não aquáticos.

As pesquisas, já relatadas, se referem à absorção por folhas inteiras, cuja revisão será efetuada no Capítulo 3.

Mesmo para tecido radicular a literatura é escassa. SCHMID, HAAG e EPSTEIN (1965), verificaram que a absorção do zinco por raízes destacadas de cevada é linear em função do tempo, é inibida por baixa temperatura e por envenenadores e que o Cu interfere competitivamente na sua absorção.

HAAG e SARRUGE (1965) concluíram que a retirada de Zn do meio externo por raízes destacadas de cafeeiro, é um fenômeno metabólico.

No que se refere a plantas inferiores GUTKNECHT (1961 e 1963), (citado por SCHMID et al., 1965) conclui que a absorção de Zn por algas é inteiramente realizada por processos de troca catiônica sem intervenção de eventos metabólicos.

Para outros nutrientes, os dados sôbre absorção foliar ao nível de tecido, também, são raros. Referências são feitas sôbre o trabalho de KYLIN (1960) sôbre o efeito da luz na absorção do sulfato pelo tecido foliar de várias plantas terrestres. RAINS (1967), adotando a técnica experimental desenvolvida por SMITH e EPSTEIN (1964.a), aborda a questão do efeito da luz na absorção do potássio por tecido foliar de milho.

Um dos problemas que êsse tipo de pesquisa tem encontrado, o que, talvez, explique os poucos dados experimentais existentes, se refere à preparação do material foliar.

Em 1964, SMITH e EPSTEIN, desenvolveram um trabalho em que compararam a absorção do Rb por pedaços de tecido foliar de milho, cortado em forma de discos de vários tamanhos e em fatias finas de larguras variadas. Concluíram que, quanto maior o diâmetro do disco ou a largura da fatia, mais baixa é a taxa de absorção, expressa em unidade de peso fresco do material. Isso porque, nas peças maiores, uma maior e progressiva porcentagem de células deixariam de participar da absorção, tomando parte no processo, somente aquelas próximas à superfície do corte. A máxima intensidade de absorção ocorreu em fatias com 300  $\mu$  de largura. Utilizando-se dessa técnica, êsses autores, no mesmo ano estudaram a cinética e seletividade do K e Rb, absorvidos por fôlhas de milho (SMITH e EPSTEIN, 1964.b).

Em 1968, OSMOND, ratifica os estudos de SMITH e EPSTEIN (1964.a), mostrando que o mesófilo cortado em discos é inadequado para estudos quantitativos de absorção, porque as células do interior do disco não entram em equilíbrio com a solução externa. A entrada do íônio fica restrita às margens do corte e a difusão é muito lenta para permitir o equilíbrio do disco inteiro. Trabalhando com Atriplex sp êsse autor concluiu que a preparação do material em fatias permite rápido acesso do eletrólito para tôdas as células e permite um sistema ideal para estudos de absorção.

JYUNG, WITWER e BUKOVAC (1965) relatam que a taxa de absorção de íônios é reduzida drásticamente, quando se utilizam células isoladas enzimaticamente de fôlhas de fumo, levando OSMOND (1968) a concluir, por essa razão, que essa preparação não é apropriada para êsse tipo de pesquisas.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODO

Os trabalhos foram feitos com plantas em produção de cafeeiro, cultivar bourbon amarelo, com cerca de 12 anos de idade, apresentando bom estado nutricional.

A amostragem do material seguiu a orientação de LOTT et al (1956) , coletando-se folhas do 3.<sup>o</sup> par, a contar do ápice de ramo em início de produção.

O tecido foliar foi preparado de acordo com a técnica descrita por SMITH e EPSTEIN (1964.a) : cortes transversais de 300  $\mu$  de largura foram obtidos em micrótomo tipo Reichert n.<sup>o</sup> 11939 , comprimindo-se as folhas dobradas, transversalmente, ao meio, entre tecido de raiz de cenoura.

A técnica experimental consistiu no seguinte: Uma vez amostradas, as folhas foram lavadas em água desmineralizada (água destilada passada através de um desmineralizador tipo Bantan Barnstead) e imediatamente cortadas. Os cortes foram recebidos em água desmineralizada , e separados em amostras de 200 mg , as quais foram colocadas em tubos plásticos permanecendo em água desmineralizada até receber 60 ml da solução, contendo zinco radioativo (tempo zero de absorção). Durante todo o tempo da absorção, as soluções foram mantidas sob temperatura constante, por meio de um banho de temperatura controlada, e luminosidade constante, obtida por meio de lâmpadas fluorescentes e incandescentes. Decorrido o tempo do ensaio, vertia-se o conteúdo do tubo em um coador plástico, onde lavava-se, imediatamente, o material vegetal em água desmineralizada corrente, e em uma solução, em jato contínuo, de Zn inerte, durante 60 segundos. Em seguida, o material foi envolvido em papel de filtro, colocado em tubos pirex , de 12 mm. de diâmetro, e incinerados a 550<sup>o</sup>C , nos próprios tubos. As cinzas foram solubilizadas, sem ser retiradas dos tubos, por meio de 3 ml de HCl N , sendo êsses, a

seguir, colocados em Cintilador modelo 132 - B , fabricado pela Nuclear Chicago , para detecção e contagem do zinco radioativo.

Empregou-se Zn radioativo como traçador, sob a forma de  $^{65}\text{ZnCl}_2$  , na atividade de dois microcurie por amostra vegetal.

Tôdas as soluções foram preparadas com sais puros pró-análise dissolvidos em água desmineralizada. A concentração final de Zn em tôdas as soluções foi de  $5 \times 10^{-5}$  M , excepto na solução de Zn inerte para desorção, que foi igual a  $5 \times 10^{-4}$  M . Nos tratamentos em que foram adicionados Cu , B e Hg , foram utilizados sais de  $\text{CuCl}_2$  ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  e  $\text{HgCl}_2$  , respectivamente.

Em todos os ensaios as soluções permaneceram sempre sob condições de  $30^\circ\text{C}$  de temperatura, 3000 lux de luminosidade, pH 6,0 medido antes da absorção e arejamento contínuo, exceto naqueles indicados pelo esquema experimental. Nos tratamentos em que o pH foi modificado, os novos níveis foram ajustados com HCl ou NaOH potenciomêtricamente.

A absorção de zinco se processou durante 10 , 20 , 30 , 40 e 60 minutos utilizando-se três repetições para cada tratamento, indicado pelo seguinte esquema experimental.

Tratamentos	Solução	Temperatura	Luminosidade	Arejamento
1.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
2.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M	30°C	3000 lux	N <sub>2</sub>
3.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M	30°C	ausência	O <sub>2</sub>
4.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M	17°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
5.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , pH 3,0	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
6.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , pH 5,0	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
7.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , pH 7,0	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
8.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , + 2,4 DNP $10^{-4}$ M	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
9.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , + sacarose 0,01 M	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
10.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , + sacarose 0,01 M	30°C	ausência	O <sub>2</sub>
11.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , + sacarose 0,05 M	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
12.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , + uréia 0,01 M	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
13.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , + Cu $10^{-5}$ M	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
14.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , + B $10^{-5}$ M	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>
15.	Zn $5 \times 10^{-5}$ M , + Hg $10^{-5}$ M	30°C	3000 lux	O <sub>2</sub>

### 2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As quantidades de Zn absorvido expressas em  $\mu\text{g}$  de Zn por g de tecido foliar fresco, aos 10 , 20 , 30 , 40 e 60 minutos, são apresentadas no quadro 1 .

Os contrastes entre os diversos tratamentos para verificação dos efeitos desejados, são apresentados sob a forma de gráficos e discutidos nos sub-itens seguintes.

Quadro 1 - Absorção de Zn expressa em  $\mu\text{g}$  do elemento por g de tecido foliar fresco de cafeeiro, de acordo com os tratamentos.

Tratamentos	Zn (ppm) absorvido em função do tempo	Zn (ppm) absorvido em função do tempo				
		10 min.	20 min.	30 min.	40 min.	60 min.
1. Zn $5 \times 10^{-5}$ M luz ; $\text{O}_2$ ; $30^\circ\text{C}$ ; pH 6,0	Repet.	315	553	676	902	1033
		374	527	768	980	1023
		335	546	685	923	1055
	Médias	341	542	710	935	1037
2. Zn $5 \times 10^{-5}$ M luz ; $\text{N}_2$ ; $30^\circ\text{C}$ ; pH 6,0	Repet.	293	460	594	564	515
		274	463	491	582	592
		274	396	477	639	618
	Médias	280	440	521	595	575
3. Zn $5 \times 10^{-5}$ M escuro ; $\text{O}_2$ ; $30^\circ\text{C}$ ; pH 6,0	Repet.	204	346	381	486	512
		190	307	398	514	556
		195	353	397	368	484
	Médias	196	335	392	489	517
4. Zn $5 \times 10^{-5}$ M luz ; $\text{O}_2$ ; $17^\circ\text{C}$ ; pH 6,0	Repet.	130	281	338	489	519
		159	332	318	469	516
		178	272	386	498	497
	Médias	156	295	347	485	511

(continua ...)

Quadro 1 - (continuação)

Tratamentos		Zn (ppm) absorvido em função do tempo				
		10 min.	20 min.	30 min.	40 min.	0 min.
5. Zn $5 \times 10^{-5}$ M luz ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 3,0	Repet.	11 9 7	21 9 13	12 17 12	15 10 14	14 20 20
	Médias	9	14	14	13	18
		168 190 174	294 258 248	433 398 384	428 393 393	448 458 405
6. Zn $5 \times 10^{-5}$ M luz ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 5,0	Repet.	177	267	402	405	437
	Médias					
		204 236 193	340 354 284	368 368 426	454 436 423	487 487 509
7. Zn $5 \times 10^{-5}$ M luz ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 7,0	Repet.	211	326	393	438	494
	Médias					
		194 152 162	341 331 301	405 438 412	451 473 460	470 529 517
8. Zn $5 \times 10^{-5}$ M + 2,4 DNP $10^{-4}$ M luz ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 6,0	Repet.	169	324	418	461	505
	Médias					

(continua ...)



Quadro 1 - (continuação)

Tratamentos		Zn (ppm) absorvido em função do tempo				
		10 min.	20 min.	30 min.	40 min.	60 min.
9. Zn $5 \times 10^{-5}$ M + sacarose 0,01 M  luz ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 6,0	Repet.	297	406	568	549	718
		326	519	524	669	739
		277	551	548	669	728
	Médias	314	506	559	664	740
10. Zn $5 \times 10^{-5}$ M + sacarose 0,01 M  escuro ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 6,0	Repet.	279	406	568	549	718
		285	439	471	565	645
		316	420	471	604	674
	Médias	293	422	503	573	679
11. Zn $5 \times 10^{-5}$ M + sacarose 0,05 M  luz ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 6,0	Repet.	213	364	520	514	639
		238	378	493	545	708
		244	340	505	546	677
	Médias	232	360	506	535	675
12. Zn $5 \times 10^{-5}$ M + uréia 0,01 M  luz ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 6,0	Repet.	301	461	553	588	676
		292	458	549	606	700
		210	408	541	654	655
	Médias	268	442	548	616	677

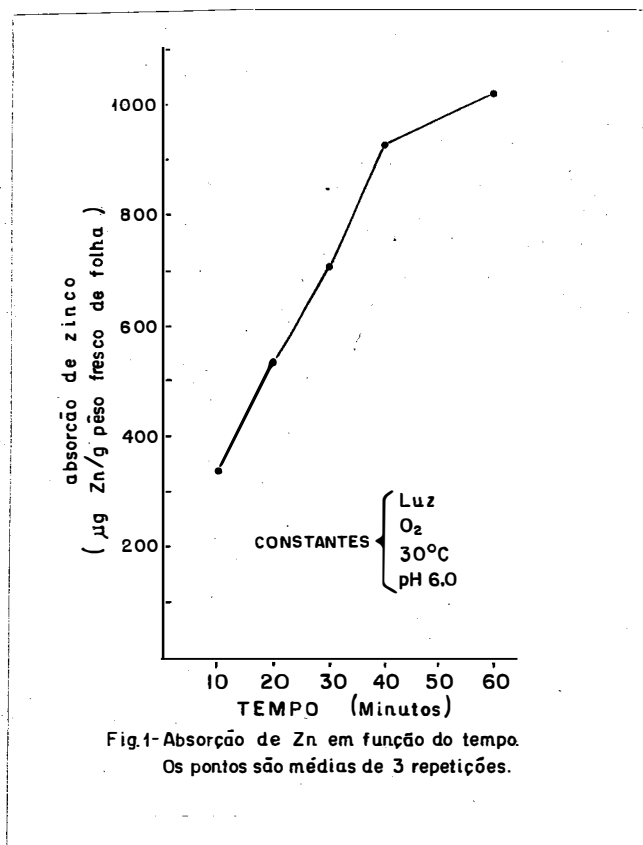
(continua ...)

Quadro 1 - (continuação)

	Zn (ppm)	absorvido em função do tempo				
		10 min.	20 min.	30 min.	40 min.	60 min.
13. Zn $5 \times 10^{-5}$ M + Cu $10^{-5}$ M  luz ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 6,0	Repet.	313	478	368	512	516
		305	423	560	519	537
		165	464	496	557	600
	Médias	261	455	475	529	551
14. Zn $5 \times 10^{-5}$ M + B $10^{-5}$ M  luz ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 6,0	Repet.	255	393	501	567	465
		251	400	520	556	563
		252	407	437	563	514
	Médias	253	400	486	562	514
15. Zn $5 \times 10^{-5}$ M + Hg $10^{-5}$ M  luz ; O <sub>2</sub> ; 30°C ; pH 6,0	Repet.	242	392	473	622	227
		284	454	490	612	750
		246	405	582	694	706
	Médias	257	417	515	643	728

### 2.3.1. ABSORÇÃO DO ZINCO EM FUNÇÃO DO TEMPO

A figura 1 representa os resultados de absorção de Zn, em  $\mu\text{g}$  do elemento por grama de tecido foliar fresco. Pelo exame desse gráfico verifica-se que a retirada de Zn da solução externa, inicialmente, foi rápida, e linear em função do tempo, até os 40 minutos. Após esse período, a absorção diminui de intensidade, representando, em cada 10 minutos, um quarto da quantidade retirada no período inicial, pelo mesmo espaço de tempo.



Para WITTWER, BUKOVAC e TUKEY (1963), a diminuição da taxa de absorção após um rápido período inicial caracterizaria a fase de



Estudando a absorção de Zn , em função do tempo, por raízes destacadas de cevada, SCHMID et al. (1965) demonstraram que a fração não trocável de Zn , apresenta um comportamento igual àquele encontrado por nós: a absorção é linear, em função do tempo, até 40 minutos. Os autores não apresentam dados além desse tempo.

### 2.3.2. ABSORÇÃO DO ZINCO EM FUNÇÃO DA ENERGIA LUMINOSA

A absorção de nutrientes pelas folhas, se for um processo ativo, dependerá de energia (JYUNG e WITWER , 1965) .

Os resultados expostos pela fig. 2 são bastantes convincentes da dependência da luz, para a absorção foliar do Zn . Apesar de, em ausência de luz, a retirada de Zn da solução apresentar o mesmo comportamento em função do tempo, daquele encontrado em condições de luminosidade, a taxa de absorção nessas condições foi sempre o dobro da produzida no escuro.

O fato da qualidade e intensidade luminosa aumentar a taxa de absorção de diversas substâncias tem sido demonstrado por diferentes investigações, como mostra a revisão de FRANKE (1967) . O que ainda não se sabe é, como a energia luminosa favorece a absorção, se diretamente influenciando a permeabilidade da plasmalema ou indiretamente pelo aumento da fotossíntese que forneceria energia para o processo (FRANKE, 1967) . O aumento de absorção de Rb por células isoladas enzimaticamente de folhas de fumo pela adição de ATP , pareceria indicar que o efeito da luz teria caráter fotossintético, porém, nessas mesmas condições não houve acréscimo de absorção de fosfato (JYUNG et al., 1965) .

A adição de produtos energéticos da fotossíntese, em condições de escuro, bem como a utilização de enzimas inibidores do processo

fotossintético, serviria, também, para diferenciar o papel da luz no incremento da absorção dos nutrientes (FRANKE, 1967).

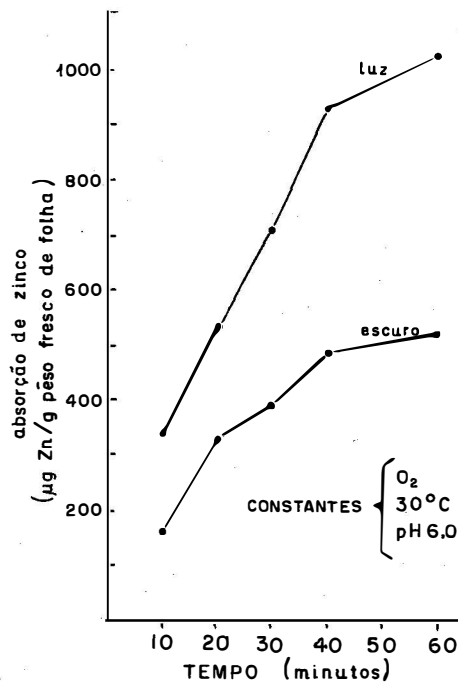


Fig. 2-Absorção de Zn em função da energia luminosa. Os pontos são médias de 3 repetições.

KYLIN (1960) estudando a acumulação de sulfato em folhas de várias plantas, concluiu que o transporte metabólico do sulfato é realizado por duas diferentes fontes de energia, cada uma correspondente a condições de luz e escuro. RAINS (1967) para tecido foliar de milho, chega, também, a conclusões semelhantes: sob luz, a fonte energética do transporte do K está conectada a reação fotossintéticas e no escuro, depende do processo respiratório.

Os resultados encontrados aqui relatados demonstram, que a absorção do Zn por tecido foliar do cafeeiro é dependente da energia luminosa.

### 2.3.3. ABSORÇÃO DE ZINCO EM FUNÇÃO DOS INIBIDORES DO PROCESSO RESPIRATÓRIO

A energia requerida para a absorção ativa pode ser derivada do metabolismo respiratório. Se a respiração está envolvida no processo, o efeito do oxigênio na taxa de absorção é marcante. Esse efeito foi observado, para a absorção de zinco por folhas de cafeeiro, como nos ilustra a fig. 3, que expressa os resultados encontrados. Quando se substituiu o oxigênio por  $N_2$ , a absorção foi deprimida de maneira acentuada, representando 55% daquela encontrada em condições aeróbicas aos 60 minutos. Do mesmo modo que os resultados encontrados por SCHMID et al. (1965), a inibição da absorção de Zn, torna-se mais severa em função do tempo de absorção.

Quando se usou o 2,4-dinitrofenol (DNP) a  $10^{-4}$  M, conhecido como desacoplador da fosforilação oxidativa (ATP), (LATIES, 1959), uma significativa redução da absorção de Zn, foi obtida. A fig. 3 mostra o fenômeno. Observa-se que esta concentração de DNP inibiu a absorção de Zn, com maior eficiência do que o  $N_2$ , sendo que aos 60 minutos o total de Zn absorvido com este tratamento foi na ordem de 48% em relação ao tratamento com  $O_2$ .

Resultados semelhantes, foram encontrados por HAAG e SARRUGE (1965), para absorção de zinco por raízes destacadas de cafeeiro e SCHMID et al. (1965) para absorção de Zn em tecido radicular de cevada.

Esses resultados parecem indicar que a absorção foliar de zinco é um processo metabólico, sendo a energia requerida para transporte do Zn para o simplasto, derivada, em parte, do metabolismo respiratório.

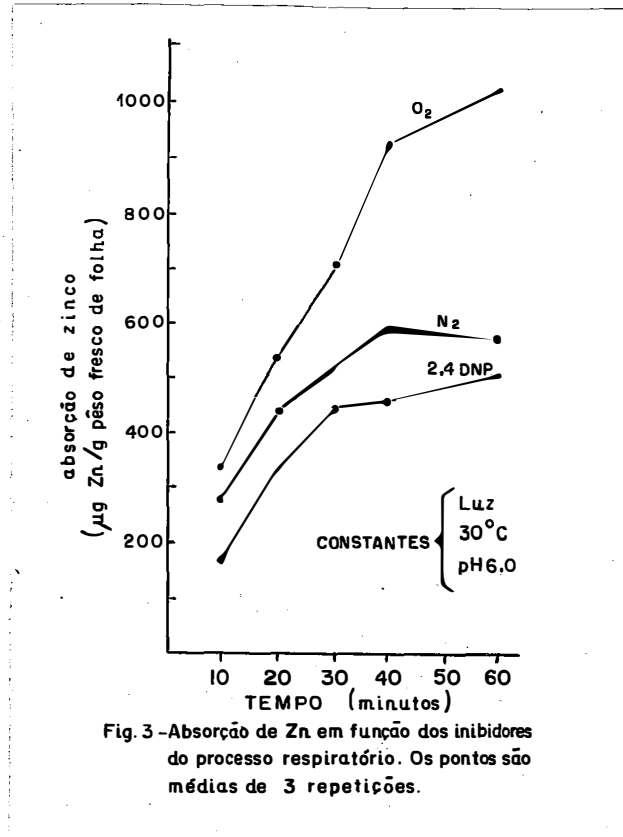


Fig. 3 - Absorção de Zn em função dos inibidores do processo respiratório. Os pontos são médias de 3 repetições.

Por outro lado, êsses resultados vêm demonstrar que a rápida retirada inicial de um material vegetal, quando colocado em uma solução, não pode ser considerada totalmente não metabólica, como querem alguns autores, conforme discussão do item 2.3.1. Se a curva de absorção na sua parte inicial expressasse apenas a absorção apoplástica, passiva, evidentemente, êsse trecho não mostraria depressão na absorção do Zn, em presença do 2,4 DNP, que é inibidor metabólico da respiração, não estando envolvido com os mecanismos físico-químicos responsáveis pela translocação dos íons, na absorção inicial, passiva. Assim sendo, queremos crer que a absorção linear em função do tempo, encontrada



nesses trabalhos, deva corresponder, pelo menos, parte da absorção simplástica, ativa.

Comparando êsses resultados com aquêles encontrados no item 2.3.2. verificamos que a retirada de Zn da solução externa necessitou de luz e oxigênio. Se considerarmos que a taxa de absorção, na ausência dêsses dois fatores um de cada vez, foi ainda considerável, e que sempre um dêles estêve presente, parece-nos que as considerações feitas naquele item, para os trabalhos de KYLIN (1960) e RAINS (1967), explicariam êsses resultados. No escuro, a absorção do Zn seria realizada às expensas da respiração e em condições anaeróbicas ou em presença de DNP, a luz forneceria energia para a realização do fenômeno. Quando os dois fatores, luz e  $O_2$ , estão presentes, o resultado é o máximo de absorção demonstrado pelo tratamento contrôle (fig. 1).

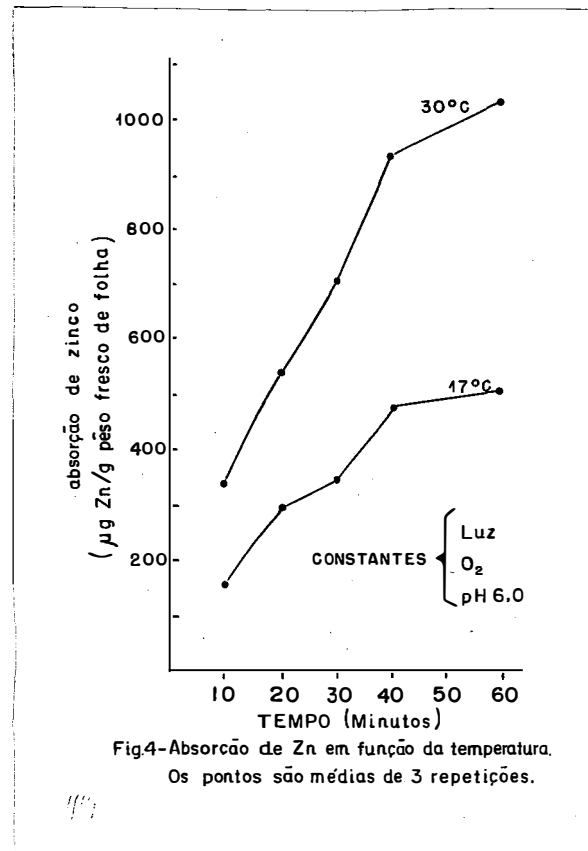
#### 2.3.4. ABSORÇÃO DO ZN EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA

A temperatura é outro fator que exerce influência na retirada dos nutrientes pelos tecidos vegetais.

Para diferenciação entre processo ativo e passivo do metabolismo vegetal, o coeficiente de temperatura ( $Q_{10}$ ) tem sido um dos índices mais usados. Por essa razão, a determinação dêsse índice foi verificada para a absorção do Zn por tecido foliar de cafeeiro, mesmo considerando o valor relativo que êsse índice apresenta na distinção dos mecanismos da absorção.

Os resultados em  $\mu g$  de Zn absorvido por g. de tecido fresco de fôlhas de cafeeiro são mostrados na fig. 4. Observa-se, que a absorção do cationio aumenta diretamente com a temperatura de  $17^{\circ}C$  para  $30^{\circ}C$ .

O coeficiente de temperatura médio ( $Q_{10}$ ), em função do tempo, calculado tomando por base o aumento de temperatura de  $13^{\circ}\text{C}$ , revelou-se igual a 1,54 .



Para MEYER, ANDERSON e BOHNING (1960), quando a taxa de reação é cerca do dobro para um aumento de temperatura de  $10^{\circ}\text{C}$ , ou seja,  $Q_{10}$  apresenta valor próximo a 2, significa que o processo é controlado enzimaticamente, tal como ocorre na respiração. Quando o processo é exclusivamente físico, como a difusão de íons, o índice  $Q_{10}$  não alcança níveis superiores a 1,30 .

Para autores como JYUNG e WITTWER (1965), vários enzimas catalizam reações apresentando  $Q_{10}$  menor que 2, e alguns apresentam valores próximos a 1,15 .

FRANKE (1967) , afirma que valores de  $Q_{10}$  , variando de 2 a 3 , indicam presença de processo metabólico, enquanto um mecanismo físico, como a difusão apresenta variação de  $Q_{10}$  de 1 a 1,5 . Entretanto, JYUNG , WITTEW e BUKOVAC (1965) apresentam um  $Q_{10}$  igual a 3,16 para absorção metabólica de  $PO_4^{-3}$  por fôlhas de fumo, e JYUNG e WITTEW (1964) apresentam dados de  $Q_{10} = 1,55$  como absorção foliar metabólica de  $Rb^+$  , em feijoeiro.

De acôrdo com êsses últimos autores, os resultados aqui encontrados indicariam a existênciã de absorção metabólica do zinco, por fôlhas de cafeeiro.

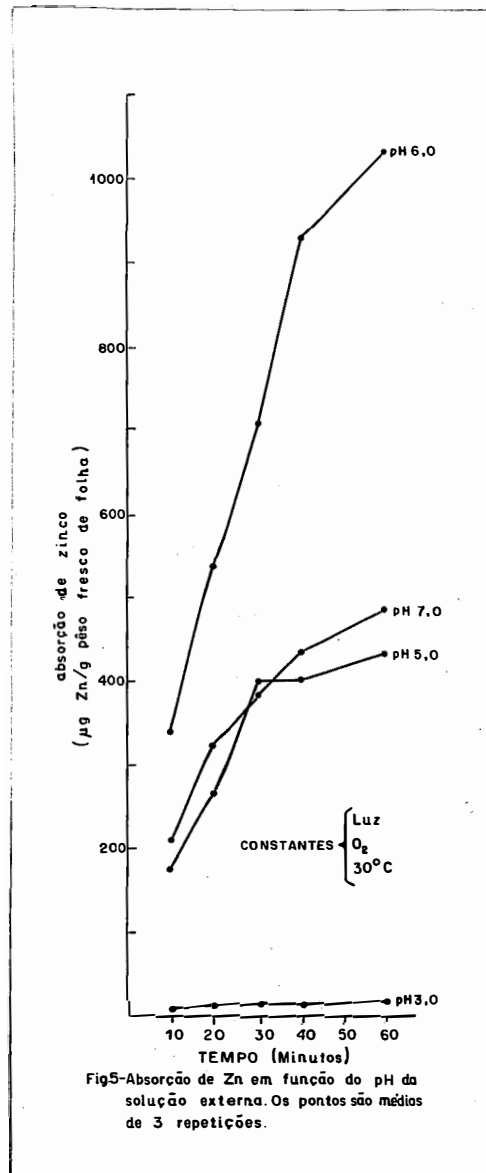
#### 2.3.5. ABSORÇÃO DO Zn EM FUNÇÃO DO pH

As diferenças na taxa de absorção de Zn por fôlhas de cafeeiro, devido ao pH da solução externa, foram as mais marcantes. Isso é perfeitamente evidenciado pela fig. 5 . A absorção de Zn foi drásticamente diminuída com o abaixamento do pH para 3,0 . Nota-se que nessa condição a absorção foi constante em função do tempo.

Se considerarmos para efeito de comparação, como 100% a absorção de Zn , em pH 6,0 ao 60 minutos, verifica-se que no mesmo tempo a absorção foi 1,7% , 42,0% e 47,6% , respectivamente, para condições de pH 3,0 , 5,0 e 7,0 .

No que diz respeito aos índices de pH igual a 3,0 , 5,0 e 7,0 , êsses resultados conferem com aquêles encontrados por HAAG e SAR RUGE (1965) para absorção de Zn em raízes destacadas de cafeeiro, na parte referente ao pH 3,0 . Para pH 5,0 e 7,0 êsses autores encontraram maiores taxas de absorção em pH 5,0 , sendo, porém, as curvas de 5,0 e 7,0 muito próximas, uma da outra . A diferença daqueles resultados com êsses aqui relatados se acha na posição relativa das curvas

de pH 5,0 e 7,0 . Naqueles, a curva da solução mais ácida se encontra em posição ligeiramente superior ao pH neutro.



Apesar daqueles autores concluir a superioridade da solução de pH 5,0 na absorção de Zn , queremos crer não haver diferenças significativas na retirada do elemento entre as soluções de pH 5,0 e

7,0 . Em condições de pH 6,0 , não incluída no trabalho de HAAG e SARRUGE , (1965) a absorção de Zn representa o dobro daquela conseguida em pH 5,0 ou 7,0 . O que nos leva a concluir que o pH ideal para absorção de Zn pelas células mesofílicas esteja em redor de 6,0 .

A baixa absorção em pH 3,0 é explicada por SUTCLIFFE (1962) como sendo ocasionada por injúrias provocadas pelo meio muito ácido às membranas celulares. Isso causaria uma desorganização celular, o que prejudicaria a entrada metabólica do elemento. As quantidades encontradas nessas condições são consideradas como tendo penetrado por meio passivo. Para esse autor, o aumento da concentração hidrogeniônica do meio causa, geralmente, um decréscimo na absorção de cátions. Com o aumento de íons de cargas semelhantes, haveria uma competição pelas ligações dos transportes ativos através da plasmalema. Isso explicaria, os resultados aqui encontrados, até o nível de pH 6,0 .

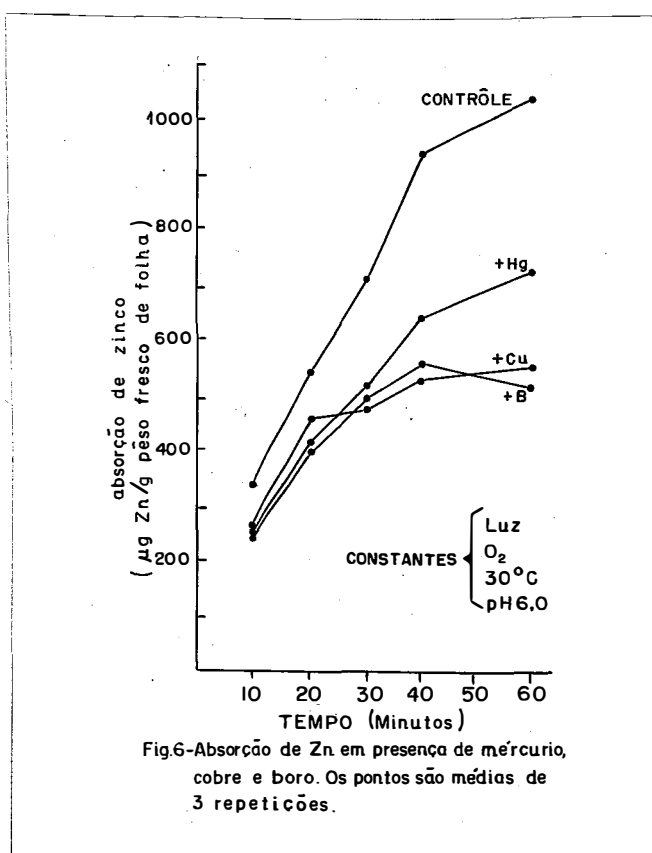
O decréscimo de absorção de Zn quando o pH do meio externo foi elevado de 6,0 para 7,0 , parece ter explicação no metabolismo dos ácidos orgânicos dentro da célula. Sabe-se que a absorção de cátions é compensada pela formação de ácidos orgânicos no suco celular e, reciprocamente , quando um excesso de aniônios é absorvido, esses radicais ácidos tendem a desaparecer a fim de que o total de carga iônica, dentro da célula, seja eletricamente igual a zero (ULRICH , 1941) . Com uma maior concentração de hidróxidos  $\text{OH}^-$  no meio, esses competiriam com o Zn pelos pontos de ligação dos transportadores de íons, diminuindo a concentração de ácidos orgânicos na célula e acarretando, indiretamente, uma redução na absorção do cátionio (LUNDEGARDH , 1949 ; BURSTROM, 1951 ; citados por JACOBSON e ORDIN , 1954) .

Para HAAG e SARRUGE (1965) a competição dada pelo cátionio  $\text{Na}^+$  utilizada para corrigir o pH da solução original poderia, também, competir com o Zn .

### 2.3.6. ABSORÇÃO DE ZINCO EM PRESENÇA DO BORO , DO COBRE E DO MERCÚRIO

Os dados obtidos nessa fase dos estudos estão expostos na figura 6 .

Tôdas as curvas de absorção, mostram a mesma tendência em função do tempo para os tratamentos, porém, com intensidades diferentes.



O B ou o Cu , quando presentes no meio externo, ambos, deprimam a retirada do Zn da solução, em cerca de 50% aos 60 minutos, quando comparados com os resultados da solução controle. O comportamento da competição desses dois cátions ao Zn , pode ser considerado semelhante.

A marcha de absorção do Zn foi prejudicada, também pela presença do Hg , sendo, porém, em menor intensidade que aquela produzida pelas presenças do Cu ou B . Aos 60 minutos, o Hg inibiu a retirada do Zn da solução em 30% .

A competição do Cu na absorção do Zn do meio externo está em concordância com os resultados relatados por HAAG e SARRUGE (1965) e SCHMID et al. (1965) trabalhando com raízes destacadas de cafeeiro e cevada, respectivamente. ARZOLLA (1955) , verificou, também, que as raízes do cafeeiro retiravam Zn em menor quantidade, quando na composição da solução nutritiva se encontrava o cátionio cobre.

No que se refere ao B , o efeito depressivo encontrado, contrariam os resultados descritos por HAAG e SARRUGE (1965) que apontam efeitos estimulatórios desse elemento na absorção do Zn. Deve-se ressaltar, entretanto, que esse comportamento foi verificado para tecido de raízes de cafeeiro.

A curva encontrada para a absorção do Zn em presença do cátionio Hg , leva-nos a considerar sobre a validade da recomendação que fazem autores, como MULLER (1958) , para se combinar numa só pulverização, com postos de zinco com fungicidas, de uma maneira geral, para a correção da carência de zinco. Esse mesmo autor, em um trabalho recente de revisão sobre nutrição de cafeeiro, reconsidera, em parte, essa prática, recomendando-a com cautela, pois poderá haver prejuízos na nutrição do cátionio (MULLER, 1966) . A esse respeito, BOCK et al. (1958) aspergindo fungicidas mercuriais sobre cafeeiros, verificaram pela análise foliar que o conteúdo de Zn nas folhas tratadas caiu para cerca de 50% naquelas consideradas como testemunha, chegando mesmo haver indução de deficiência de Zn , em folhas normais.

Esse efeito competitivo de íonios de uma mesma carga elétrica, tem sido explicado como sendo uma concorrência pelos pontos de ligação da substância que funciona como transportadora no mecanismo de transporte de íonios para o interior do citoplasma (SUTCLIFFE, 1962) .

Dentro dos objetivos propostos por êsses estudos, os resultados encontrados, em que se verificou competição de iônios na absorção de um elemento, sugerem segundo JYUNG e WITTWER (1965) , que a absorção foliar do Zn é um fenômeno metabólico.

### 2.3.7. ABSORÇÃO DE ZINCO EM PRESENÇA DE COMPOSTOS ORGÂNICOS

Verificação de resultados da adição de substâncias orgânicas às soluções, na absorção dos nutrientes, tem sido realizada. Entre essas substâncias, têm recebido maior atenção pelos pesquisadores, os produtos energéticos da fotossíntese, que poderiam funcionar como fonte de energia, em condições de escuro, na absorção metabólica, e a uréia, por ser conhecida a sua cinética de penetração, 10 a 20 vezes mais rápida que a dos demais nutrientes, independente da sua concentração (FRANKE, 1967) .

As conseqüências na absorção do Zn , por tecido foliar de cafeeiro, quando se adicionou sacarose 0,01M, em condições de luminosidade e escuro, podem ser vistas na fig. 7 . Nesse gráfico, são apresentados, também, os efeitos de uma dose maior da solução externa pelas células mesofilares.

Em qualquer situação testada, êsses compostos orgânicos depressiram a absorção do Zn . A sacarose, em ausência de luz, prejudicou mais intensamente a extração do micronutriente que sob condições de energia luminosa, mostrando, indiretamente, a importância da luz para a realização do fenômeno. O efeito depressivo da sacarose ficou mais evidenciado com o aumento da concentração desse carboidrato, de 0,01 M para 0,05 M . O efeito dado pela presença da uréia na solução de Zn , à absorção desse elemento, pode ser comparado ao encontrado para a sacarose.



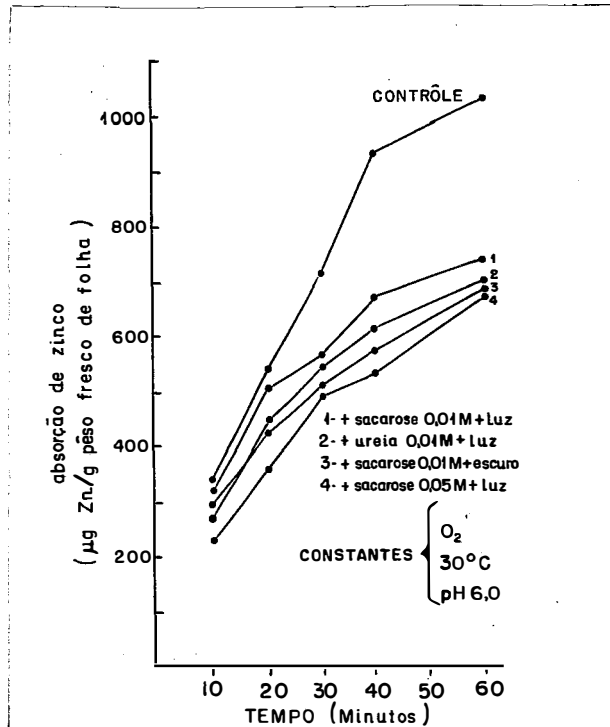


Fig.7-Absorção de Zn em presença de compostos orgânicos. Os pontos são médias de 3 repetições

Esses resultados, no que diz respeito ao efeito da sacarose na absorção do Zn, concordam com YAMADA (1962) que concluiu que a retirada de fósforo por folhas inteiras de feijoeiro, decresce pela adição de sacarose, quer em presença ou ausência de luz. Ao contrário, a uréia tem favorecido a absorção de íons, como o ferro e fósforo, em Citrus sp e plantas de feijão e abacaxi, segundo diversos autores, mencionados por FRANKE (1967).

Procurando examinar o mecanismo da influência da uréia e dos açúcares na absorção dos nutrientes, YAMADA (1962) e YAMADA et al. (1965 e 1966), verificaram para cutículas isoladas, que a uréia realmente au-

menta a permeabilidade da membrana cuticular, facilitando a penetração do fosfato, do  $S^{+2}$  e  $SO_4^{-2}$ , não foi favorecida, nem reduzida pela adição de glucose ou sacarose, embora, ambos sacarídeos não tivessem dificuldades de transpor a cutícula.

O efeito favorável dado pela sacarose encontrado por KAMIMURA e GOODMAN (1964) na absorção de leucina ou de streptomina por folhas de macieiras, talvez, seja indireto, isto é, o açúcar seria utilizado como fonte de energia para o processo.

Para YAMADA (1965) o efeito da uréia na permeabilidade da cutícula é baseado na perda da estrutura da membrana pela troca de ligações de radicais esteres e éteres entre as macromoléculas da cutina, resultando em uma ultraporosidade que permitiria a entrada de íônios junto com as moléculas da uréia. CAMARGO (1968), sugere que a difusão da uréia através da cutícula seja resultante de uma energia de ativação.

O efeito depressivo causado pela sacarose na absorção do fosfato para YAMADA (1962) deve ser causada pelo aumento da pressão osmótica da solução dada pela presença do açúcar. SAKAMURA (1952), (citado por YAMADA, 1962) verificou plasmólise em células submetidas a uma solução de cálcio com 0,25 Mol de sacarose. Esses efeitos poderiam ter ocorrido nesses experimentos, o que explicaria os resultados encontrados para a sacarose.

## 2.4. CONCLUSÕES \*

Os resultados encontrados permitem as seguintes conclusões, no que diz respeito à absorção de Zn, por tecido foliar de cafeeiro.

- 1 - A absorção de Zn cresce com o tempo. É rápida e linear até 40 minutos, diminuindo de intensidade após esse período.
- 2 - A absorção de Zn é deprimida pela ausência de energia luminosa.
- 3 - A absorção de Zn é deprimida quando o oxigênio é substituído pelo  $N_2$ .
- 4 - A absorção de Zn é deprimida em presença de 2,4 DNP.
- 5 - A absorção de Zn é deprimida pelo abaixamento de temperatura de 30°C para 17°C. O  $Q_{10}$  calculado foi igual a 1,54.
- 6 - A absorção de Zn é deprimida em condições de pH 3,0, 5,0 e 7,0 da solução externa, quando comparado com aquela verificada em pH 6,0.
- 7 - Absorção de Zn é deprimida em presença do cobre, do boro, e do mercúrio.
- 8 - A absorção de Zn é deprimida pela sacarose, em presença ou ausência de luz.
- 9 - A absorção de Zn é deprimida em presença de uréia.

-.-.-.-.-

-.-.-.-.-

-.-.-.-.-

(\*) Apesar de não ser comum o emprego de estatística matemática, na interpretação dos resultados de estudos de absorção com radioisótopos, após escrevermos esse capítulo, solicitamos à Seção de Bioestatística do Instituto Biológico, que submetesse os resultados do quadro 1

à análise estatística. Em resumo essa análise constatou:

- 1 - As quantidades de Zn absorvidas aos 40 e 60 minutos foram semelhantes;
- 2 - Na análise para o período de 10 a 40 minutos, a absorção variou com o tempo, demonstrado pela interação Tratamento x Tempo, altamente significativa;
- 3 - Para a maioria dos tratamentos a regressão linear explica a cinética de absorção do Zn nesse espaço de tempo;
- 4 - No caso em que os desvios da regressão linear foram significativos (tratamentos 6, 8, 9, 11, 12 e 13), ainda assim, é ela que mais contribui para a soma dos quadrados desses tratamentos (acima de 90%);
- 5 - Na comparação, pelo teste de Tukey, dos coeficientes angulares das linhas, de regressão construídas para todos os tratamentos, verifica-se que o tratamento 1 difere de todos os demais ao nível de 1%; todos os tratamentos com exceção daqueles em que se testou o efeito dado pelo Cu, pH 5,0 e pH 7,0 foram semelhantes entre si (5% de probabilidade); os tratamentos com Cu, pH 5,0 e pH 7,0 não apresentaram diferenças significativas entre si e foram aqueles que mais deprimiram a absorção do Zn, se excluirmos o tratamento 5 (pH 3,0) que foi eliminado da análise estatística por apresentar variância diferente dos demais;
- 6 - O coeficiente de variação foi da ordem de 8,11%.

3. EXPERIMENTOS SÔBRE ABSORÇÃO FOLIAR DE  
ZINCO , AO NÍVEL DE FÔLHAS INTEIRAS

### 3.1. REVISÃO DA LITERATURA

Apesar de ser conhecido, há mais de 100 anos, o fato relatado por GRIS em 1844, que a planta pode absorver nutrientes pelas folhas (WITTWER e TEUBNER, 1959), somente em 1955, são descritas as primeiras observações sobre absorção de Zn por folhas de cafeeiro (ARZOLLA, 1955). As pesquisas no Brasil sobre a nutrição desse micronutriente para o cafeeiro justificaram-se, somente, após 1953, com a publicação do trabalho de FRANCO e MENDES (1953), relatando a carência de Zn no Estado de São Paulo.

ARZOLLA (1955) verificou que a absorção foliar do Zn chegou a ser 8 vezes mais intensa em comparação com a retirada do elemento, da solução nutritiva, pelas raízes. Observou, também, que a absorção do cátion foi maior na região abaxial da folha. Estes mesmos resultados são relatados por MALAVOLTA et al. (1956); MALAVOLTA et al. (1959); MALAVOLTA et al. (1960); ARZOLLA et al. (1962).

Em solução nutritiva, os sintomas de falta de Zn no cafeeiro foram obtidos pela primeira vez por MALAVOLTA e JOHNSON (1960), (citado por MALAVOLTA et al., 1967).

PEREIRA et al. (1963) trabalhando com mudas de cafeeiro, de mesma idade das utilizadas nos experimentos relatados nesse capítulo, verificaram que o Zn absorvido pela folha se transloca pelo floema acropetamente para as folhas novas e basipetamente para as raízes. A esse respeito, BUKOVAC e WITTWER (1957), classificam o Zn como um elemento de mobilidade parcial, comparado com outros íons considerados móveis (K e P, por exemplo) e imóveis, como Ca e Mg.

### 3.2. ESTUDO DA METODOLOGIA

A aplicação da metodologia utilizada em trabalhos de absorção foliar com folhas inteiras é facilitada quando são usados compostos que contenham isotópos radioativos. Em geral, a absorção do elemento pode ser constatada, colocando-se uma simples gota da solução radioativa sobre a superfície foliar, e, depois de algum tempo, expor a parte não tratada a um sistema de detecção e contagem (BUKOVAC e WITTWER, 1957). Mesmo quando é empregado outro método de aplicação, como pincelamento da solução radioativa, usado por ARZOLLA (1955), a aplicação de volumes pequenos, facilita a utilização dessas técnicas.

Nesses métodos, a rápida evaporação da água determina mudanças, principalmente na concentração e no pH da solução, sobre a superfície da folha, o que exerce uma influência pronunciada na taxa de absorção (JYUNG e WITTWER, 1964). Isto é, parcialmente, compensado quando se emprega o "sticking method" idealizado por YAMADA (1962) ou a técnica "lens-tissue paper", desenvolvida por van den HENDE et al. (1960) quando, água ou solução é periodicamente, adicionada sobre um selo de gase ou papel de filtro, preso à lâmina foliar.

Quando são usados compostos sem atividade radioativa, o emprego dessas técnicas é dificultado pelo volume da solução, relativamente grande, que se tem de usar, devido à solubilidade e concentração dos sais. Essas razões, nos levaram a ensaiar um método que facilitasse o emprego de alto volume, no qual a evaporação da água não determinasse mudanças sensíveis na concentração e no pH da solução, e que permitisse estudar alguns problemas sobre a absorção foliar de zinco pelo cafeeiro.

O método utilizado por JYUNG e WITTWER (1964) para Phaseolus vulgaris L., onde a folha é submergida na solução radioativa contida em uma placa de Petri, poderia ser adaptado aos nossos propósitos, caso a folha do cafeeiro não apresentasse impedimentos de ordem is Morfológica to é, não fôsse curto peciolada.

O método estudado, foi baseado em EATON e HARDING, (1959) no qual a planta sem ser retirada do recipiente em que está crescendo, é invertida sobre um vaso contendo a solução do elemento em estudo. Depois de um tempo pré-fixado, a planta é retirada e as folhas são destacadas e analisadas. A absorção de um dado elemento é verificada pela comparação dos teores existentes nas folhas tratadas, com aqueles de folhas "contrôle", destacadas da planta, antes da mesma ser colocada na solução.

Entretanto, para a utilização dessa metodologia em folhas de cafeeiro, fazia-se necessário o conhecimento prévio de certas condições como a existência de equivalência de níveis de zinco entre as folhas usadas como controle e aquelas tratadas com a solução ; a quantidade e a idade das folhas a serem usadas ; e o tempo de duração em que deveriam se processar as observações. Por essas razões foram realizados ensaios preliminares, descritos a seguir, com o propósito de instituir normas de trabalho.

### 3.2.1. ENSAIO N.º 1

Com a finalidade de verificar a correspondência da concentração de zinco existente entre folhas de um mesmo par de folhas ; entre pares de folhas de uma mesma planta, e entre plantas da mesma idade, foi instalado esse ensaio. Teve como objetivo, também, obter informações sobre qual o tipo de folhas, quanto a sua idade fisiológica, traria maior precisão para o método.

#### 3.2.1.1. MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizadas cinco mudas de cafeeiro cultivar Mundo-Novo, plantadas em laminados, com oito pares de folhas verdadeiras, desenvolvi-



das em dois períodos de crescimento. As mudas apresentavam-se em bom estado de sanidade, e não demonstravam sintomas de deficiência nutricional.

Os pares de folhas foram numerados em ordem crescente, a partir da base da muda. As folhas foram destacadas, lavadas em água desmineralizada, e identificadas individualmente. A seguir foram colocadas em estufa a  $75^{\circ}\text{C}$ , até peso constante. Após efetuados os pesos secos das folhas, essas foram colocadas em mufla a  $550^{\circ}\text{C}$ , tomando-se as cinzas em 5 ml de HCl para as determinações em espectrofotômetro de absorção atômica, Perkin Elmer, modelo 303, usando-se lâmpada série 818 K.

#### 3.2.1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como as mudas utilizadas apresentavam-se com folhas que haviam se desenvolvido em duas fases de crescimento resolveu-se "a priori", estabelecer uma diferenciação entre folhas novas ou sejam, os quatro pares de folhas do topo de muda, e folhas velhas, as folhas basais. Com isso, procurou-se eliminar a fonte de variação, dada pela idade das folhas.

Os resultados analíticos encontrados, bem como as análises da variância desses dados podem ser observados nos quadros 2 e 3. Nas análises da variância, os dados foram transformados para  $\log. x$ .

Os resultados expostos no quadro 2, mostram que as quantidades do elemento foram semelhantes nas diversas plantas testadas e entre os quatro pares de folhas da base da muda.

Utilizando-se a metodologia de classificação hierárquica dos componentes da variação (SNEDECOR, 1962), a fim de determinar a importância de cada um dos fatores em estudo, na composição da variância média ou seja, a planta, o par dentro da planta e a folha dentro do par, verificou-se que esse último foi a parcela que mais contribuiu para a variância média, com 36,68%. Como esse componente é o mais importante para o método, isso estaria aconselhando a não utilização desse tipo de folha.

Por outro lado, a análise dos dados do quadro 3, em que são considerados os teores de zinco existentes nas folhas do topo da muda, indica que a contribuição dada para a variância média, pela técnica de componentes da variância (SNEDECOR, 1962) entre folhas de um mesmo par, foi baixa (6,98%), o que indicaria o uso desse tipo de folha. A diferença, altamente significativa, dos teores de zinco entre os pares de folhas mais novas, se explica por se tratar de folhas em crescimento, apresentando graus diferentes de desenvolvimento, conforme a sua posição no ramo. Isso é percebido, também, pela decomposição da variância média, quando esse componente concorre com 62,31%. Nas folhas mais velhas, em que todos os pares tinham atingido o seu completo amadurecimento, essas diferenças não ocorreram.

Para os níveis de zinco, as plantas se mostraram homogêneas, também, para as folhas do topo.

Para eliminar a fonte de variação dada pelos pares de folhas, imaginou-se realizar as determinações de zinco no material proveniente do conjunto de quatro folhas, uma de cada par de folha, obtendo-se, assim, um teor médio. Com esse procedimento, aumentar-se-ia a quantidade de material a ser analisado, o que daria, também, maior precisão nos resultados analíticos. Para verificação dessa hipótese foi programado um outro teste preliminar.

Quadro 2 - Teste em branco. Teores de zinco nos 4 pares de folhas da base (folhas velhas), de mudas de cafeeiro.

Repetições	1º par de folhas		2º par de folhas		3º par de folhas		4º par de folhas		Médias
	Zn (1)	Zn (2)	Zn (1)	Zn (2)	Zn (1)	Zn (2)	Zn (1)	Zn (2)	
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	
Planta 1	40	44	65	63	153	38	33	30	58
Planta 2	137	75	55	65	49	39	31	36	61
Planta 3	71	136	70	96	49	37	41	40	68
Planta 4	30	24	37	41	34	40	27	70	38
Planta 5	76	23	52	64	63	81	25	81	58
Médias	71	60	56	66	70	47	31	51	

(1) determinado em uma folha do par

(2) determinado na folha homóloga a (1)

Análise da Variância (C. V. = 8,9%)

	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Planta				
Par de folha dentro da planta	4	0,2628	0,0657	1,41 n.s.
Folha dentro do par	15	0,7009	0,0467	1,95 n.s.
Total	20	0,4802	0,0240	
	39	1,4439		

Componentes da Variância

V ( $\bar{x}$ )	Planta	Par dentro da planta	Folha dentro de par
0,00164	= 0,00047	+ 0,00056	+ 0,0006
100,00	= 28,66	+ 34,15	+ 36,58

Quadro 3 - Teste em branco. Teores de zinco nos 4 pares de folhas do tópo (folhas novas), de mudas de cafeeiro.

Repetições	5º par de folhas		6º par de folhas		7º par de folhas		8º par de folhas		Médias
	Zn (1)	Zn (2)	Zn (1)	Zn (2)	Zn (1)	Zn (2)	Zn (1)	Zn (2)	
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	
Planta 1	31	36	17	25	21	21	34	44	29
Planta 2	29	31	18	18	29	31	59	48	33
Planta 3	13	13	12	14	15	18	91	41	27
Planta 4	47	54	30	40	32	30	72	53	45
Planta 5	30	41	30	34	22	30	20	31	50
Médias	30	35	21	26	24	26	55	43	

(1) determinado em uma folha do par

(2) determinado na folha homóloga a (1)

Análise da Variância (C. V. = 5,5 %)

	G. L.	S. Q.	Q. M.	F.
Planta	4	0,428671	0,10717	1,14 n.s.
Par de folha dentro da planta	15	1,113106	0,07421	9,93 **
Fólia dentro do par	20	0,149328	0,00747	
Total	39	1,691105		
Componentes da Variância				
V ( $\bar{x}$ )	Planta	Par dentro da planta	Fólia dentro do par	
0,00268	= 0,00082	+ 0,00167	+ 0,000187	
100,00	= 30,60	+ 62,31	+ 6,98	

### 3.2.2. ENSAIO N.º 2

Baseado nos resultados do primeiro ensaio, em que as fôlhas mais novas se mostraram de maior interêsse, devido a sua menor variabilidade nos teores de zinco existente entre fôlhas de mesmo par, fator de maior importância para o método adotado, foi instalado um novo "teste em branco", cujo objetivo foi diminuir a taxa de variação causada pelos pares de fôlhas.

#### 3.2.2.1. MATERIAL E MÉTODO

O método diferiu daquele empregado no primeiro teste, apenas, no que se refere à amostragem do material para as análises foliares. Essas foram realizadas no material resultante do conjunto de quatro fôlhas, uma de cada par de fôlha, e no seu conjunto homólogo, para verificação da correspondência entre os níveis do elemento zinco, em fôlhas de mesmo par.

Foram utilizadas mudas do cultivar Mundo Novo com oito pares de fôlhas verdadeiras, vegetando em laminados, das quais foram utilizados, apenas, os quatro pares de fôlhas de crescimento mais novo.

#### 3.2.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados analíticos de zinco e peso seco das fôlhas, podem ser observados no Quadro 4 .

A análise da variância, após os dados de concentração de zinco, do quadro 4 terem sido transformados para  $\log. x$ , mostra que os níveis de zinco, entre fôlhas de mesmo par, são semelhantes, indicando que o conjunto de quatro fôlhas, uma de cada par, poderia ser usado como controle do seu conjunto homólogo. Os resultados acusaram, também, homogeneidade nos pesos secos das amostras. Na análise estatística desses resultados, os dados não sofreram transformações.

Quadro 4 - Teste em branco. Teores de Zn em fôlhas de mudas de cafeeiro, e pêsco sêco das amostras analisadas. Dados médios de oito plantas.

	Pêsco sêco	Zn
	mg	ppm
Amostra (1)	589	32
Amostra (2)	590	35

(1) composta de 4 fôlhas, uma de cada par  
 (2) composta das 4 fôlhas, homólogas a (1)

Análise da Variância

F. V.	F.	C.V. %
Pêsco sêco das amostras	0,04 n.s.	19,52
Concentração de Zn	0,005 n.s.	9,81

### 3.2.3. ENSAIO N.º 3

Outro problema encontrado na aplicação do método empregado por EATON e HARDING (1959), foi a duração do tempo de exposição das fôlhas à solução. Para Citrus sp., êsses autores usaram períodos de imersão de 18 horas.

Com o propósito de se obter a curva de absorção do Zn em função do tempo, a fim de dar orientação, quanto à duração dos trabalhos experimentais, foi instalado êsse ensaio.

#### 3.2.3.1. MATERIAL E MÉTODO

Mudas de cafeeiro "Mundo Novo", crescendo em laminados, com idade fisiológica correspondente a plantas com 7-8 <sup>parças de</sup> fôlhas verdadeiras,

foram vertidas sôbre copos contendo 1 litro de solução de Zn a 0,2% , mantida à temperatura de 30°C , sob uma luminosidade constante de 3000 lux , constantemente arejada, durante períodos de 3 , 6 , 24 e 48 horas. Foram usadas 6 plantas para cada tempo de absorção.

De acôrdo com os resultados dos testes anteriores, foram utilizados, apenas, os 4 pares de fôlhas do tôpo da muda. As fôlhas restantes, foram eliminadas, antes do experimento.

Como a espécie Coffea arábica L. , apresenta fôlhas opostas, decussadas, a numeração das fôlhas, de 1 a 8 , foi realizada segundo um movimento helicoidal, ascendente, com o propósito de se evitar amostras constituídas de fôlhas provenientes de um mesmo lado da planta. Essas foram formadas de 4 folhas completas retiradas de acôrdo com a numeração, de modo a se ter um conjunto de fôlhas de números ímpares, destacadas antes da imersão da planta na solução e usado como "contrôle", e um conjunto de fôlhas pares, submetidas à absorção.

Os tecidos da zona de abscisão das fôlhas, expostos pela retirada das mesmas, foram protegidos, por meio de vaselina, antes da planta ser levada à solução.

A concentração de zinco usada foi indicada após diversos testes preliminares, como sendo aquela em que a concentração do sal, nas condições do ensaio, não demonstrou lesões de queimaduras nas fôlhas.

Empregou-se o sulfato de zinco ( $Zn SO_4 \cdot 7 H_2O$ ) como fonte inorgânica de zinco, por ser o composto mais utilizado nas pulverizações de correção da deficiência desse elemento, em diversas culturas.

Os copos contendo as plantas imersas em 1000 ml de solução de zinco, foram colocados em um banho de temperatura controlada, de um modo inteiramente casualizado. A temperatura foi ajustada para 30°C , verificando-se oscilações de  $\pm 1^\circ C$  , durante o experimento.

Desde o início até o fim do experimento as soluções de zinco, foram arejadas com um jato contínuo de ar.

O ensaio foi conduzido em condições de laboratório, sendo a luminosidade obtida por meio de lâmpadas incandescentes de 100 <sup>watts</sup> e fluorescentes, dispostas, em baixo e ao lado do conjunto de banho de temperatura controlada de paredes transparentes.

Tôdas as fôlhas contrôle ou tratadas, de uma dada amostra, depois de separadas da planta, foram individualmente lavadas em água desmineralizada, e em seguida colocada em uma solução de detergente acidificado com HCl (solução de Dreft) por 15 segundos. Esse procedimento segundo SMITH et al. (1950) e WALLIKAN et al. (1956) é mais efetivo na remoção de zinco aplicado à superfície foliar que uma solução de EDTA a 10% .

Após terem sido retiradas da solução detergente, as fôlhas foram lavadas segundo a técnica, modificada, de "imersão e lavagem", desenvolvida por JYUNG e WITTER (1964) . Segundo êsses autoras, todo resíduo não absorvido, remanescente na superfície da fôlha tratada, é removido, quando ela é mergulhada em sucessivos banhos de água destilada. Admitem ainda, que com essa lavagem, certa quantidade do sal é removida do espaço aparentemente livre (ELA) que é a via de translocação das substâncias, após atravessarem a cutícula da fôlha.

A nossa modificação, na técnica de "imersão e lavagem" consistiu em aumentar o número de banhos sucessivos (de 3 para 5) ; a duração da imersão da fôlha no banho (de 15 para 30 segundos) ; o volume do banho de 50 ml para 1000 ml , e a utilização de água desmineralizada, em vez de água destilada, por se tratar de micronutriente.

As fôlhas tratadas, antes de serem colocadas nas soluções de zinco, foram lavadas, apenas, com água desmineralizada.

Depois de lavadas, as fôlhas foram sêcas em papel de filtro, e colocadas em estufa a 75°C , até peso constante, quando então foram determinados os pesos, por amostra. As cinzas do material obtidas em



mufla a  $550^{\circ}\text{C}$  , foram tomadas em 10 ml de HCl (1+9) para as leituras em fotômetro de absorção atômica Perkin - Elmer , modelo 303 , lâmpada sêrie 818 K . As concentrações de zinco nas amostras, foram determinadas com auxílio de uma curva padrão, obtida com soluções de concentrações conhecidas desse elemento e expressas em  $\mu\text{g}$  do elemento existente em 1 grama do material (KYLIN, 1960) .

Considerou-se como equivalente à absorvida, toda a quantidade do elemento, determinado analiticamente, nas folhas tratadas, deduzida daquela existente nas folhas controle.

Determinações da concentração e do pH das soluções, foram realizadas antes e após os tempos convencionados para a absorção.

O material de laboratório foi sempre lavado com detergente , HCl (1+4) , EDTA 10% (pH 8,0) e água desmineralizada.

#### 3.2.3.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O quadro 5 apresenta as concentrações de zinco existente antes (folhas controle) e após os diversos períodos de tempo de contato, com a solução de sulfato de zinco (folhas tratadas). A taxa de absorção de zinco, foi calculada retirando-se dos níveis das folhas tratadas, os teores das folhas controle. Nessa tabela, também, são vistos, os pesos secos a  $75^{\circ}\text{C}$  , das amostras de folhas.

As análises da variância foram realizadas após os dados de zinco, em ppm , serem convertidos para  $\log. x$  . Para as análises do peso seco das folhas, os dados originais não sofreram transformações.

Os resultados apontados no quadro 5 , revelam inicialmente, que as plantas usadas, foram semelhantes entre os diversos tratamentos , tanto no que diz respeito ao peso seco das amostras, bem como, nas concentrações de zinco das folhas controle.

Quadro 5 - Absorção de Zn , em função do tempo, por fôlhas de mudas de cafeeiro. Solução de  $Zn SO_4 \cdot 7 H_2O$  , 0,02% . Dados médios de 6 repetições.

Tempo de Absorção	Fôlhas controle		Fôlhas tratadas		Zn absorvido em função do tempo (2) - (1)
	Pêso sêco	Zn (1)	Pêso sêco	Zn (2)	
	mg	ppm	mg	ppm	ppm
3 horas	598	38	604	182	144
6 horas	518	48	531	328	281
24 horas	668	39	566	725	686
48 horas	568	36	544	1210	1174

Análise da Variância

F. V.	F	C. V. %
Pêso sêco	1,52 n.s.	21,20
Zn , fôlha controle	0,56 n.s.	16,07
Zn , absorvido	64,14 **	4,84
Correlação (pêso sêco x Zn , fôlhas controle)	r = - 0,4499 *	
Correlação (pêso sêco x Zn , absorvido)	r = 0,0213	

Foi encontrada uma correlação negativa, significativa, entre o pêso sêco da amostra e o teor de zinco analisado nas fôlhas antes do tratamento com sulfato de zinco. Esse fato, ocorre frequentemente em análises foliares e se deve à diluição da concentração do elemento no material analisado. Essa correlação, entretanto, desapareceu quando se levaram em conta as quantidades do elemento absorvido. Nesse caso, como a taxa de absorção é elevada, o efeito da diluição, responsável pela correlação inicial, não se evidenciou.

O efeito para tratamentos foi altamente significativo, mostrando que o zinco foi absorvido, em função da duração dos tratamentos.

Apesar de crescer em função do tempo, a análise dos dados, demonstrou que de 3 para 6 horas, os acréscimos médios foram semelhantes, o que, talvez, se explique devido à pequena diferença em tempo, entre êsses dois pontos. Quando as fôlhas permaneceram durante 24 horas na solução, a retirada de Zn foi mais sensível, sendo essa diferença altamente significativa em relação àquela obtida para as 6 horas. Entretanto, quando se dobrou o tempo para 48 horas, o aumento na absorção de Zn não foi diferente, estatisticamente, daquele encontrado nas 24 horas, o que estaria indicando não ser necessário ir além desse tempo (24 horas) na condução dos experimentos.

Devido às alterações de volume dadas pela evaporação, a concentração de zinco nas soluções que receberam as plantas, apresentaram-se aumentadas de 5 a 8% da concentração original, taxas que podem ser consideradas baixas, e como não tendo influído na absorção apresentada.

O pH original da solução, cerca de 5,90, não sofreu alterações durante o curso do experimento.

#### 3.2.4. CONCLUSÕES

Os resultados dos ensaios preliminares mostraram:

1. Os teores de Zn em fôlhas de um mesmo par de fôlhas de cafeeiro, são semelhantes.
2. A variabilidade na concentração de Zn entre fôlhas homólogas de um mesmo par, é menor para fôlhas novas que para as fôlhas maduras.

3. Os resultados analíticos de Zn apresentam menor variabilidade quando se utilizam amostras constituídas de quatro fôlhas em comparação com amostras de uma fôlha.
4. A quantidade de Zn absorvida por fôlhas de caféiro é ascendente para as 24 horas iniciais tendendo a estabilizar-se nas 24 horas subsequentes.

### 3.3. MATERIAL E MÉTODO

O material botânico empregado ; o método e as condições de condução dos experimentos ; o método de lavagem do material de laboratório e das folhas para as análises ; o método analítico para determinação do Zn e o modo de expressar as concentrações do elemento no material vegetal, foram idênticos àqueles descritos no item 3.2.3.1., na parte referente ao Estudo da Metodologia.

As indicações aqui apresentadas, são aquelas peculiares a cada experimento, ou as não relatadas naquele ítem.

O tempo de imersão das plantas, considerado como tempo de absorção, foi de 24 horas, para todos os ensaios.

Empregaram-se sais puros, pró-análise, dissolvidos em água desmineralizada, de modo a que tôdas as soluções apresentassem 0,02 % de Zn .

No experimento em que foram adicionados compostos orgânicos à solução de Zn, a sacarose e a uréia foram usadas, ambas, nas concentrações de 0,01 e 0,02 M .

Os níveis de pH das soluções foram ajustados com HCl ou NaOH através de um potenciômetro de calomelano, Beckmann.

Em todos os ensaios, os tratamentos foram distribuídos dentro do banho de temperatura controlada, de um modo inteiramente casualizado.

O número de plantas utilizadas como repetições variou com o experimento, conforme está indicado nas tabelas dos resultados. Foram realizados três ensaios, cujos tratamentos e o tipo de efeito que se queriam verificar sobre a absorção foliar de Zn, estão esquematizados a seguir:

1 - Efeito de diferentes compostos de Zn

- Tratamentos:
1. Sulfato de Zinco
  2. Acetato de Zinco
  3. Nitrato de Zinco
  4. Cloreto de Zinco
  5. Quelato de Zinco

2 - Efeito do pH da solução externa

- Tratamentos:
1. Sulfato de Zinco com pH 4,0
  2. Sulfato de Zinco com pH 5,0
  3. Sulfato de Zinco com pH 6,0
  4. Sulfato de Zinco com pH 7,0

3 - Efeito de compostos orgânicos

- Tratamentos:
1. Sulfato de Zinco (contrôle)
  2. Sulfato de Zinco + sacarose 0,01 M
  3. Sulfato de Zinco + sacarose 0,02 M
  4. Sulfato de Zinco + uréia 0,01 M
  5. Sulfato de Zinco + uréia 0,02 M

Análises estatísticas dos resultados foram realizadas para peso seco do material foliar e para os teores de Zn nas folhas controle, com o intuito de se verificar se as plantas usadas, como repetição, foram homogêneas. Os dados de absorção, expressos em  $\mu\text{g}$  de Zn por grama de folhas secas antes de serem submetidos à análise estatística foram, sempre transformados para  $\log x$ .

### 3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.4.1. ABSORÇÃO DE Zn DE DIFERENTES COMPOSTOS DE ZINCO

O quadro 6 apresenta os resultados da retirada de Zn de vários compostos solúveis, pelas folhas do cafeeiro. Nesse quadro são vistos, também, as concentrações do elemento e os pesos secos do material utilizado como folhas controle.

A concentração de Zn das folhas não tratadas, mostram que as plantas apresentavam níveis do elemento dentro do limite considerado como normal ou adequado pela maioria dos pesquisadores, segundo MULLER (1966) .

As análises estatísticas dos dados revelaram que as plantas, no que se refere ao desenvolvimento das folhas, em peso seco, foram diferentes. Seria desejável que isso não acontecesse devido à correlação negativa, significativa, existente entre peso seco das folhas e a concentração inicial de Zn . Porém, esse fato poderá ser desprezado, devido ao desaparecimento da correlação quando se comparam os pesos secos com os níveis absorvidos como ficou demonstrado na parte do Estudo do Método. Um fato importante é que os teores de Zn nas folhas-contrôle foram estatisticamente semelhantes, mostrando que quanto a isso, o material vegetal, apresentava homogeneidade.

A absorção de Zn dependeu do composto de Zn empregado, o que é provado pelo teste F , cujo valor 5,28 , é significativo a 5% de probabilidade.

Quadro 6 - Absorção de Zn de diversos compostos de zinco, por folhas de mudas de cafeeiro. Dados médios de 5 repetições.

Tratamentos: soluções a 0,02% de Zn	pH	Peso seco folhas controle mg	Concentração de Zn nas folhas		Zn absorvido após 24 horas (2) - (1) ppm
			Contrôle (1) ppm	Tratadas (2) ppm	
Zn SO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O (Testemunha)	6,10	548,2	32	923	891
Zn (C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> · 2 H <sub>2</sub> O	6,80	573,4	30	600	570
Zn (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	6,00	765,6	23	330	307
Zn Cl <sub>2</sub>	6,50	550,2	33	451	418
Na <sub>2</sub> Zn EDTA	6,40	753,8	27	27	-
Análises da Variância					
F. V.		F.		C. V. %	
Peso seco		6,68 **		15,10	
Zn, folhas controle		1,10 n.s.		8,22	
Zn, absorvido		5,28 *		10,69	



No tratamento com quelato de zinco ( $\text{Na}_2\text{Zn EDTA}$ ), não houve retirada do elemento da solução. A concentração de Zn encontrada nas folhas, após 24 horas de contato com a solução, foi igual à já existente antes do tratamento.

Apesar de conhecido o fato de ser o Zn absorvido como  $\text{Zn}^{+2}$  e, também, na forma de complexo molecular como a de quelatos, com EDTA (CAMARCO, 1968), os relatos dos efeitos produzidos pela aplicação de quelatos de Zn no solo, na correção de plantas deficientes desse elemento, têm sido controvertidos (STEWART, 1963). Especificamente para o cafeeiro, essa prática não trouxe aumento de concentração de Zn nas folhas (LOUÉ, 1960; MEDCALF e LOTT, 1956). Parece que os resultados estariam condicionados, principalmente, ao pH do solo. Em condições de acidez, o Zn complexado adicionado ao solo é trocado pelo Fe do solo formando-se então quelato de Fe, mais estável. Em pH acima de 7,0 ou em excesso de  $\text{Zn}^{+2}$ , o ácido etileno diamino tetraacético (EDTA) não agiria como agente quelante do Fe (STEWART, 1963), permitindo a absorção do Zn na forma de quelato, pelas plantas.

De KOCK e MITCHELL (1957) comparando a absorção de cátions, sob a forma iônica ou complexada por quelatos, por tomateiros em solução nutritiva, concluíram que os metais divalentes como o Co, Ni, Zn e Cu são facilmente absorvidos na forma iônica porém dificilmente quando quelados, especialmente com o EDTA.

Por não ter havido absorção no tratamento com quelato, esse dado foi eliminado da análise estatística.

O sulfato de zinco foi o composto que permitiu maior absorção de zinco, em grau absoluto. Pelo teste de Tukey (PIMENTEL GOMES, 1963), porém as taxas médias de retirada do cátionio foram semelhantes para as soluções de sulfato, cloreto e acetato de zinco. O teor médio de Zn absorvido quando esse elemento foi fornecido pelo nitrato de zinco, foi significativamente menor que aquele dado pelo sulfato de zin

co, porém sem diferenças significativas às absorções provocadas pelo acetato de zinco e pelo cloreto de zinco. Êsses últimos, assim, se colocaram em uma posição intermediária, dentro dos compostos usados como fontes de Zn na absorção foliar de caféiro.

De certa forma, êsses resultados concordam com aquêles encontrados em outros trabalhos, como mostra a revisão efetuada por MULLER (1966), e com as recomendações dadas por MALAVOLTA (1967) no sentido que a correção da carência de zinco deva ser tentada preferivelmente através de pulverização foliar com sulfato de zinco.

#### 3.4.2. ABSORÇÃO DE ZINCO EM FUNÇÃO DO pH

Os resultados dêsse experimento são observados no quadro 7. Por êsses dados constata-se que o material usado foi homogêneo, tanto no que diz respeito ao nível de zinco nas fôlhas, como no pêso das mesmas.

Pelo teste de Tukey (PIMENTEL GOMES, 1963) os dados médios de absorção de zinco, pelas fôlhas, em uma solução com pH inicial igual a 4,00 não diferiu daqueles obtidos na solução com pH 5,00, sendo diferente das médias encontradas, relativas às soluções com níveis de pH iguais a 6,00 e 7,00 (5 e 1% de probabilidade). Os teores de zinco absorvidos nas soluções com pH igual a 5,00, 6,00 e 7,00, no início do período de imersão das plantas nas soluções, foram semelhantes, pelo Teste de Tukey, aos níveis de 5 e 1% de probabilidade.

A intensificação da absorção do elemento pela diminuição da concentração hidrogeniônica é, também, traduzida por uma regressão linear, altamente significativa (14,72<sup>\*\*</sup>).

Quadro 7 - Absorção de Zn, em função do pH da solução externa de Zn SO<sub>4</sub> • 7 H<sub>2</sub>O (0,02% Zn), por fôlhas de mudas de cafeeiro. Dados médios de 5 repetições.

Tratamentos	Pêso sêco fôlhas controle		Concentração de Zn nas fôlhas		Zn absorvido e pH após 24 horas (2) - (1)
	mg	ppm	Controle (1)	Tratadas (2)	
pH 4,0	568	48	416	368	pH 4,5
pH 5,0	491	53	689	636	pH 6,0
pH 6,0	501	47	795	748	pH 6,1
pH 7,0	547	44	758	714	pH 6,6
Análises da Variância					
F. V.			F.		C. V. %
Pêso sêco			0,41 n.s.		24,29
Zn, fôlhas controle			0,41 n.s.		7,86
Zn, absorvido em função do pH			6,55 **		4,43
Regressão (Zn absorvido x pH)			14,72 **		
Desvio da regressão			2,46 n.s.		

Há concordância desses resultados com aqueles encontrados para absorção do radiozinc, ao nível de tecido, descritos, no item 2.3.5. Verifica-se um incremento da absorção de zinco com o aumento do pH da solução externa até o nível de pH igual a 6,00, estabilizando ou mesmo diminuindo em valor absoluto, quando a concentração de íons hidrogênio da solução atinge o índice de pH 7,00.

A medição do pH da solução após o período de absorção acusou alterações do pH inicial, como pode ser visto no quadro 7. As diferenças encontradas entre o pH da solução antes e após a absorção dão maior força às considerações realizadas no item 2.3.5., quando se procurou explicar os efeitos do pH da solução externa na absorção do Zn.

Se observarmos esses dados verificamos que, quando o pH inicial da solução é menor que 6,0, a concentração hidrogeniônica da solução tende a diminuir, o que estaria indicando uma competição do íon  $H^+$  com o micronutriente, pelos mesmos pontos de ligações dos transportadores ativos nos mecanismos de absorção (SUTCLIFE, 1962). Para soluções com pH acima de 6,0, isto é, com pH igual a 7,0, a absorção de Zn sofreria competição do hidróxido  $OH^-$ , o que explicaria o acréscimo da concentração de íons de hidrogênios na solução final. Em condições de pH 6,0, a solução não mostrou alteração no seu pH ao fim do período de absorção, o que indicaria não ter havido ocorrência de competição, razão pela qual, a maior absorção do cátion se deu nesta condição de pH.

Esses resultados nos levam a considerar sobre a conveniência da utilização da prática preconizada por MULLER (1958), entre outros, em neutralizar a acidez da solução de sulfato de zinco, com compostos de cálcio, usada nas pulverizações dos cafezais. Pelos resultados de HAAG e SARRUGE (1965), em que a absorção de Zn por raízes de café sofreu um acréscimo de 25% quando em presença do cátion cálcio, poderia-se supor que a queda na absorção motivada pelo levantamento do pH, seria compensada pela função estimulatória do cálcio no mecanismo da absorção.

VIET (1944) salienta que o cálcio produz aumento na absorção do K e do Br , por raízes destacadas de cevada. No entretanto, SCHMID , HAAG e EPSTEIN (1965) , trabalhando com raízes destacadas de cevada, confirmam que a presença do cálcio, resulta em efeito depressivo na retirada de Zn do meio.

O  $\text{Ca(OH)}_2$  adicionado à solução do sulfato de zinco poderia ter ação como agente protetor nas aspersões foliares de sais tóxicos como  $\text{ZnSO}_4$  e  $\text{CuSO}_4$  , (CAMARGO, 1968) . Mesmo êsse efeito de proteção , não foi encontrado por MONTEIRO et al. (1968) em fôlhas tratadas com sulfato de zinco com adição de  $\text{Ca(OH)}_2$  e NaOH , em pulverizações aéreas de cafeeiros.

É interessante salientar, que uma solução de sulfato de zinco, na concentração recomendada pela Secção de Café do Instituto Agronômico de Campinas<sup>(\*)</sup> (6 g. de sal por litro de água) , para a correção de lavouras deficientes de zinco, apresenta um índice de pH igual a 6,0.

Todos êsses dados, nos levam a sugerir que sejam realizados novos experimentos, principalmente, em condições de campo, com o propósito de elucidar o efeito na absorção foliar de zinco, por cafeeiros, quando se usa uma solução de sulfato de zinco, neutralizada com  $\text{Ca(OH)}_2$  .

Dever[er] ser levado[os] também, em conta, nessa discussão, os resultados encontrados por BUKOVAC e WITTWER (1957) que trabalhando com feijoeiro, verificaram que a melhor absorção foliar de Zn , ocorreu quando a solução externa apresentava pH igual a 3,0 , o que poderia estar indicando que os efeitos dados pelo caráter ácido ou básico da solução, dependeriam, também, da planta.

-.-.-.-.-

-.-.-.-.-.-

-.-.-.-.-

(\*) Informação verbal

### 3.4.3. ABSORÇÃO DE ZINCO EM PRESENÇA DE COMPOSTOS ORGÂNICOS

Os resultados dêsse ensaio podem ser observados no quadro 8. Nesse quadro são vistos, também, os resumos das análises estatísticas dos dados de pêsos e das concentrações de zinco.

Os resultados encontrados mostram diferenças estatísticas entre os tratamentos. Aplicando-se o Teste de Tukey (PIMENTEL GOMES, 1963), verifica-se que a solução com sacarose 0,02 M, provocou uma menor absorção de zinco que os demais tratamentos, sendo essa diferença significativa, a 5% de probabilidade, daquela obtida com o tratamento controle.

As diferenças das taxas de absorção entre as soluções de sulfato de zinco <sup>1963</sup> receberam sacarose a 0,01 M e uréia em qualquer dosagem, e aquela só com sulfato de zinco, se revelaram casuais, isto é, não estatísticas.

As plantas se mostraram homogêneas quanto ao pêsosêco das folhas, porém diferentes no que se refere à concentração de zinco nas folhas controle. Isso, talvez se explique devido ao fato de se ter usado, nesse ensaio, plantas de mesma variedade, porém de procedência diferente. Foram usadas plantas provenientes da Secção de Café do Instituto Agrônômico de São Paulo e mudas formadas por nós, na Secção de Fisiologia Vegetal Aplicada, do Instituto Biológico.

Até certa forma os resultados são semelhantes àqueles encontrados na primeira parte dêsses estudos, quando a sacarose deprimiu a absorção do Zn, em função do aumento das doses do carboidrato. A uréia que, ao nível tecidual mostrou-se prejudicial à absorção do Zn, nas condições dêsse ensaio não provocou alterações no teor de Zn das folhas tratadas.

A causa da depressão na absorção do catiônio, quando em presença da sacarose, pode ser explicada do mesmo modo como foi no item 2.3.6., isto é, pelo aumento da pressão osmótica dada pela sacarose à solução.

Uma série de aplicações foliares de Zn , combinado com uréia, em pomares de Citrus sp, também, não provocaram aumento do conteúdo do catiônio nas folhas (LABANAUSKAS et al. , 1963 ; LABANAUSKAS e PUFFER , 1964) .

Quadro 8 - Efeito da sacarose e da uréia na absorção do Zn, retirado de uma solução de Zn SO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O (0,02% Zn), por fôlhas de mudas de cafeeiro. Dados médios de 4 repetições.

Tratamentos (pH 6,0)	Peso seco fôlhas		Concentração de Zn nas fôlhas		Zn absorvido após 24 horas (2) - (1)
	mg	contrôle	Contrôle (1)	Tratadas (2)	
Zn SO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O (contrôle)	472		ppm 118	ppm 1050	ppm 932
Testemunha + sacarose 0,01 M	553		79	1231	1152
Testemunha + sacarose 0,02 M	512		49	730	681
Testemunha + uréia 0,01 M	484		115	1048	933
Testemunha + uréia 0,02 M	490		50	1180	1130
Análise da Variância					
			F.	C. V. %	
Peso seco			0,75 n.s.	16,45	
Zn, fôlhas contrôle			6,48 *	26,93	
Zn, absorvido			5,56 **	2,69	



### 3.5. CONCLUSÕES

Em face dos resultados obtidos, em relação à absorção de Zn por fôlhas inteiras de cafeeiro, conclui-se:

- 1 - O Zn é retirado pelas fôlhas em maior quantidade de uma solução de sulfato de zinco, que de soluções de acetato de zinco, de cloreto de zinco ou de nitrato de zinco.
- 2 - O Zn não é retirado pelas fôlhas de uma solução de quelato de zinco.
- 3 - A absorção de Zn é deprimida em condições de pH 4,0 da solução externa. As quantidades absorvidas em pH 5,0 , 6,0 e 7,0 foram semelhantes.
- 4 - A absorção de Zn é deprimida em presença de sacarose a 0,02 M .
- 5 - A absorção de Zn não sofre efeito pela presença de sacarose a 0,01 M e pela uréia.

#### 4. CONCLUSÕES GERAIS

Os estudos realizados permitem concluir.

- 1 - A absorção de zinco por fôlhas de cafeeiro é um processo metabólico.
- 2 - O zinco é retirado pelas fôlhas do cafeeiro em maior quantidade quando se emprega uma solução de sulfato de zinco.
- 3 - A absorção de zinco por fôlhas de cafeeiro ocorre em maior quantidade, quando a solução externa apresenta um pH igual a 6,0 .
- 4 - Comparando-se as conclusões dos estudos efetuados para a absorção de zinco ao nível de tecido com aquelas encontradas quando foram usadas fôlhas inteiras, constata-se que informações sôbre problemas de nutrição foliar podem ser obtidas a partir de metodologia que utiliza elemento sem atividade radioativa.

## 5. RESUMO

O objetivo d'êste trabalho foi procurar evidências indicativas de que a absorção de zinco, por fôlhas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.), é realizada por processos metabólicos. Foi determinado, também, uma metodologia apropriada para estudos de absorção, por fôlhas inteiras de cafeeiro, quando se utilizam fontes não radiativa do elemento.

Na primeira fase d'esses estudos, a investigação foi conduzida ao nível de tecido foliar, utilizando-se  $^{65}\text{Zn}$ . Verificou-se a influência dos seguintes fatores, sôbre a absorção do zinco: temperatura, luz, oxigênio, pH da solução externa, 2,4 - dinitrofenol, sacarose, uréia, boro, cobre e mercúrio.

Nos experimentos em que se utilizou material sem atividade radiativa, após o estabelecimento da metodologia, examinou-se a absorção de Zn por fôlhas inteiras de mudas de cafeeiro, dada por solução de sulfato, cloreto, acetato, nitrato e quelato de zinco. Os efeitos da presença de sacarose e uréia e do pH externo da solução de sulfato de zinco, sobre a absorção do micronutriente foram, também, estudados nessa fase dos experimentos.

Os dados obtidos mostraram que:

- 1 - A absorção de Zn por tecido foliar é um fenômeno metabólico, pois, os seguintes fatos foram constatados: a absorção é inicialmente rápida e crescente, diminuindo de intensidade com o tempo; a absorção é deprimida pela ausência de energia luminosa, por condições anaeróbicas, pela presença de inibidores da respiração, pelo pH da solução externa, pela presença da sacarose e da uréia e sofre competição do cobre, do boro e do mercúrio.

- 2 - Com o emprêgo da metodologia apropriada é possível a realização de estudos de absorção de Zn com fôlhas inteiras de cafeeiro, sem a utilização de material radioativo.
- 3 - O Zn é retirado pelas fôlhas do cafeeiro em maior quantidade quando se emprega uma solução de sulfato de zinco.
- 4 - O Zn não é absorvido de uma solução de quelato de zinco, por fôlhas de cafeeiro.
- 5 - A absorção de Zn por fôlhas de cafeeiro ocorre em maior quantidade, quando a solução externa apresenta um pH igual a 6,0.
- 6 - A presença de sacarose e de uréia na solução externa, não aumenta a absorção de Zn .

## 6. SUMMARY

Studies on zinc absorption by coffee (Coffea arabica L.) leaves.

Researches were conducted in order to:

- 1 - Demonstrate that zinc absorption is an active process.
- 2 - Development of a method that permits the use of intact plants to study the metabolism of zinc absorption.

It consisted essentially in detaching one leaf of each pair of the axis. The remaining aerial part of the plant was dumped in the solution containing inert zinc. Analyses for zinc content were run on each leaf and by difference the net absorption of zinc was determined.

Initially studies on absorption of zinc labeled with  $^{65}\text{Zn}$ , were carried out with leaves slices in regard to the time course of uptake, temperature, light, oxygen, pH of external solution, 2,4 DNP, sucrose, urea, boron, copper and mercury.

After the establishment of the new methodology different sources of zinc (sulphate, chloride, acetate, nitrate and chelate) were tested on intact coffee plants. The effects of sucrose, urea and zinc sulphate solution at different pH was also tested.

The concluding comments are:

- 1 - The absorption of zinc is an active process. Sucrose and urea depress the absorption of zinc. Copper, boron and mercury competitively interfere with transport of zinc into the "inner" space.

- 2 - Zinc sulphate is the best source for foliar application.
- 3 - The absorption of zinc is more active when the solution of zinc sulphate is pH 6.0 .
- 4 - It is possible to study the absorption of zinc, the role of metabolism, the kinetics and selectivity of the process using inert zinc.

7. LITERATURA CITADA

- AMERICAN ZINC INSTITUTE - s/data - The need for zinc - Diagnosis and treatment of zinc deficiency in crops. Amer. Zinc. Inst.: 40 p.
- ANANTH, B. R. e N. G. CHOKKANNA - 1962 - Zinc deficiency in Arabica coffee. World Crops 14 (3): 89-91 .
- ARZOLLA, J. P. - 1955 - Contribuição ao estudo da absorção e translocação do radiozinco no cafeeiro (Coffea arabica L.) - Tese de Doutorado E. S. A. "Luiz de Queiroz", Universidade de S. Paulo (mimeografado): 38 p.
- ARZOLLA, J. D. P. ; H. P. HAAG e E. MALAVOLTA - 1956 - Nota preliminar sobre a absorção e a translocação do radiozinco no cafeeiro (Coffea arabica) cultivado em solução nutritiva. E.S.A. "Luiz de Queiroz" , Anais 12-13: 113-120 .
- ARZOLLA, J. D. P. ; H. P. HAAG e E. MALAVOTA - 1962 - Estudos sobre alimentação mineral do cafeeiro. VIII. Estudo da absorção e da translocação do radiozinco no cafeeiro (Coffea arabica L.). E. S. A. "Luiz de Queiroz" , Anais 19: 35-52 .
- BOCK, K. R. ; J. B. D. ROBINSON e G. T. CHAMBERLAIN - 1959 - Zinc deficiency induced by mercury in Coffea arabica. Nature 182: 1607 - 1608 .
- BUKOVAC, M. J. e S. H. WITWER - 1957 - Absorption and mobility of foliar - applied nutrients. Plant Physiol. 32: 428- 435.
- CAMARGO, P. N. - 1966 - Aspectos anatômicos da absorção e translocação de água, ions e solutos nas plantas. Parte I. Aspectos citológicos. E. S. A. "Luiz de Queiroz" (mimeografado): 71 p.

- CAMARGO, P. N. - 1968 - Absorção foliar e lavagem de nutrientes nas plantas. E. S. A. "Luiz de Queiroz" , Univ. São Paulo. Bol. Didático 20: 124 p.
- DeKOCK, P. C. e R. C. MITCHELL - 1957 - Uptake of chelated metals by plants. Soil Sci. 84: 55-62 .
- EATON, F. M. e R. B. HARDING - 1959 - Foliar uptake of salt constituents of water by Citrus plants during intermittent sprinkling and immersion. Plant. Physiol. 34 (1): 22-26 .
- EPSTEIN, E. - 1961 - Essential role of calcium in selective cation transport by plant cells. Plant Physiol. 36: 437-444 .
- EPSTEIN, E. e J. E. LEGGETT - 1954 - The absorption of alkaline earth cations by barley roots: Kinetics and mechanism. Amer. Jour. Bot. 41: 785 .
- FIESER, L. F. e M. FIESER - 1965 - Química orgânica. (3<sup>a</sup> ed. espanhola). Grijalbo (ed.): 1330 p.
- FRANCO, C. M. e H. C. MENDES - 1953 - Deficiência de microelementos em cafeeiro (nota preliminar). Super. Serv. Café , (São Paulo) 28: 19-22 .
- FRANKE, W. - 1967 - Mechanisms of foliar penetration of solutions. Ann. Rev. Plant Physiol. 18: 281-300 .
- FRUTON, J. S. e S. SIMMONDS - 1963 - General Biochemistry. (2<sup>nd</sup> edition). John Wiley and Sons. (ed.): 1077 p.
- GONZALES, C. A. ; C. CAMARGO e L. GUEVARA - 1952 - Informe preliminar sobre el efecto del sulfato de zinc en la corrección de ciertas formas de crecimiento anormal del cafeto. San José , Costa Rica , Min. Agric. Indust. Bol. Técn. 7: 8 p.



- GONZALES, C. A. ; J. PÉREZ ; J. EGGERT e H. HOPP - 1954 - El abonamiento del cafeto. San José , Costa Rica , Min. Agric. Indust. Bol. Divulg. 18: 24 p.
- GOODMAN, R. N. e H. S. GOLDBERG - 1960 - The influence of Cation competition, time, and temperature on the uptake of streptomycin by foliage. *Phytopathology* , 50: 851-854 .
- HAAG, H. P. e J. R. SARRUGE - 1965 - Absorção de zinco por raizes destacadas de cafeeiro (Coffea arabica L. , Var. Mundo Novo) . *Garcia Orta* 13 (4): 589-596 .
- JACOBSON, L. e L. ORDIN - 1954 - Organic acid metabolism and ion absorption in roots. *Plant Physiol.* 29: 70-75 .
- JAVILLIER, M. - 1908 - Le zinc chez les plantes - Recherches sur sa présence et son rôle. *Ann. Inst. Pasteur* 22: 720-727 .
- JYUNG, W. H. e S. H. WITWER - 1964 - Foliar absorption - an active uptake process. *Amer. Jour. Bot.* 51 (4): 437-444 .
- JYUNG, W. H. e S. H. WITWER - 1965 - Pathways and mechanisms for foliar absorption of mineral nutrients. *Agric. Sci. Rev. (U. S. Dept. Agric.)* 3 (2): 26-35 .
- JYUNG, W. H. ; S. H. WITWER e M. J. BUKOVAC - 1965 - Ion uptake by cells enzymically isolated from green tobacco leaves. *Plant Physiol.* 40 (3): 410-414 .
- KAMIMURA, S. e R. N. GOODMAN - 1964 - Influence of foliar characteristics on the absorption of a radioactive model compound by apple leaves. *Physiol. Plantarum* 17: 805-813 .
- KYLIN, A. - 1960 - The accumulation of sulphate in isolated leaves as effected by light and darkness. *Bot. Notiser* 113: 49-81 .

- KYLIN, A. - 1960<sup>b</sup> - The influence of the external osmotic conditions upon the accumulation of sulphate in leaves. *Physiol. Plantarum* 13: 148-154 .
- LATIES, G. G. - 1959 - Active transport of salt into plant tissue. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 10: 87-112 .
- LAUDELOT, H. ; A. MOLLE e P. CULOT - 1956 - Les carences en éléments mineurs du caféier d'Arabie au Kivu. *Bull. Doc. Tech. Agric. (Belgium Congo)* 10 (36): 43-46 .
- LOTT, W. L. ; A. C. McGLUNG ; R. de VITA e J. R. GALLO - 1961 - Levantamento de Cafézais em São Paulo e Paraná pela Análise Foliar. *IBEC Research Inst. Bol.* 26: 71 p.
- LOTT, W. L. ; J. P. NERY ; J. R. GALLO e J. C. MEDCALF - 1956 - A técnica de análise foliar aplicada ao cafeeiro. *Inst. Agron. Campinas* , *Bol.* 79: 26 p.
- LOUÉ, A. - 1960 - Nuevas observaciones sobre los oligoelementos en la nutrición del cafeto (Coffea canephora P.) Café , Cacao , Thé 4 (3): 133-149 .
- MALAVOLTA, E. - 1967 - Manual de química agrícola - Adubos e Adubações. *Bibliot. Agronômica.* 2<sup>a</sup> Ed.: 326 p.
- MALAVOLTA, E. ; H. P. HAAG ; F. A. F. de MELLO e M. O. C. BRASIL SOBR.<sup>o</sup> - 1967 - Nutrição Mineral de algumas culturas tropicais. *Liv. Pioneira* (ed.) , São Paulo: 251 p.
- MALAVOLTA, E. ; J. P. ARZOLLA e H. P. HAAG - 1956 - Preliminary note in the absorption of radiozinc by young coffee plants (Coffea arabica L.) grown in nutrient solutions. *Phyton* 6: 1-6 .
- MALAVOLTA, E. ; L. M. NEPTUNE e J. P. ARZOLLA - 1959 - Tracer studies in the coffee plant (Coffea arabica L.) . *Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz"*. *Anais* 16: 65-78 .

- MALAVOLTA, E. ; L. M. NEPTUNE ; J. P. ARZOLLA ; O. J. CROCOMO ; H. P. HAAG e W. L. LOTT - 1960 - Tracer studies in coffee plant. pp. 173-178 . In. Proc. 2.<sup>nd</sup> Inter. Amer. Symposium Peaceful Application Nuclear Energy (Buenos Aires) .
- MAZÉ, P. - 1944 - Influences respectives des éléments de la solution minérale sur le développement du maïs. Ann. Inst. Pasteur. 28: 1-48 .
- MEDCALF, J. C. e W. L. LOTT - 1956 - Metal chelates in Coffee. IBEC Research Inst. (11): 1-19 .
- MEYER, B. S. ; D. B. ANDERSON e R. H. BOHNING - 1960 - Introduction to plant physiology. D. Van Nostrand Co (ed.) , USA: 541 p.
- MULLER, L. - 1958 - Observation y control de las deficiencias de elementos menores en el cafeto. Turrialba 8 (4): 126-135 .
- MULLER, L. E. - 1959 - La aplicación del diagnóstico foliar en el cafeto (Coffea arabica L.) para una mejor fertilización. Turrialba 9 (4): 110-122 .
- MULLER, E. L. - 1966 - Coffee nutrition. In. "Nutrition of Fruit Crops" Temperature , Sub-tropical , Tropical. Norman Franklin Childers (ed.) Hort. Pub. Rutgers: 737-740 .
- OSMOND, C. B. - 1968 - Ion absorption in Atriplex leaf tissue I - Absorption by mesophyll cells. Australian Jour. Biol. Sci. 21 (6): 1119-1130 .
- PEREIRA, J. F. ; A. S. CRAFTS e S. YAMAGUCHI - 1963 - Translocation in coffee plants. Turrialba 13 (2): 64-79 .
- PÉREZ, S. V. M. - 1957 - Algunas deficiencias minerales del cafeto en Costa Rica. San José , Costa Rica. Min. Agric. Indust. , Información Téc. 2: 26 p.

- PIMENTEL GOMES, F. - 1963 - Curso de Estatística Experimental. 2<sup>a</sup> ed.  
E. S. A. "Luiz de Queiroz" , Univ. São Paulo: 384 p.
- RAINS, D. W. - 1967 - Light-enhanced potassium absorption by corn leaf tissue. Sci. 156 (3780): 1382-1383 .
- RAMAIAH, P. K. ; M. V. R. RAO e N. F. CHOKKANNA - 1964 - Zinc deficiency and the amino acids of coffee leaves (Coffea arabica L.). Turrialba 14 (3): 136- 139.
- ROBINSON, J. B. D. - 1958 - Report on a study tour of some coffee research centers in Central and South America (part. III) . Mineral deficiencies in mature coffee ; leaf sampling and analytical techniques ; laboratory facilities. Coffee Board Kenya Mo. Bull. 23 (263): 9-13 .
- SCHMID, W. E. ; H. P. HAAG e E. EPSTEIN - 1965 - Absorption of zinc by excised barley roots. Physiol. Plantarum. 18: 860-869 .
- SCHUTTE, K. H. - 1964 - The biology of the trace elements. Their role in nutrition. Crosby Lockwood and Sons (ed.): 228 p.
- SKOOG, F. - 1940 - Relationships between zinc and auxin in the growth of higher plants. Amer. Jour. Bot. 27: 939-951 .
- SMITH, R. C. e E. EPSTEIN - 1964.a - Ion absorption by shoot tissue: Technique and first findings with excised leaf tissue of corn. Plant Physiol. 39 (3): 338-341 .
- SMITH, R. C. e E. EPSTEIN - 1964.b - Ion absorption by shoot tissue: Technique and first findings with excised leaf tissue of corn. Plant Physiol. 39 (6): 992-995 .
- SMITH, P. F. ; W. REUTHER e A. W. SPECHT - 1950 - Mineral composition of chlorotic orange leaves and some observations on the relation of sample preparation technique to the interpretation of results. Plant Physiol. 25: 496- 506.

- SNEDECOR, G. W. - 1962 - Statistical methods. Iowa State Univ. Press. 534 p.
- SOMMER, A. L. - 1928 - Further evidence of the essential nature of zinc for the growth of higher green plants. Plant Physiol. 3 (2): 217-221 .
- SOMMER, A. L. e C. B. LIPPMAN - 1926 - Evidence on the indispensable nature of zinc and boron for higher green plants. Plant Physiol. 1 (3): 231-249 .
- STEWART, I. - 1963 - Chelation in the absorption and translocation of mineral elements. Ann. Rev. Plant Physiol. 14: 295-310 .
- SUTCLIFFE, J. F. - 1962 - Mineral salts absorption in plants. Pergamon Press: 194 p.
- THORNE, W. - 1957 - Zinc deficiency and its control in "Advances in Agronomy". A. G. Norman (ed.) , 9: 31-67 .
- TSUI, C. - 1948 - The role of zinc in auxin synthesis in the tomato plant. Amer. Jour. Bot. 35: 172-179 .
- van den HENDE ; A. L. BAERT e W. AVERMAETE - 1960 - Étude de la nutrition par la feuille á l'aide d'isotopes radioactifs. Bull. Inst. Agron. Sta. Rech. Gembloux 2: 739-763 .
- VIETS, F. G. - 1944 - Calcium and other polyvalent ions as accelerators of ion accumulation by excized barley roots. Plant Physiol. 19: 467-480 .
- WALLIHAN, E. F. e L. HEYMANN - HERSCHBERG - 1956 - Some factor affecting absorption and translocation of zinc in Citrus plant. Plant Physiol. 31 (4): 294-299 .
- WINTER, H. - 1961 - The uptake of cations by Vallisneria leaves. Acta Bot. Neerlandica. 10: 341-393 .

- WITTWER, S. H. e F. G. TEUBNER - 1959 - Foliar absorption of Mineral nutrients. Ann. Rev. Plant. Physiol. 10: 13-27 .
- WITTWER, S. H. ; M. J. BUKOVAC e H. B. TUKEY - 1963 - Advances in foliar feeding of plant nutrients. In. Fertilizer , Technology and usage. Soil Science Soc. Amer.: 464 p.
- WOOD, J. G. - 1953 - Nitrogen metabolism of higher plants. Ann. Rev. Plant. Physiol. 4: 1-22 .
- YAMADA, Y. - 1962 - Studies on foliar absorption of nutrients by using radioisotopes. Dep. Agric. Chemistry , Fac. Agric. , Kyoto Univ. (Doctoral thesis): 142 p .
- YAMADA, Y. ; S. W. WITTWER e M. J. BUKOVAC - 1965 - Penetration of Organic Compounds through isolated cuticular membranes with special reference to C<sup>14</sup> Urea. Plant Physiol. 40: 170-175 .
- YAMADA, Y. ; W. H. JYUNG e S. H. WITTWER - 1965 - The effects of urea on ion penetration through isolated cuticular membranes and ion uptake by leaf cells. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. , 87: 429-432 .