DISSERTAÇÃO

DETERMINAÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE COBRE EM SUBSTRATOS

ALCEU LINARES PADUA JUNIOR

Campinas, SP
2006
INSTITUTO AGRONÔMICO

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL E SUBSTROPICAL

DETERMINAÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE COBRE EM SUBSTRATOS

ALCEU LINARES PADUA JUNIOR

Orientadora: Drª. Cleide Aparecida de Abreu

Dissertação submetida ao curso de pós graduação do IAC como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre** em Agricultura Tropical e Subtropical Área de Concentração em Gestão de Recursos Agroambientais

Campinas, SP
Abril 2006

Ficha elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação do Instituto Agronômico

P125d Pádua Júnior, Alceu Linares.
Determinação da disponibilidade de cobre em substratos/ Alceu Linares Pádua Júnior. Campinas, 2006.
52 f.

Orientadora: Dra. Cleide Aparecida de Abreu
Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico

1. Cobre em substratos - Extratores 2. Cobre em substratos - análise química 3. Micronutriente I. Abreu, Cleide Aparecida de II. Título.

CDD 546.5

Aos meus pais, Alceu e Enedir pelo incentivo e confiança, à minha irmã Elisângela pelo carinho e contribuição acadêmica e à minha namorada Angélica pelo apoio, amor e companheirismo que foram indispensáveis,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

- A orientadora, Drª. Cleide Aparecida de Abreu, pela confiança, amizade e apoio financeiro, além do conhecimento científico adquirido para minha vida profissional;

- Aos pesquisadores, Drª. Mônica Ferreira de Abreu, Dr. Ondino Cleante Bataglia e o Dr. Pedro Roberto Furlani, pelo apoio no esclarecimento de dúvidas e pelas sugestões oferecidas durante a execução do trabalho;

-Ao pesquisador Dr. Hélio do Prado pela confiança, amizade e apoio, além do conhecimento científico adquirido para minha vida profissional;

- Ao técnico Luiz Antônio Mosquin pela amizade e pela sua contribuição no projeto;

- Aos pesquisadores Dr. José Ruy Porto de Carvalho da EMBRAPA – CNPTIA e o Dr. Luís Alberto Ambrósio do Laboratório de Geoprocessamento pelas sugestões, ensinamentos e auxílios nas análises estatísticas;

- Aos funcionários do Centro de Solos e Recursos Ambientais em especial a Fertilidade dos Solos e do Laboratório de Geoprocessamento pela auxílio, amizade e conselhos;

- A todos os colegas da pós-graduação do IAC, pela amizade e companheirismo;

- A todos os funcionários da PG-IAC, pela amizade e auxílio durante o curso;

- Aos meus pais Alceu e Enedir pelo apoio e por acreditarem na minha capacidade e por me incentivarem a concluir o curso;

- As empresas Klabin, Turfa Fértil a Amafibra pelo fornecimento de substrato para os experimentos.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS..... vi
INDICE DE FIGURAS..... vii
RESUMO..... x
ABSTRACT..... xi
1 INTRODUÇÃO..... 01
2 REVISÃO DE LITERATURA..... 03
2.1 Considerações Gerais..... 03
2.2 Tipos de Substrato..... 05
2.2.1 Turfa..... 05
2.2.2 Casca de Pinus..... 06
2.2.3 Fibra de Coco..... 07
2.2.4 Problemas com cobre para plantas cultivadas em substratos..... 08
2.3 Interação Cobre e Matéria Orgânica..... 09
2.4 Métodos Analíticos para Avaliar o Cobre Disponível em Substratos..... 11
3 MATERIAL E MÉTODOS..... 14
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 19
4.1 Cobre na Planta..... 19
4.2 Extração de Cobre pelos Diferentes Métodos..... 21
4.3 Eficiência dos Extratores em Avaliar a Disponibilidade de Cobre em Substratos..... 29
4.3.1 Avaliação química dos extratores para cada substrato utilizado..... 29
4.3.2 Avaliação conjunta dos substratos..... 38
4.4 Considerações Finais..... 43
5 CONCLUSÕES..... 44
6 REFERÊNCIAS..... 46

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Quantidade de nutrientes aplicados durante o ensaio, via solução nutritiva..... 16

Tabela 2 - Concentração de cobre na planta (mg kg^{-1}), cobre acumulado na parte aérea da rúcula (mg $vaso^{-1}$) e massa seca total em função das doses de cobre aplicadas nos substratos turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 20

Tabela 3 - Análise de variância da extração de Cu pelos diferentes métodos químicos em função do tipo de substrato e das doses de Cu utilizadas..... 22

Tabela 4 - Análise de variância do Cu extraído em função da dose de Cu aplicado dentro de cada substrato..... 22

Tabela 5 - Teor de Cu extraído do substrato (mg kg^{-1}), em função das doses de cobre aplicada nos substratos turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 24

Tabela 6 - Equações de regressão das variáveis Cu extraído dos substratos pelos diferentes métodos em função do Cu aplicado onde: y é o Cu extraído do substrato (mg kg^{-1}) com exceção do DTPA 2,6 e 7,3 que também possuem valores expressos em volume (mg dm^{-3}), e x é a dose de Cu aplicado, em (mg kg^{-1}) e (mg dm^{-3}), respectivamente..... 26

Tabela 7 - Correlações (r) entre os métodos testados..... 27

Tabela 8 - Coeficiente de variação, em porcentagem, para os teores e Cu da fibra de coco, casca de pinus e turfa, extraídos pelos diferentes métodos..... 28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula e o Cu aplicado na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 21

Figura 2 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula e o Cu aplicado na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 21

Figura 3 - Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 2,6 na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 30

Figura 4 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 2,6 na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 30

Figura 5 - Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg L^{-1}) pelo DTPA 2,6 na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 31

Figura 6 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 2,6 na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 31

Figura 7 - Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 7,3 na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 32

Figura 8 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 7,3 na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 32

Figura 9 - Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg L^{-1}) pelo DTPA 7,3 na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 33

Figura 10 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg L^{-1}) pelo DTPA 7,3 na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 33

Figura 11 - Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo $K_4P_2O_7$ na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 34

Figura 12 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg Kg^{-1}) pelo $K_4P_2O_7$ na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 34

Figura 13 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo NaOCl + DTPA na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 35

Figura 14 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo NaoCl + DTPA na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 35

Figura 15 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo HNO_3 + $HClO_4$ na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 36

Figura 16 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo HNO_3 + $HClO_4$ na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 36

Figura 17 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo HNO_3 + H_2O_2 na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 37

Figura 18 - Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo HNO_3 + H_2O_2 na turfa, casca de pinus e fibra de coco..... 37

Figura 19 - Relação entre a concentração e acúmulo na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 2,6 em todos os substratos..... 39

Figura 20 - Relação entre a concentração e acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg L^{-1}) pelo DTPA 2,6 para todos os substratos..... 39

Figura 21 - Relação entre a concentração e acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 7,3 para todos os substratos..... 40

Figura 22 - Relação entre a concentração e acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg L^{-1}) pelo DTPA 7,3 para todos os substratos..... 40

Figura 23 - Relação entre a concentração e acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo $K_4P_2O_7$ para todos os substratos..... 41

Figura 24 - Relação entre a concentração e acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo HNO_3 + H_2O_2 para todos os substratos..... 41

Figura 25 - Relação entre a concentração e acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo NaOCl + DTPA para todos os substratos..... 42

Figura 26 - Relação entre a concentração e acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo HNO_3 + $HClO_4$ para todos os substratos..... 42

PADUA JUNIOR, Alceu Linares. **Determinação da disponibilidade de cobre em substratos**. 2006. 52f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Pós-Graduação – IAC.

RESUMO

No Brasil, nos últimos anos, vem crescendo o cultivo de plantas em ambientes protegidos e semi-protegidos. Para melhorar a qualidade das plantas produzidas nestes ambientes é de fundamental importância à adoção de materiais inertes ou pouco alterados que exerçam a função de solo. Esses materiais são chamados de substratos para plantas e apresentam as mais variadas origens e composições, podendo ser naturais (orgânicos e minerais) ou sintéticos (lã de rocha e espumas diversas). No mercado brasileiro existe uma diversidade de substratos, fazendo com que esse material seja bastante complexo em termos de manejo de adubação. Dentre os problemas nutricionais, a falta ou o excesso de cobre (Cu) é um dos que mais têm afetado a produção de mudas, principalmente de hortaliças e de citros. Para avaliar a disponibilidade de Cu em substratos, vários métodos têm sido testados, mas, até o momento, nenhum foi eficiente. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi de selecionar métodos para determinar o Cu disponível em substrato. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, usando os substratos à base de fibra de coco, casca de pinus e turfa e a rúcula (Eruca sativa L.) como planta teste. Todos os substratos receberam cinco doses de cobre (0, 0,5, 1, 2 e 3 mg de Cu por dm-3 de substrato), usando como fonte o sulfato de cobre. Após a colheita da rúcula (60 dias), retirou-se uma amostra de substrato para extração de Cu usando os seguintes métodos: (DTPA 0,002 mol L-1 + CaCl2 0,01 mol L-1 pH a 2,6), DTPA 0,005 mol L-1 + trietanolamina (TEA 0,1 mol L-1 + CaCl2.2H2O 0,01 mol L-1 a pH 7,3), HNO3 0,02 mol L-1 + H2O2 a 30%, K4P2O7 a 0,1 mol L-1 e (NaOCl 5,3% a pH 8,5 + DTPA 0,025 mol L-1). As soluções ácidas apresentaram maior capacidade extrativa de Cu para todos os substratos testados. Houve efeito do pH da solução quelante na extração de Cu dos substratos. Os teores de Cu extraídos por cada método foram correlacionados com o Cu aplicado ao substrato. Na análise individual por substrato, somente houve ajuste para as equações de regressão nas plantas cultivadas com a fibra de coco, sendo os coeficientes de determinação elevados e significativos. Entretanto, na análise conjunta dos substratos, todos os métodos apresentaram valores elevados e significativos, mostrando que esses métodos poderão ser utilizados na avaliação da disponibilidade de Cu em substratos. Concluiu-se que o extrator HNO3+HClO4 foi o mais eficiente na extração do Cu nos substratos, independente do material testado, podendo ser utilizados em análises de rotina dos laboratórios.

Palavras chave: extratores, análise química e micronutriente.

PADUA JUNIOR, Alceu Linares. **Determination of copper availability in substrates**. 2006. 52f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Pós-Graduação – IAC.

ABSTRACT

During the last years, the cultivation of plants in safe and special areas has been growing in Brazil. To improve the quality of plants cultivated in these kinds of environments, it is necessary to use inert material that can perform the same function of the soil. These materials are called plant substrates and show diverse origins and compositions. They can be natural (organic and mineral) or synthetic (mineral wool and different foams). There are many kinds of substrates in the domestic market and because of this it is difficult to handle fertilization. One of the problems found is the excess or lack of copper (Cu) in the seedling produced, mainly in vegetables and citrus. Many methods have been tested to evaluate the quantity of Cu in substrates, but until this moment they have not shown efficiency. Therefore, the objective of this research was to select methods to determine the Cu available in substrates. The experience was performed in a green house. The substrate used was composed of coconut fiber, pinus shell and turf and rocket, as test plant. All substrates received five doses of Cu, (0, 0.5, 1, 2 and 3 mg Cu per dm3 of substrate), using the copper sulphate as base. After the rocket harvest (60 days) one substrate sample was used to extract the quantity of Cu. The following methods were used: (DTPA 0.002 mol L-1 + CaCl2 0.01 mol L-1 pH 2.6), DTPA 0.005 mol L-1 + triethanolamine (TED 0.1 mol L-1 + CaCl2.2H2O 0.01 mol L-1 pH 7.3), HNO3 0.02 mol L-1 + H2O2 30%, K4P2O7 0.1 mol L-1 and (NaOCl 5.3% pH 8.5 + DTPA 0.025 mol L-1). For all substrates tested the acid solution showed the best performance. There was pH effect of the chelating solution in the extraction of copper from the substrates. The Cu content extracted by each method was correlated with the respective Cu applied to the substrate. In the individual analysis per substrate, there were adjustments only for the regression equations of the plants cultivated with coconut fiber, the determination coefficients being high and significant. However, in the overall analyses of the substrates, all of them presented high and significant values, showing that these methods could be used in the evaluation of Cu availability in substrates. The conclusion was that the extractor HNO3 + HClO4 was the best solution to extract Cu of the substrates, regardless of the materials tested, and that they can be used in routine laboratory analyses.

Key words: extractor, chemical analyses and micronutrients.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a produção vegetal expandiu-se com o desenvolvimento da automação e modernização dos sistemas de cultivo em ambiente protegido, passando a trabalhar em escalas mais amplas para atender um mercado que vem crescendo significativamente (produção de mudas florestais, frutíferas, flores, dentre outras). A produção dessas mudas transformou-se em agronegócio rentável no Brasil e a indústria do substrato foi compelida a desenvolver produtos alinhados com as exigências das novas demandas.

No passado, ao preencher um recipiente com solo mineral, o produtor buscava um material que permitia fixação e que fornecesse nutrientes para a planta. Entretanto, devido a problemas relacionados à contaminação do solo por ervas daninhas, pragas e doenças, o solo vem sendo substituído por outros materiais que têm por finalidade fixar as plantas e oferecer condições físicas adequadas para o seu desenvolvimento. O substrato como fornecedor de nutrientes deixou de ser relevante, uma vez que os nutrientes podem ser fornecidos pela adubação.

De modo geral, resíduos agroindustriais vêm sendo progressivamente utilizados como substratos para as plantas, minimizando o impacto ambiental. Um exemplo positivo do uso do substrato em benefício do ambiente é o da indústria de processamento de coco verde e maduro. Neste sistema há uma produção significativa de resíduos sendo que as cascas de coco maduro são geralmente utilizadas como combustível de caldeiras. Além disso, fibras curtas e longas processadas das cascas podem ser usadas para a fabricação de substratos para as plantas (ROSA et al., 2001).

Atualmente, no Brasil, a utilização de pinus na indústria madeireira tem sido crescente. As estimativas indicam que do volume de madeira serrada produzida no País, está estimada em aproximadamente 18 milhões de m³, mais de 35% é formado de madeira de pinus. No Brasil, existem aproximadamente 1,8 milhão de hectares de plantações constituídas por espécies de pinus. Portanto, trata-se de uma espécie importante para o fornecimento de matéria-prima, especialmente nas regiões sul e sudeste do País (BALLARIN & PALMA, 2004). Resíduos do processamento mecânico da indústria madeireira recebem fortes limitações tecnológicas, econômicas e ambientais permanecendo sem utilização definida, sendo descartados ao final da produção (SALMERON, 1980) citados por (ULIANA & NOLASCO, 2006). São

considerados resíduos do processamento mecânico da madeira a casca, as pontas, as lascas, as partes desclassificadas, os nós, a serragem, e as peças descartadas no controle de qualidade (ULIANA & NOLASCO, 2006). Tradicionalmente, o manejo dos resíduos do processamento mecânico da madeira consiste na queima a céu aberto, na disposição sobre o solo em áreas adjacentes à indústria ou no descarte em cursos d'água. Estas formas de manejo são altamente impactantes, causando poluição do ar e das águas e aumentando o risco de incêndio (ULIANA & NOLASCO, 2006), o que torna cada vez mais importante à descoberta de formas racionais na utilização desses resíduos, sendo o substrato uma boa alternativa para a utilização desses materiais não prejudicando o meio ambiente.

No mercado brasileiro existe uma diversidade de substratos, principalmente no que se refere às características químicas e físicas e a sua origem, fazendo com que esses materiais sejam bastante complexos em termos de manejo de adubação. Na prática, problemas nutricionais, a falta ou o excesso de cobre (Cu) é um dos que mais tem afetado a produção de mudas, principalmente de hortaliças e de citros.

Para avaliar a disponibilidade de Cu em substratos, vários métodos têm sido testados. O procedimento que utiliza água, nas suas várias relações 1:1,5; 1:2; 1:2'; 1:5; 1:5' e 1:10 (substrato:água), não tem sido muito eficiente (ABREU et al., 2005). Neste procedimento de extração, geralmente os valores de Cu extraídos por esses métodos são muito baixos, próximos ao limite de detecção do aparelho. Além destes, existe a metodologia do percolato, muito utilizada em cultivos protegidos e semi-protegidos com plantas envasadas, para a determinação da condutividade elétrica, do pH e de alguns nutrientes (CAVINS et al. 2000). Consiste na adição de água limpa no vaso ou recipiente onde é colocado o substrato. O material recebe água até ficar saturado e logo após é deixado de repouso por uma hora. Em seguida é adicionado água desmineralizada até a quantidade que se obtenha 50 mL de solução lixiviada. Em seguida é feito a leitura da condutividade elétrica e do pH e dos nutrientes no percolado.

Recentemente, iniciaram as pesquisas usando reagentes já consagrados em extrair o Cu da fração orgânica dos solos, como o DTPA. Este é um aspecto importante porque a grande maioria dos substratos comerciais é de origem orgânica. Contudo, os resultados obtidos, até o momento, não são muito consistentes (SANTOS, 2005). Este autor, trabalhando com os extratores pasta saturada (ES), DTPA/$CaCl_2$ e o extrato aquoso 1:1,5 não obteve bons resultados na determinação do Cu em turfa, casca de pinus e fibra de coco. Portanto, torna-se necessário buscar métodos alternativos que

possam ser eficientes em avaliar a disponibilidade de Cu em substratos. Nesse contexto, a água oxigenada (H_2O_2) a 30% + ácido nítrico (HNO_3) (TESSIER et al., 1979), o pirofosfato de potássio ($K_4P_2O_7$) (BASCOMB, 1968) e o hipoclorito de sódio (NaOCl) a 5,8% pH 8,5 + DTPA 0,025mol L^{-1} (SHUMAN, 1983), comumente usados para determinar o Cu ligado à matéria orgânica do solo, poderão ser metodologias promissoras.

Objetivos:

a) avaliar métodos de extração que determinem o Cu disponível em substrato; e,

b) adaptar procedimentos utilizados para quantificar o Cu ligado à matéria orgânica de solos para a análise dos substratos.

Hipóteses:

a) Extratores quelantes são mais eficientes em determinar a disponibilidade de Cu.

b) Métodos utilizados para quantificar o Cu ligado à matéria orgânica dos solos são eficientes em avaliar o Cu disponível em substratos.

c) O método que emprega o ácido nítrico e perclórico tem maior capacidade extrativa de Cu dos substratos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Considerações Gerais

Atualmente, no Brasil, o cultivo em ambiente protegido e semi-protegido vem ganhando cada vez mais espaço, principalmente pela manipulação e melhor controle das condições abióticas (temperatura, índice de luminosidade, umidade, CO_2, dentre outras). Isso reflete em melhor qualidade do produto, tanto no aspecto nutricional como fitossanitário, agregando ao final do processo, maior valor de mercado e, como conseqüência, maior lucro. Geralmente, nesses ambientes, são cultivadas plantas frutíferas, medicinais, aromáticas, ornamentais, hortaliças e espécies florestais (BATAGLIA & FURLANI, 2004).

Em cultivo de plantas em ambiente protegido é comum a utilização de substratos. O termo substrato aplica-se a todo material sólido, distinto do solo, podendo ser natural,

sintético (espuma fenólica, lã de rocha), residual (esterco, bagaço de cana, fibras de algodão), mineral (perlita e vermiculita) ou orgânico (turfa, casca de árvores decompostas, fibra de coco). Esse material colocado em um recipiente em forma pura ou em mistura permite o desenvolvimento do sistema radicular, desempenhando, portanto, um papel de suporte para as plantas (ABAD & NOGUEIRA, 1998). Como características desejáveis, os substratos devem apresentar baixo custo, estar próximo às regiões de consumo, adequada aeração e retenção de água e relativa esterilidade biológica (KONDURU et al., 1999; BOOMAN, 2000; GONÇALVES et al., 2000).

No Brasil, em se tratando de substrato para plantas, a história oficial é curta e a evolução apresentada nos últimos anos tem sido muito rápida. A existência legal do produto no país teve início há poucos anos, com a assinatura do Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004. Entretanto, na prática, o uso de substratos iniciou-se bem antes do seu reconhecimento oficial (KAMPF, 2004).

Apesar da ausência de dados estatísticos sobre o volume total de substrato consumido anualmente no Brasil, é possível avaliar algumas das demandas atuais nos principais setores agrícolas que usam esse material. Destacam o fumo com o consumo estimado em 130 mil m^3/ano, segundo Afubra (Associação dos Fumicultores do Brasil, 2004/2005) e a silvicultura com uma demanda anual em torno de 125 mil m^3, para a formação inicial de mudas em tubetes.

Na seqüência, tem-se a fruticultura, com destaque especial para a formação inicial de mudas cítricas, onde desde 1999, a Secretaria de Agricultura e Abastecimento de São Paulo tem tomado atitudes rigorosas, editando normas legais que exigem a produção de mudas em recipientes e sob ambiente protegido. De acordo com dados fornecidos pela Fundecitrus (KAMPF, 2004) o consumo estimado de substrato pela citricultura está em torno de 100 mil m^3/ano, para o preenchimento de tubetes, potes e sacolas. Além desses setores, considera-se importante, as demandas referentes à produção de mudas de hortaliças e o setor de floricultura onde o substrato é um insumo indispensável na produção de mudas para o transplante e na produção e na manutenção de plantas envasadas (KAMPF, 2004).

A produção de substrato para o mercado da floricultura está em torno de 30 mil toneladas ou 60 mil m^3 mensais (BATAGLIA & FURLANI, 2004). Contudo, não se têm dados da quantidade de substrato utilizado para a produção de hortaliças e demais culturas que utilizam o substrato como meio de crescimento.

Na situação atual, a atenção dos usuários, dos fabricantes e dos técnicos se volta para a análise de toda a cadeia produtiva, colocando em foco a qualidade, a segurança na origem, o fornecimento dos componentes e o comportamento fitossanitário do substrato. Apesar do bom nível de conscientização profissional no país, não são raros os casos de contaminação microbiana e, ou fúngica ou disseminação de plantas invasoras. Em substratos comerciais a solução desses e de outros entraves similares faz parte de um conjunto de desafios que deverão ser enfrentados pelo setor, de forma organizada e sistemática.

2.2 Tipos de Substrato

O primeiro componente usado como substrato foi a terra, sendo utilizada, até hoje, especialmente em plantas perenes de grande porte. A areia e a serrapilheira foram usadas para o cultivo de bromélias epífitas em vasos, no final do século XIX de acordo com KAMPF (2004). Após a Segunda Guerra Mundial, na Europa, reiniciavam-se as pesquisas sobre o uso da turfa como meio de cultivo para plantas em vasos, interrompidas durante a guerra. Depois, outros materiais foram incorporados ao setor produtivo como a perlita na Espanha e a casca de árvores nos Estados Unidos e na Europa. No Brasil, os principais componentes do substrato são materiais de origem orgânica como turfa, casca de pinus e fibra de coco (BATAGLIA & FURLANI, 2004).

2.2.1 Turfa

É o termo aplicado para a matéria orgânica parcialmente decomposta, formada quase unicamente por restos de plantas, devido à saturação de água, à restrição de oxigênio, ou devido à baixa temperatura. Dependendo do clima, da hidrologia, da geomorfologia, da geologia glacial e dos níveis de nutrientes, diferentes tipos de turfa são desenvolvidos (SCHMILEWSKI, 1984).

Quanto ao grau de decomposição a turfa se divide em dois tipos: a) turfas pouco decompostas - materiais geralmente ácidos e com baixos teores de nutrientes e de salinidade, devido à excessiva lixiviação de minerais pelas constantes precipitações. Essas turfas possuem elevada porosidade e boa capacidade de aeração; b) turfas muito decompostas - são materiais mais escuros, menos estruturados que as turfas pouco decompostas, com um alto teor de sais e maior capacidade de aeração.

Após o término da Segunda Guerra Mundial, foram reiniciadas as pesquisas para o uso da turfa, que é até hoje, tida como o material básico para substratos. Entretanto, desde o final da década de 1970, seu uso tem sido discriminado em função do caráter conservacionista e ambiental. Por esta razão, a comunidade científica internacional e os produtores de substratos têm buscado componentes alternativos para a turfa, como exemplo a casca de pinus nos EUA e na Europa e a fibra de coco no Brasil, de acordo com KAMPF (2004).

As turfas destacam-se pela grande capacidade de retenção de água, sendo este o principal fator que determina sua adequação como substrato hortícola. Além disso, libera água em diferentes tensões, de forma relativamente homogênea, sendo esta uma característica vantajosa em cultivo, prevenindo o ressecamento abrupto, o que poderia causar injúrias por salinização.

Em relação as suas características químicas a turfa apresenta baixo valor de pH, principalmente as menos decompostas, entre 2,5 e 3,5 e baixo teor de nutrientes, tendo a necessidade de uma correção da acidez e complementação mineral para o adequado desenvolvimento das plantas (GAULAND, 1997). As turfas apresentam, ainda, boa capacidade de reter íons nas formas trocáveis, protegendo-os da lixiviação (JUNGK, 1975), alto teor de matéria orgânica e alto poder tampão (KAMPF, 1992).

2.2.2 Casca de Pinus

A casca externa do tronco de plantas de pinus é um resíduo da indústria madeireira que está sendo utilizada como substrato para plantas, após um período de moagem e compostagem. O tronco compõe-se de duas porções fundamentais, uma viva e externa, o alburno, outra morta e interna, o cerne. Do ponto de vista prático e comercial, porém, a madeira propriamente dita é apenas o cerne, muito mais procurado que o alburno, para os trabalhos de carpintaria e marcenaria, por sua resistência, durabilidade e beleza, contudo somente a casca do alburno é aproveitada como substrato para as plantas.

Essas cascas usadas como substrato são basicamente constituídas de: lignina, hemicelulose e celulose. Em menores concentrações ocorrem outras substâncias, como óleos, resinas, taninos, gorduras, corantes, glicídios, substâncias minerais e gomas.

Este material deve ser adequadamente compostado, antes de sua utilização como substrato, para evitar a imobilização de nitrogênio e a toxicidade de alguns elementos,

como o Mn (MARTINEZ, 2002). ABAD et al. (1993) observaram que a relação C/N ideal para os substratos com casca de pinus está na faixa de 20 a 40.

Com relação aos aspectos físicos, a casca é compostada e moída possuindo partículas dos mais variados tamanhos, boa drenagem, baixa capacidade de absorção de água. Segundo MARTINEZ (2002) o ideal é que 20 a 40% das partículas sejam inferiores a 8 mm.

No Brasil, a casca de pinus geralmente possui pH ácido e CTC elevada, com valores acima de 150 meq/100g e com baixo teor de nutrientes (sendo necessário suplementação mineral) (GONÇALVES, 1995). Entretanto, BATAGLIA & FURLANI (2004) relataram que o valor médio encontrado para a casca de pinus foi de 95 meq/100g . Em contrapartida, GAULAND (1997) citou que a casca de pinus do Rio Grande do Sul apresentou valores de pH próximo à neutralidade e baixos valores de CTC.

2.2.3 Fibra de Coco

É um material oriundo das indústrias do processamento do mesocarpo fibroso do coco denominado fibra de coco, existente principalmente em países de clima tropical de acordo com MARTINEZ (2002). O uso da fibra de coco é uma alternativa para minimizar os possíveis impactos ambientais provocados por resíduos sólidos. São materiais que apresentam salinidade variável, mas geralmente com excesso de cloreto, sódio e potássio, sendo necessária a lavagem para a retirada desses sais e sua posterior utilização (BOOMAN, 2000). A fibra de coco possui textura variada, favorecendo o equilíbrio entre o ar e a água. São materiais que possuem boa capacidade de retenção de água facilmente disponível e elevada capacidade de aeração. Estes materiais ainda apresentam outros pontos positivos como CTC de média a alta, baixa relação C/N (devido ao material apresentar altos teores de hemicelulose e lignina) e pH ácido (MARTINEZ, 2002) ou neutro a alcalino conforme BATAGLIA & FURLANI (2004). A fibra é considerada um bom substrato para as plantas e com excelentes características físicas para o bom desenvolvimento das raízes das plantas (VERDONCK, 1984).

2.2.4 Problemas com cobre para plantas cultivadas em substratos

A complexidade química e física dos diferentes substratos tem refletido na produção e na qualidade de mudas. BEZERRA et al. (2004), utilizando os substratos Plantmax® (a base de casca de pinus e vermiculita) e uma mistura composta por solo esterilizado, húmus de minhoca e pó de coco lavado (na proporção em v/v de 2:1:1), concluíram que o substrato Plantmax® apresentou as melhores condições de germinação das sementes e o melhor desenvolvimento das plântulas de moringa (*Moringa oleifera Lam*). CARRIJO et al. (2004) observaram que o substrato que proporcionou o maior peso médio dos frutos do tomateiro foi fibra de coco, suplementada com fertilizantes químicos. TRANI et al. (2004), utilizando os substratos Plantmax HA® (composto por casca de pinus compostada, turfa, carvão vegetal e vermiculita), Hortimix folhosas® (casca de pinus bioestabilizada, vermiculita e calcário dolomítico), Golden Mix 47® (fibra de coco de textura fina) e Vida Verde Tropstrato® hortaliças (casca de pinus compostada, turfa e carvão vegetal), concluíram que o substrato que apresentou o melhor desenvolvimento das plantas de alface foi o Plantmax®. Segundo BOSA et al. (2003) a mistura de componentes de origem orgânica e mineral na proporção de 2:1 beneficiaram o desenvolvimento de plantas ornamentais. Esses autores, trabalhando com os substratos casca de arroz carbonizada (CAC), horta (casca de pinus + turfa),jardim (casca de pinus + turfa), ornamental (casca de pinus + turfa + sílica), FE_1 (perlita + turfa) e FE_4 (casca de pinus + perlita + turfa), verificaram que o substrato FE_4 apresentou os melhores valores de pH, propriedades químicas, condutividade elétrica para o desenvolvimento e aclimatação de gipsofila.

O manejo da fertilização é uma prática que afeta em muito o rendimento e a qualidade da produção de mudas. Até recentemente, as pesquisas enfocando esse assunto foram concentradas aos macronutrientes. Com relação aos micronutrientes, muito pouco foi feito, apesar de serem comuns os desequilíbrios nutricionais causados, principalmente por Cu, para muitas culturas desenvolvidas em substrato. A toxicidade de Cu foi observada em petúnia desenvolvidas em substrato contendo turfa, onde a dose de 3 mg L^{-1} foi prejudicial às plantas (BUCHER & SCHENK, 2000). BOAVENTURA (2003), estudando a demanda por nutrientes de mudas cítricas produzidas em substratos, verificou que aos 250 dias após o transplante, o porta-enxerto limão cravo que recebeu fertirrigação havia acumulado 20% mais Cu em relação ao que recebeu fertilizante de liberação lenta; para o porta-enxerto citromelo “Swingle” o acúmulo de Cu via fertirrigação foi 37% superior quando comparado ao mesmo porta-enxerto sob

fertilizante de liberação lenta. MAIORANO (2003), avaliando o efeito da inoculação de micorrizas em substrato a base de fibra de coco 47, concluiu que as plantas de limão Cravo não micorrizadas apresentaram os maiores acúmulos de Cu na parte aérea. GRANGEIRO et al. (2003) utilizaram diferentes tratamentos de Cu com doses que variaram de 0 a 0,108 mg L^{-1} em rúcula cultivada em hidropônia. Esses autores observaram que na testemunha as plantas apresentaram sintomas de deficiência de Cu, os as folhas apresentaram formato de taça. Entretanto a rúcula não apresentou sintomas de toxicidade nas doses posteriores.

2.3. Interação Cobre e Matéria Orgânica

A disponibilidade de Cu é controlada por reações de adsorção e dessorção na superfície dos colóides orgânicos e inorgânicos (MCBRIDE, 1989). O principal componente dos substratos é formado de material orgânico e, portanto, este deve influenciar grandemente a disponibilidade de Cu. Como há uma escassez de trabalhos avaliando a dinâmica de Cu em substratos, a seguir serão descritas as interações do Cu com a matéria orgânica do solo, que em parte, são válidas para os substratos de origem orgânica.

O Cu interage com os constituintes orgânicos, formando complexos de esfera interna (adsorção específica) ou complexos de esfera externa (adsorção não específica). Na adsorção não específica, o Cu que está na superfície da matéria orgânica se mantém retido por forças eletrostáticas, onde o elemento não perde seu raio de hidratação. Além disso, a agitação térmica do Cu e sua exposição aos outros cátions da solução, que não estão sob influência do campo elétrico das partículas da matéria orgânica, podem ser trocados por estas. A adsorção não específica é um mecanismo de pequena influência na disponibilidade de Cu (SILVIERA & SOMMERS, 1977; LATTERELL et al., 1978). A ligação entre o Cu e a matéria orgânica pode ser vista como troca iônica entre H^+ de grupos funcionais e Cu.

Na adsorção específica o Cu perde sua água de hidratação podendo ser parcial ou total. Este tipo de ligação covalente depende significativamente do pH, sendo também uma ligação reversível e pouco afetada pela concentração iônica da solução envolvente. A diferença entre a adsorção específica e a adsorção não específica é a liberação de 2 H^+ para cada Cu adsorvido (FORBES et al., 1976). O alto grau de seletividade mostrado pelas substâncias húmicas por certos metais sugere que elas coordenam diretamente

com aqueles grupos funcionais, formando complexos de esfera interna. Uma seqüência típica de seletividade tende a ser, em ordem decrescente: Cu>Fe=Al>Mn=Co>Zn (ALLOWAY, 1995). A retenção do metal pode ser aumentada se ele formar com o material orgânico um complexo com alta afinidade pela superfície adsorvente e também pode não haver mudança perceptível se o ligante complexar fracamente o íon, e o complexo formado ter pouca afinidade com a superfície. Estudo clássico foi realizado por DAVIS (1984) sobre adsorção de Cu^{2+} no sistema contendo alumina e matéria orgânica natural. O comportamento do Cu^{2+} foi muito alterado no sistema com ou sem matéria orgânica.

Na adsorção ou complexação do Cu pela matéria orgânica é importante que se considere a constante de estabilidade dos complexos formados, pois essa fornece dados sobre a afinidade entre o Cu e o ligante e, conseqüentemente sobre o destino final do Cu no ambiente. A constante (K_t) é definida como a energia liberada durante a ligação Cu-ligante. É importante o uso da constante, pois, os ácidos húmicos de diferentes fontes variam quanto ao número de grupos funcionais e a sua massa molecular. Fatores estes que alteram a natureza e estabilidade do complexo formado.

O Cu tem sua solubilidade controlada por um conjunto de reações químicas que ocorrem no solo. Essas reações influenciam a partição do metal nas fases líquida e sólida do solo e são responsáveis pela sua mobilidade e biodisponibilidade no sistema. Vários fatores afetam as reações do Cu com a matéria orgânica destacando-se o pH. Esse tem efeito marcante na dissociação de radicais orgânicos, alterando desta forma o número de sítios de ligação. SCHNITZER & HANSEN (1970) calcularam a constante de estabilidade de complexos ácidos fúlvico-metal, encontrando valores um pouco mais altos a pH 5,0 em comparação com o pH 3,0, concluindo haver maior dissociação da carboxila a pH 5,0.

O Cu é um dos metais mais fortemente ligados à matéria orgânica, sendo adsorvido mais rapidamente. Contudo, o processo inverso da adsorção (dessorção) desse metal é mais lento, devido à alta energia de dissociação necessária para interromper a ligação Cu-ligante, fatores estes importantes para a disponibilidade do Cu para a planta (MCBRIDE, 1989).

2.4. Métodos Analíticos para Avaliar o Cobre Disponível em Substratos

O método usando o extrato da pasta de saturação é considerado a melhor forma para avaliar a disponibilidade de nutrientes em substratos, sendo usado como método de referência em estudos de comparação de métodos (SONNEVELD et al., 1974; ENDE, 1989; SONNEVELD et al., 1990). É o método preferencialmente utilizado nos Estados Unidos (ABREU et al., 2002). Segundo BUNT (1986) a maior vantagem desse método está no fato de quantificar os nutrientes prontamente disponíveis às plantas. Tal afirmação foi confirmada por SANTOS (2005), avaliando a disponibilidade de Cu para rúcula por meio da pasta de saturação e outras soluções aquosas em várias relações substrato:água. Entretanto, esse método possui baixa repetibilidade dos resultados, é bastante trabalhoso e demorado, não sendo adequado para rotina de acordo com BUNT (1986).

Na Europa é mais comum o uso da extração de macro e micronutrientes com água usando as relações substrato:água de 1:1,5, 1:2, 1:5 e 1:10. De acordo com JOHNSON (1980) os resultados não são afetados proporcionalmente às diluições. Quanto menores as diluições, mais próximos ficam os resultados daqueles obtidos com o extrato de saturação. Na Holanda, tem-se adotado baixas diluições (1:1,5) e a padronização da umidade inicial, submetendo as amostras a uma pressão constante de 0,1 kg cm^{-2} antes de se proceder à diluição das amostras (SONNEVELD et al., 1974; SONNEVELD, 1988). As soluções aquosas têm sido constantemente testadas em experimentos conduzidos no Brasil. ABREU et al. (2004a) testando extratores aquosos (1:1,5; 1:2; 1:5; 1:10; e a pasta de saturação) no substrato fibra de coco com adição de adubo mineral convencional e adubo de liberação lenta, em diferentes períodos de incubação, concluíram que somente o extrator 1:1,5 apresentou altos teores de Cu.

ABREU et al. (2005) avaliaram a capacidade extrativa de Cu em diferentes substratos de origem orgânica e inorgânica, usando os métodos 1:1,5; 1:2; 1:2' 1:5; 1:5' e 1:10 e a pasta de saturação. Esses autores verificaram que o método que apresentou melhor correlação com o extrato de saturação, considerado referência, foi o extrato aquoso de 1:2 (r = 0,89**). SANTOS (2005), avaliando os métodos extrato de saturação, 1:1,5 e DTPA/$CaCl_2$, verificou que o método 1:1,5 extraiu teores muito baixos de Cu, valores estes próximos aos limites de detecção do aparelho utilizado (Técnica ICP-OES, com limite de detecção de Cu 0,01 mg L^{-1}). De acordo com esses autores, a baixa extração de Cu deve-se, a formação de complexos estáveis do Cu com os ácidos fúlvicos e húmicos (STEVENSON, 1991).

O uso de quelante é outra opção de extração de Cu em substituição as soluções aquosas. De acordo com ABREU et al. (1997) o método mais eficiente para avaliar o Cu em solos é o DTPA pH 7,3, proposto por LINDSAY & NORVELL (1978). O agente quelante reage com o Cu em solução, formando complexos solúveis, o que resulta em redução da atividade do Cu livre em solução. A quantidade de Cu quelatizado que acumula na solução durante a extração é função das atividades desses íons livres em solução do solo (fator intensidade), da habilidade do solo em reabastecer a solução (fator capacidade), da estabilidade do quelato e da capacidade do quelante em competir com a matéria orgânica pelo Cu.

Os extratores quelantes tornaram-se uma opção para determinação de Cu em substratos porque a água tem baixa capacidade extrativa, não sendo eficiente para avaliar a disponibilidade desse elemento para as plantas. Os primeiros trabalhos utilizando este quelante foram fundamentados no método para solos, com a solução DTPA//TEA/$CaCl_2$, diferenciando apenas pela proporção de 1:5 substrato:solução. ALT & PETERS (1993) propuseram uma combinação entre DTPA e o cloreto de cálcio formando o método denominado "CAT", que contém DTPA 0,002 mol L^{-1} e $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}. Este método tem sido amplamente empregado para a avaliação da disponibilidade de Cu em substratos (HANDRECK, 1994), tendo sido adotado como método oficial pelo Comitê de Normatização Europeu (CEN, 2003). BUCHER & SCHENK (2000) verificaram que dentre os métodos testados, $CaCl_2$ 0,1 mol L^{-1} + DTPA 0,002 mol L^{-1}, água, $NH_4NO_3^-$ 1,0 mol L^{-1} e NH_4OAc 1,0 mol L^{-1}, o método "CAT" ($CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}+ DTPA 0,002 mol L^{-1}) foi o mais eficiente em avaliar a disponibilidade de Cu para petúnias crescidas em turfa. A correlação entre os teores de Cu em turfa, amostra fresca, com os teores de Cu na parte aérea de plantas de petúnia foi de 0,74**. Por outro lado, KREIJ et al. (1993) concluíram que os extratores a base de água, HNO_3 e DTPA foram bons em determinar a disponibilidade de Cu para a cultura do pepino (*Cucumis sativus*) e todos os extratores apresentaram correlações significativas, com valores de r variando de 0,87** a 0,89**, entre Cu-substrato e Cu-pepino. SANTOS (2005) verificou que o extrato de saturação foi o método mais eficiente em avaliar a disponibilidade de Cu para a rúcula crescida em diferentes substratos. Além do extrato de saturação, foram testados os métodos 1:1,5 e DTPA/$CaCl_2$ (método CAT).

SANTOS (2005), avaliando a disponibilidade de Cu para rúcula pelos métodos DTPA/$CaCl_2$, o extrato aquoso 1:1,5 e o extrato de saturação, verificou que somente

este último foi eficiente no substrato fibra de coco. Nesta situação, a relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do teor de Cu extraído pela pasta de saturação apresentou coeficiente de determinação elevado e significativo R^2=0,99**. Esse autor concluiu que, de maneira geral, considerando todos os substratos testados, nenhuma solução aquosa foi eficiente em avaliar a disponibilidade de Cu para as plantas. Contudo, foi sugerido pelo autor a inclusão de outros tipos de reagentes em estudos que visem encontrar um extrator que seja eficiente em avaliar a disponibilidade de Cu em substratos.

Além dos quelantes, existem as soluções ácidas cujo princípio de extração baseia-se na dissolução dos constituintes orgânicos e inorgânicos dos substratos. A quantidade de Cu solubilizada pelas soluções ácidas irá depender da concentração de ácido, do tempo de extração, da relação substrato:solução, do tipo de substrato, dentre outros. Até o momento, as soluções ácidas têm sido muito pouco testadas em substratos. A sua maior utilização está em amostras de plantas e de solos, sendo os ácidos mais comumente empregados o clorídrico, o nítrico e o perclórico.

Outro reagente bastante usado em solos para quantificar o Cu ligado à fração orgânica é o peróxido de hidrogênio (água oxigenada – H_2O_2) (ANDERSON, 1963; GUY et al.,1978; TESSIER et al.,1979). Esse reagente não tem sido testado para avaliar a disponibilidade de Cu em substratos, provavelmente pelo fato de que em amostras de solos com alto teor de carbono ocorre à formação de espuma, ocasionando perdas da amostra, dificultando a exatidão dos resultados.

Ficou claro que de acordo com a literatura pertinente ao assunto, as soluções aquosas não são tão eficientes em avaliar a disponibilidade de Cu em substratos para plantas. Portanto, torna-se importante, testar outros métodos tendo em sua composição quelantes ou ácidos. Neste contexto, sobressaem os métodos já utilizados para avaliar o Cu na fração orgânica de solos.

Em geral, a maioria dos trabalhos sobre extratores para determinação do Cu disponível em substratos é de origem européia ou norte americana, porém, o material utilizado no exterior é em sua grande maioria de origem mineral e sintética sendo praticamente inertes, ou seja, o substrato serve somente de suporte para a planta, já no Brasil os materiais de origem orgânica são predominantes ativos, sendo a CTC fator primordial para o suprimento de nutrientes para as plantas, tendo papel importante nas variações no meio de crescimento (BATAGLIA & FURLANI, 2004). Por isso, torna-se importante a definição de extratores que sejam eficientes em determinar o Cu disponível

dos substratos utilizados no Brasil, possibilitando um melhor diagnóstico nutricional com relação ao Cu para as plantas cultivadas neste meio.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação, localizada no Instituto Agronômico em Campinas-SP, nos meses de maio a julho do ano de 2005.

Como substratos foram utilizados a turfa, da empresa TURFA FÉRTIL (material com a granulometria de 4 mm), a casca de pinus, da empresa MECPREC (material com granulometria de <5 mm), e a fibra de coco, da empresa AMAFIBRA (material com granulometria <8 mm), sendo todos os materiais indicados para hortaliças. A acidez desses materiais foi corrigida na própria fábrica e apresentava pH em água de 5,2 (turfa) e 5,6 (fibra de coco). Entretanto, para a casca de pinus que estava com o pH em água de 3,8 foi necessário adicionar 180 g de calcário dolomítico por tratamento utilizado (18 L de substrato), elevando o pH do substrato para 5,7. O calcário foi bem misturado à casca de pinus e ficou reagindo por um período de 15 dias.

Em cada material determinou-se a densidade úmida (amostra nas condições de casa de vegetação utilizadas nos vasos) e a densidade seca a 65ºC para fins analíticos.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 3 X 5, com 4 repetições. Os tratamentos constituíram de três substratos (turfa, pinus e fibra) e cinco doses de Cu: 0; 0,5; 1,0; 2,0 e 3,0 mg Cu dm^{-3} de substrato, usando como fonte o sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4.5H_2O$) p.a, aplicado na forma de solução e homogeneizado com o substrato. Esta solução foi produzida pela mistura do $CuSO_4.5H_2O$ na quantidade proporcional a cada dose, e mais 3 litros de água deionizada para cada tratamento com 18 L de substrato . A solução foi bem incorporada ao substrato procurando deixar a mistura (material + solução), a mais homogênea possível. Os substratos permaneceram incubados por 40 dias. Considerou-se ideal a umidade próxima à saturação cujo ajuste foi feito de maneira visual. O teor de umidade ideal foi aquele em que com um leve aperto na mão a água escorria entre os dedos. Entretanto, quando a rúcula foi plantada o teor de umidade foi mantido por pesagem diária dos vasos.

Decorridos esse período, fez-se à adubação básica contendo macro e micronutrientes, com exceção do Cu. As seguintes doses, em mg dm^{-3}, foram aplicadas: 28,64 mg N (KNO_3); 80 mg K (KNO_3); 2,0 mg Zn ($ZnSO_4$); 0,4 mg B (H_3BO_3); 2,0 mg Mn ($MnCl_2$); 1,0 mg Fe [$Fe(NH_4)_2$ $(SO_4)_2$. $6H_2O$)] (ANGÊLO, comunicação pessoal). Esses nutrientes foram aplicados, na forma de solução, 50 mL, e homogeneizados com os substratos. Como fonte de fósforo foi adicionado o superfosfato simples (250 mg P dm^{-3}), passado em peneira com abertura de 2 mm. O enxofre foi adicionado via sulfato de manganês e sulfato de zinco (2,9 mg S) e superfosfato simples (381 mg de S dm^{-3}). O substrato adubado foi incubado por uma semana, mantendo-se o teor de água de maneira semelhante ao utilizado na incubação com Cu.

Como planta teste utilizou-se a rúcula (*Eruca sativa* L.), cultivar cultivada, sendo dispostas 60 sementes por vaso com capacidade de 3 litros. Após 15 dias do plantio, fez-se o desbaste deixando-se 20 plantas por vaso. Nesta fase, as plantas demonstraram crescimento bastante insatisfatório, o que levou a aplicação de uma solução de NH_4NO_3 contendo 22,25; 19,61 e 15,97 mg N dm^{-3}, respectivamente para os substratos turfa, pinus e fibra de coco. Além disso, durante todo o ensaio, em intervalos de 4 dias, aplicou-se uma solução nutritiva de acordo com FURLANI et al. (1999). Nas três primeiras aplicações foram fornecidos somente os macronutrientes e nas outras aplicações macro e micronutrientes (menos cobre) (Tabela 1).

As quantidades aplicadas dos elementos na solução nutritiva foram diferentes entre os substratos por causa da densidade de cada um deles.

A irrigação dos vasos foi feita por meio de pesagem diária desses adicionando-se ou não água desmineralizada conforme o peso a ser atingido, que vaiou de acordo com o substrato. Após um mês do desenvolvimento da rúcula foi acrescentado 10% a mais do volume de água, devido aos gastos mais elevados de evapotranspiração da planta.

Algumas aplicações de inseticida natural *Neem (Azadirachta indica* L.*)* foram feitas para controle de lagartas de folha e pulgões.

Sessenta dias após o plantio realizou-se a colheita da parte aérea (corte rente à superfície do substrato) que foi lavada com água corrente + 4 gotas de detergente (solução bem diluída), depois água corrente e por último com água deionizada, e seca em estufa a 65ºC com circulação de ar, até atingir massa constante, segundo BATAGLIA et al. (1983). Em seguida, as plantas foram pesadas e trituradas em moinho tipo *Wiley* e submetida à digestão via seca conforme ABREU et al. (1997). Nos

extratos, foram feitas determinações dos elementos por espectrometria de emissão por plasma ICP-OES, exceto o K que foi por fotometria de emissão por chama.

Após a separação das raízes coletou-se uma amostra de substrato de cada vaso para determinação do Cu disponível.

Tabela 1 - Quantidade de nutrientes aplicados durante o ensaio, via solução nutritiva.

N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Mn	B	Mo
----------mg dm^{-3} substrato----------										
Turfa										
79,30	21,60	114,30	167,40	80,00	106,90	1,63	0,07	0,28	0,22	0,04
Casca de Pinus										
70,00	19,00	100,80	147,70	70,60	94,39	1,44	0,06	0,24	0,20	0,03
Fibra de Coco										
57,00	15,50	82,20	120,30	57,50	76,80	1,17	0,05	0,20	0,16	0,03

Para a determinação do Cu pelos métodos DTPA 2,6 e DTPA 7,3 a amostra utilizada foi nas condições de casa de vegetação, isto é não sofreram nenhuma tratamento prévio. Para os demais métodos foi necessário secar as amostras de substrato a 65ºC e moer, devido à pequena quantidade de amostra utilizada.

Com base nessas informações foram utilizados os seguintes procedimentos:

- **DTPA/$CaCl_2$ pH 2,60 (CAT)** de acordo com por ALT & PETERS (1993) e recomendada pelo Comitê Europeu de Normatização (CEN, 2003) para determinação de macronutrientes e micronutrientes. A extração foi feita usando a proporção 1:5 (v/v) substrato:solução, onde foram misturados 60 cm^3 de substrato (volume determinado em massa de acordo com a densidade calculada) com 300 mL de solução extratora de DTPA 0,002 mol $L^{-1}CaCl_2$ + 0,01 mol L^{-1} pH 2,6, a suspensão foi agitada por uma hora em agitador horizontal de 220 rpm e posterior filtragem com papel de filtro de filtragem lenta (faixa azul).

- **DTPA/TEA/$CaCl_2$ 7,3**, método utilizado para determinação de micronutrientes no solo (LINDSAY & NORVELL, 1978). A extração foi na proporção 1:2 substrato:solução. Em 50 cm^3 de substrato (volume determinado em massa de acordo com a densidade calculada) foram adicionados 100 mL da solução (DTPA 0,005 mol L^{-1} + trietanolamina 0,1 mol L^{-1}+ $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}, pH 7,3). A suspensão foi agitada por duas horas em agitador horizontal a 220 rpm seguindo-se de filtragem.

- Pirofosfato de Potássio - $K_4P_2O_7$, procedimento adaptado do proposto por BASCOMB (1968) para determinação de Cu ligado à matéria orgânica do solo em esquema de fracionamento. Partiu-se de uma amostra de 300 g de substrato com umidade nas condições de casa de vegetação, sendo esta amostra colocada em estufa de circulação forçada a 65ºC por 48 horas e moída em moinho do tipo *Wiley* (para facilitar a pesagem), sendo a alíquota de amostra necessária para analisar o Cu de 1,000 g. Essa amostra (1,000g) foi colocada em frascos onde foi adicionados 100 mL de $K_4P_2O_7$ 0,1 mol L^{-1}. Os frascos foram postos para agitar, por 16 horas, em agitador horizontal de 200 rpm. Para obtenção de um filtrado límpido, o pH do extrato foi corrigido para 1,5 usando o ácido clorídrico concentrado na quantidade de 1,5 mL por amostra.

- Ácido Nítrico e Água Oxigenada - HNO_3/H_2O_2 – método adaptado de TESSIER et al. (1979) para determinação de Cu ligado à matéria orgânica do solo, em esquemas de fracionamentos. Partiu-se de uma amostra de 300 g de substrato com umidade nas condições de casa de vegetação, sendo esta amostra colocada em estufa de circulação forçada a 65ºC por 48 horas e moída em moinho do tipo *Wiley* (para facilitar a pesagem), sendo a alíquota de amostra necessária para analisar o Cu foi de 1,000 g. A amostra (1,000 g) sofreu digestão com 3 mL de HNO_3 0,02 mol L^{-1} + 5 mL de H_2O_2, a pH 2,0. As amostras + solução foram aquecidas a 85 $^oC \pm 2$ ^oC por 2 horas, agitando-se ocasionalmente. O processo foi repetido por 3 vezes até que a completa queima da matéria orgânica. Depois a solução foi filtrada e completada o volume para 20 mL, usando-se água deionizada.

- Ácido Nítrico e Perclórico - $HNO_3/HClO_4$ - de acordo com ABREU et al (2004c). Em tubos de ensaio contendo 0,500 g de amostra seca e moída foram acrescentados 5 mL de HNO_3 e 1 mL de $HClO_4$. Esses tubos foram colocados em bloco digestor sendo aquecidos até a temperatura de 210ºC. A digestão da amostra foi finalizada quando a solução ficou límpida e cessou a formação de fumos brancos. Depois a solução foi filtrada e completada o volume para 50 mL, usando-se água deionizada, seguida de filtragem.

Hipoclorito de Sódio – NaOCl/DTPA - procedimento adaptado de SHUMAN (1983) para a remoção de micronutrientes ligados à matéria orgânica do solo. Partiu-se de uma amostra de 300 g de substrato com umidade nas condições de casa de vegetação, sendo esta amostra colocada em estufa de circulação forçada a 65ºC por 48 horas e moída em moinho do tipo *Wiley* (para facilitar a pesagem), sendo a alíquota de amostra necessária para analisar o Cu de 1,000 g. Nessa amostra (1,000 g) adicionou-se 20 mL de NaOCl

5,3%, pH 8,5, deixando a solução em banho Maria por 30 minutos, agitando ocasionalmente. Aos 25 minutos (5 antes de terminar o banho Maria) adicionaram-se 5 mL de DTPA 0,025 mol L^{-1}. Decorridos os 30 minutos a solução foi centrifugada por 20 minutos com posterior filtragem.

Os teores extraídos pelos métodos DTPA 2,6 e DTPA 7,3 foram calculados em volume e em massa conforme os demais métodos para facilitar os cálculos.

Em todos os extratos a concentração de Cu foi determinada usando a espectrometria de emissão por plasma (ICP-OES) no comprimento de onda de 324,754 nm.

Para a determinação da densidade úmida utilizou-se uma proveta de plástico de 500 mL que foi pesada vazia, e depois, com o substrato que foi adicionado até a marca de 300 mL. A umidade do substrato foi a mesma da utilizada no cultivo da rúcula. Depois o material foi submetido à queda livre por 10 vezes, de uma altura de aproximadamente 10 cm, obtendo-se alteração de seu volume final, este procedimento foi repetido três vezes.

A densidade úmida foi obtida pela fórmula: $(M_1 - M_0) / V_1$

onde: M_0 é a massa da proveta vazia, em gramas; M_1 é a massa da proveta com o substrato, em gramas; e V_1 é o volume final da proveta (mL) após as quedas.

Para se calcular a densidade seca, os mesmos 300 mL de amostra úmida coletada na proveta foram transferidos para vidros que ficaram na estufa de circulação forçada de ar a 65ºC por 48 horas. Depois o material foi pesado e aplicado seus valores na seguinte fórmula:

Densidade seca = (Densidade Úmida x % material sólido) / 100.

Onde, densidade úmida obtida pela fórmula $(M_1 - M_0) / V_1$, e % do material seco refere-se a percentagem do material seco se comparado com o material úmido.

Os resultados foram submetidos à análise conjunta para todos os materiais em função das doses de Cu aplicada e individual por substrato em função das doses de Cu aplicadas, utilizando o *software* SAS v.6.11 (SAS, 1996). Nas análises de regressão linear ou polinomial, escolheu o modelo de maior significância (*p<0,05 ou **p<0,01).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Cobre na Planta

Tanto a concentração de Cu como o seu acúmulo, na parte aérea das plantas de rúcula, variaram conforme o substrato utilizado (Tabela 2). Os valores de Cu na parte aérea apresentaram-se similares, variando de 4 a 9 mg kg^{-1}, quando as plantas foram cultivadas em turfa e em casca de pinus, Estes valores estão dentro da faixa de teores encontrados que é de 5 a 12 mg kg^{-1} segundo FURLANI (1997). Comparando esses resultados com os obtidos por SANTOS (2005), verifica-se que eles foram maiores. Aos 45 dias após o transplantio da rúcula, SANTOS (2005) encontrou concentrações de Cu na parte aérea que variaram de 2,8 a 3,7 mg kg^{-1} quando a rúcula foi cultivada em casca de pinus e de 3,2 a 4,4 mg kg^{-1} na turfa. Quando as plantas foram crescidas no substrato fibra de coco, os valores obtidos foram superiores aos encontrados para a cultura, variando de 12,4 mg kg^{-1} no tratamento testemunha a 17,6 mg kg^{-1} pela aplicação de 3,0 mg Cu dm^{-3} (Tabela 2). A diferença no teor de Cu da parte aérea da rúcula, em função do tipo de substrato, pode estar relacionada aos processos de adsorção de Cu em substratos. Provavelmente, na casca de pinus e na turfa, o Cu esteja mais fortemente ligado aos complexos da matéria orgânica, tornando-o menos disponível (STEVENSON, 1991).

O único sintoma visual observado foi uma clorose nas folhas mais novas, aos 15 dias antes da colheita da parte aérea em plantas cultivadas na fibra de coco que recebeu 2 ou 3 mg Cu dm^{-3}, indicando toxicidade de Cu, de acordo com MARSCHNER (1995). Contudo, esse sintoma provocou queda na produção de massa seca nas plantas cultivadas nos substratos fibra de coco (Tabela 2).

Com relação à concentração de Cu e o seu acúmulo na parte aérea da rúcula em função das doses aplicadas, houve efeito significativo somente para a fibra de coco (Figuras 1 e 2).

O melhor ajuste entre essas variáveis foi o linear crescente com um coeficiente de determinação de 0,95** e 0,89**, para a concentração e o Cu acumulado na parte aérea da rúcula, respectivamente (Figuras 1 e 2). Estes resultados indicam que plantas de rúcula cultivadas no substrato fibra de coco responderam as doses aplicadas de Cu de

forma crescente. Por outro lado, não foi obtido nenhum ajuste significativo para essas variáveis quando o substrato usado foi à casca de pinus e a turfa (Figuras 1 e 2).

Tabela 2 – Concentração de cobre na planta (mg kg^{-1}), cobre acumulado na parte aérea da rúcula (mg $vaso^{-1}$) e massa seca total em função das doses de cobre aplicadas nos substratos turfa, casca de pinus e fibra de coco.

Doses de Cu mg dm^{-3}	Turfa	Casca de Pinus	Fibra de Coco
	Concentração de Cu, mg kg^{-1}		
0	7,70B	6,46B	12,35A
0,5	4,32C	6,15B	14,06A
1	4,36C	9,24B	14,58A
2	5,25B	6,58B	15,48A
3	5,85B	6,89B	17,60A
	Cu acumulado, mg $vaso^{-1}$		
0	24,52B	22,09B	60,08A
0,5	17,31C	24,59B	67,53A
1	20,63C	36,06B	74,36A
2	21,85B	26,13B	75,80A
3	22,18B	27,25B	84,48A
	Massa Seca Total, g $vaso^{-1}$		
0	3,19	3,42	4,87
0,5	4,00	3,99	4,81
1	4,3	3,90	5,10
2	4,16	3,97	4,90
3	3,79	3,95	4,80

Para cada dose de cobre e características avaliadas, médias seguidas de letras diferentes indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey.

Provavelmente, estes resultados estão relacionados à fraca ligação do Cu aos componentes orgânicos da fibra de coco tornando-o mais disponível em solução, o que resulta maior absorção pela rúcula.

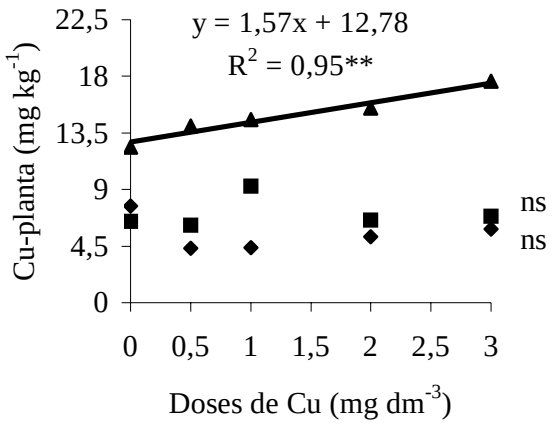

Figura 1 – Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula e o Cu aplicado (mg dm^{-3}) na turfa (◆), casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

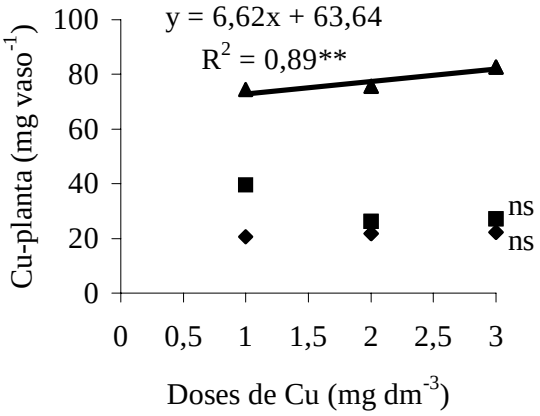

Figura 2 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula e o Cu aplicado (mg dm^{-3}) na turfa (◆), casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

4.2 Extração de Cobre pelos Diferentes Métodos

Na análise de variância, a extração de Cu foi altamente significativa pelo teste F para as causas de variação: tipo de substrato, dose de Cu e para a interação substrato vs.

dose de Cu (Tabela 3). Entretanto, fazendo a análise individual por substrato, verificou-se que a extração de Cu na fibra de coco foi altamente significativa para todos os métodos (Tabela 4). Na casca de pinus somente a extração de Cu pelo método $K_4P_2O_7$ não foi significativa, dados também observados na turfa para as extrações com $K_4P_2O_7$ e o DTPA 2,6 (Tabela 4).

Tabela 3 – Análise de variância da extração de Cu pelos diferentes métodos químicos em função do tipo de substrato e das doses de Cu utilizadas.

Análise Conjunta						
Causa da variação	DTPA 2,6	DTPA 7,3	$K_4P_2O_7$	$HNO_3+H_2O_2$	NaOCl+DTPA	HNO_3+HClO_4
Substrato	**	**	**	**	**	**
Dose	**	**	**	**	**	**
Dose x Substrato	**	**	**	**	**	**
Probabilidade	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

** altamente significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4 – Análise de variância do Cu extraído em função da dose de Cu aplicado dentro de cada substrato

Causa da variação	DTPA 2,6	DTPA 7,3	$K_4P_2O_7$	$HNO_3+H_2O_2$	NaOCl+DTPA	HNO_3+HClO_4
Fibra de Coco						
Dose	**	**	**	**	**	**
Substrato x Dose	**	**	**	**	**	**
Probabilidade	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Casca de Pinus						
Dose	**	**	ns	**	**	**
Substrato x Dose	**	**	ns	**	**	**
Probabilidade	<0,01	<0,01	0,45 ns	<0,01	<0,01	<0,01
Turfa						
Dose	ns	**	ns	**	**	**
Substrato x Dose	ns	**	ns	**	**	**
Probabilidade	0,06 ns	<0,01	0,14 ns	<0,01	<0,01	<0,01

** altamente significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Houve grande variabilidade nos teores de Cu extraídos pelos diferentes métodos empregados, independentemente do substrato (Tabela 5). Observou-se a seguinte ordem decrescente de extração: $HNO_3 + H_2O_2 > HNO_3 + HClO_4 >$ NaOCl + DTPA > DTPA 7,3 > DTPA 2,6 > $K_4P_2O_7$ para a turfa; $HNO_3 + H_2O_2 > HNO_3 + HClO_4 >$ NaOCl +

DTPA > $K_4P_2O_7$ > DTPA 2,6 > DTPA 7,3 para a casca de pinus; $HNO_3 + H_2O_2$ > NaOCl + DTPA > $HNO_3 + HClO_4$ > $K_4P_2O_7$ > DTPA 7,3 > DTPA 2,6 para a fibra de coco. Essa seqüência de extração era esperada, uma vez que o ácido nítrico e o perclórico são agentes oxidantes muito fortes - oxidam a matéria orgânica, liberando o Cu ligado aos compostos orgânicos.

O quelante DTPA deve ter extraído somente o Cu complexado com a matéria orgânica (HAO et al., 1980; HADDAD & EVANS, 1993). Torna-se importante mencionar que o Cu forma complexos com a matéria orgânica, apresentando diferentes constantes de estabilidade, afetando o destino final desse elemento no ambiente. A constante (K_t) é definida como a energia liberada durante a ligação Cu-ligante. Os ácidos húmicos de diferentes fontes variam quanto ao número de grupos funcionais e a sua massa molecular, fatores esses que alteram a natureza e estabilidade do complexo formado, bem como a extração e disponibilidade de Cu para as plantas. Contudo, o DTPA 7,3 extraiu mais Cu que o DTPA 2,6 na turfa e na fibra de coco. Tais resultados podem ser justificados pela alta estabilidade do complexo DTPA-Cu, formado acima de pH 7,0 (TISDALE et al., 1985). De acordo com NORVELL (1991), a estabilidade do quelante com o Cu é praticamente nula em meio ácido, devido à competição com o Fe, justificando a menor concentração de Cu extraída pelo DTPA 2,6.

HAYNES & SWIFT (1985), comparando a capacidade extrativa dos extratores ($CaCl_2$ 0,05 mol L^{-1}, HCl 0,1 mol L^{-1}, DTPA 0,005 mol L^{-1} e EDTA 0,04 mol L^{-1}) em função da mudança de pH, no substrato turfa cultivada com mirtilo azul (*Vaccinium corymbosum L cv. Blueray*), concluíram que o DTPA 0,005 mol L^{-1} teve comportamento semelhante ao HCl 0,1 mol L^{-1}. Já o EDTA 0,04 mol L^{-1} apresentou valores de extração superiores ao $CaCl_2$ 0,05 mol L^{-1}. ALT & PETERS (1993) compararam as vantagens e desvantagens do DTPA 2,6 em relação aos métodos $CaCl_2$, DTPA + $CaCl_2$ pH 7,3 e NH_4OAc na mistura turfa + argila. Eles observaram que o DTPA 2,6 obteve a melhor capacidade de extração de Cu que o acetato de amônio. Com relação ao DTPA 7,3 nenhuma desvantagem foi observada, mas também nenhum fator positivo foi mencionado para o Cu. Contudo, NARWAL & SINGH (1998) observaram uma relação inversa entre a adição de matéria orgânica (turfa) aos solos e o teor de Cu extraído pelo DTPA.

Outro fator que chama atenção, são os maiores valores obtidos pelos métodos NaOCl + DTPA, $HNO_3 + H_2O_2$ e $HNO_3 + HClO_4$, principalmente na fibra de coco. O $HNO_3 + HClO_4$ é o método atualmente adotado por alguns laboratórios no Brasil para a

determinação do Cu e de outros micronutrientes em substratos. ABREU et al. (2004c) comparando a extração do HNO_3 + $HClO_4$ e do ácido nítrico (em sistema fechado com forno de microondas), em substratos de origem orgânica e inorgânica, concluíram que o extrator HNO_3 + $HClO_4$ extraiu 26% a mais de Cu que o método de digestão em sistema fechado. Contudo, os resultados obtidos neste presente trabalho pelo NaOCl + DTPA, HNO_3 + H_2O_2 e HNO_3 + $HClO_4$, podem ser justificados, em parte, pela densidade do substrato. A turfa, a casca de pinus e a fibra de coco apresentaram, os seguintes valores de densidade seca: 0.440, 0.340 e 0.110 kg m^{-3} respectivamente e para densidade úmida 1.090, 0.980 e 0.640 para a turfa, para a casca de pinus e para a fibra de coco. Quanto menor a densidade maior o volume de amostra utilizado, podendo resultar em maior extração de Cu, pelo extrator na fibra de coco.

Tabela 5 – Teor de Cu extraído dos substratos (mg kg^{-1}), em função das doses de cobre aplicadas nos substratos turfa, casca de pinus e fibra de coco.

Dose de Cu mg dm^{-3}	DTPA 2,6	DTPA 7,3	$K_4P_2O_7$	HNO_3+H_2O_2	NaOCl+DTPA	HNO_3+$HClO_4$
			Turfa, mg kg^{-1}			
0	0,61c	0,51c	0,06c	6,66a	4,10b	5,48ab
0,5	0,68c	0,66c	0,06c	8,86a	4,80b	7,77a
1,0	0,78d	0,70d	0,54d	10,87a	5,70c	8,52b
2,0	0,77d	0,88d	0,03d	14,90a	8,10c	11,59b
3,0	0,95d	1,36d	1,03d	18,83b	9,70c	14,57a
Média	0,76d	0,82d	0,34d	12,02a	6,48c	9,59b
			Casca de Pinus, mg kg^{-1}			
0	0,47c	0,43c	2,48c	11,93a	8,27b	10,38ab
0,5	0,69c	0,59c	3,25c	16,25a	9,75b	11,72b
1,0	0,83c	0,71c	2,88c	18,25a	12,85b	14,60b
2,0	1,22b	1,09b	3,00b	19,65a	17,25a	19,08a
3,0	1,58b	1,40b	3,22b	21,02a	21,80a	23,03a
Média	0,96e	0,84e	2,97d	17,42a	13,98c	15,76b
			Fibra de Coco, mg kg^{-1}			
0	1,31c	1,77c	4,60c	27,35a	20,35b	17,97b
0,5	1,66d	2,29d	4,83d	34,30a	25,10b	19,44c
1,0	2,09e	2,87e	6,90d	44,65a	34,00b	27,03c
2,0	2,87e	4,13de	7,13d	63,35a	43,85b	30,89c
3,0	3,88e	5,28e	9,45d	76,00a	58,60b	39,87c
Média	2,36e	3,27e	6,58d	49,13a	36,38b	27,04c

Letras iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

O comportamento dos extratores em função da dose de Cu aplicada foi muito variável, independentemente do substrato utilizado. Torna-se interessante ressaltar que em geral, as equações de regressão foram lineares crescentes e quadráticas decrescentes (Tabela 6), Os coeficientes de determinação foram bem elevados para a relação entre o Cu extraído pelo método e o Cu aplicado, indicando que os métodos foram eficientes em detectar o Cu aplicado ao solo (Tabela 6).

Para a turfa e a fibra de coco, os ajustes obtidos foram lineares para todos os métodos testados (Tabela 6), demonstrando que quanto maior a dose de Cu aplicada no substrato maior foi o teor extraído pelo método. Na casca de pinus, o ajuste foi quadrático decrescente para o método HNO_3+H_2O_2, indicando uma diminuição na extração de Cu com o aumento da dose aplicada. Quando foi utilizado o $K_4P_2O_7$ não se obteve coeficiente de determinação significativo entre a dose de Cu aplicada e o Cu extraído da casca de pinus (Tabela 6). Os outros métodos testados na casca de pinus apresentaram ajustes lineares significativos com elevados valores de R^2 (Tabela 6).

Resultados similares foram obtidos quando os dados da dose aplicada foram expressos em volume, mg dm^{-3} (Tabela 6).

De maneira geral, os coeficientes de correlação entre os teores de Cu extraídos pelas diferentes soluções foram altos e significativos (Tabela 7). Alto coeficiente de correlação significa que os extratores apresentam comportamentos similares. Destacam-se, os valores obtidos pela correlação entre o NaOCl + DTPA e o HNO_3 + $HClO_4$, altamente significativos e superiores a 0,92**, independente do material utilizado. As correlações no substrato fibra de coco foram altamente significativas ($P<0,01$) para todos os métodos, demonstrando maior semelhança entre o comportamento dos extratores para este material com o valor de r entre 0,80** e 0,98** (Tabela 7). Na casca de pinus, todas as correlações entre o $K_4P_2O_7$ e os demais métodos não foram significativas, demonstrando que o método possui comportamento distinto dos demais extratores. Na turfa, somente a correlação entre o $K_4P_2O_7$ e o HNO_3 + $HClO_4$ não foi significativa. Nos demais casos, os valores de r foram altos e altamente significativos ($P<0,01$), com exceção para as correlações entre o $K_4P_2O_7$, o HNO_3 + H_2O_2, o $K_4P_2O_7$ e o NaOCl + DTPA que apresentaram baixos valores de r, porém significativos a 5% (Tabela 7).

Os teores de Cu extraídos pelos métodos DTPA 2,6 e 7,3, expressos em massa, foram correlacionados significativamente com aqueles extraídos pelos mesmos métodos, expressos em volume (Figura 7). Contudo, na casca de pinus as correlações

entre o Cu- DTPA 2,6 e 7,3 (teores expressos em volume) com o Cu- $K_4P_2O_7$ foram baixas e não significativas. SONNEVELD & DE KREIJ (1995), estudando a eficiência dos extratores água, $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}, NH_4OAc 0,5mol L^{-1}, DTPA 0,002 mol L^{-1} e DTPA 0,002 mol L^{-1} + $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1} em extrair Cu no substrato turfa, observaram que o método que melhor se correlacionou com o DTPA foi o método DTPA 2,6 com (r = 0,84**).

Tabela 6 - Equações de regressão para o Cu extraído dos substratos pelos diferentes métodos em função do Cu aplicado onde: y é o Cu extraído do substrato (mg kg^{-1}) com exceção do DTPA 2,6 e 7,3 que apresentaram valores expressos em volume (mg dm^{-3}) e massa (mg kg^{-1}), e x é a dose de Cu aplicado, em (mg kg^{-1}) e (mg dm^{-3}), respectivamente.

Métodos	Equação (Dados em mg kg^{-1})	R^2	Equação (Dados em mg dm^{-3})	R^2
		Turfa		
DTPA 2,6	y = 0,0436x + 0,6411	0,89**	y = 0,0991x + 0,6411	0,89**
DTPA 2,6 (v/v)	$y = 0,0073x^2 - 0,0072x + 0,7186$	0,96**	$y = 0,0375x^2 - 0,0165x + 0,7186$	0,96**
DTPA 7,3	y = 0,1448x + 0,4796	0,93**	y = 0,2633x + 0,4797	0,93**
DTPA 7,3 (v/v)	y = 0,1562x + 0,5227	0,92**	y = 0,284x + 0,5228	0,92**
$K_4P_2O_7$	y = 0,11x + 0,8149	0,97**	y = 0,25x + 0,815	0,97**
NaOCl + DTPA	y = 0,8555x + 3,9512	0,99**	y = 1,9448x + 3,9517	0,99**
$HNO_3 + H_2O_2$	y = 1,7127x + 6,8611	0,99**	y = 3,8938x + 6,8621	0,99**
$HNO_3 + HClO_4$	y = 1,1671x + 5,9481	0,98**	y = 2,6531x + 5,949	0,98**
		Casca de Pinus		
DTPA 2,6	y = 0,1155x + 0,4717	0,99**	y = 0,3726x + 0,4716	0,99**
DTPA 2,6 (v/v)	y = 0,1142x + 0,4589	0,99**	y = 0,3686x + 0,4588	0,99**
DTPA 7,3	y = 0,1015x + 0,4184	0,99**	y = 0,3274x + 0,4184	0,99**
DTPA 7,3 (v/v)	y = 0,0973x + 0,4079	0,99**	y = 0,314x + 0,4078	0,99**
$K_4P_2O_7$	$y = -0,0067x^2 + 0,1125x + 2,6916$	0,40ns	$y = -0,0696x^2 + 0,3641x + 2,6912$	0,40ns
NaOCl + DTPA	y = 1,4283x + 7,9936	0,99**	y = 4,6084x + 7,993	0,99**
$HNO_3 + H_2O_2$	$y = -0,1167x^2 + 1,9962x + 12,565$	0,96**	$y = -1,2155x^2 + 6,4439x + 12,563$	0,96**
$HNO_3 + HClO_4$	y = 1,3497x + 10,102	0,99**	y = 4,3547x + 10,101	0,99**
		Fibra de Coco		
DTPA 2,6	y = 0,0938x + 1,253	0,99**	y = 0,8529x + 1,2532	0,99**
DTPA 2,6 (v/v)	y = 0,0558x + 0,8309	0,99**	y = 0,5069x + 0,831	0,99**
DTPA 7,3	y = 0,1321x + 1,6929	0,99**	y = 1,2007x + 1,6931	0,99**
DTPA 7,3 (v/v)	y = 0,0837x + 1,1029	0,99**	y = 0,7607x + 1,1031	0,99**
$K_4P_2O_7$	y = 0,1734x + 4,5327	0,92**	y = 1,5762x + 4,5329	0,92**
NaOCl + DTPA	y = 1,3957x + 19,885	0,99**	y = 12,686x + 19,888	0,99**
$HNO_3 + H_2O_2$	y = 1,8429x + 27,351	0,99**	y = 16,751x + 27,354	0,99**
$HNO_3 + HClO_4$	y = 0,8039x + 17,54	0,97**	y = 7,3069x + 17,541	0,97**

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste t

Embora não tenha sido avaliada a precisão dos métodos de extração, o coeficiente de variação pode dar uma idéia da precisão dos métodos (Tabela 8). Essa característica é muito importante quando se pensa adotar um método para as condições de rotina dos laboratórios.

Tabela 7 - Correlações (r) entre os métodos testados.

	DTPA 2,6	DTPA 2,6 v/v	DTPA 7,3	DTPA 7,3 v/v	$K_4P_2O_7$	HNO_3 + H_2O_2	NaOCl + DTPA	HNO_3 + $HClO_4$
Turfa								
DTPA 2,6	1	-	-	-	-	-	-	-
DTPA 2,6 v/v	0,99**	1	-	-	-	-	-	-
DTPA 7,3	0,65**	0,98**	1	-	-	-	-	-
DTPA 7,3 v/v	0,99**	0,98**	0,99**	1	-	-	-	-
$K_4P_2O_7$	0,53**	0,72**	0,62**	0,82**	1	-	-	-
HNO_3+H_2O_2	0,67**	0,92**	0,93**	0,95**	0,51*	1	-	-
NaOCl+DTPA	0,64**	0,93**	0,90**	0,95**	0,49*	0,97**	1	-
HNO_3+$HClO_4$	0,61**	0,92**	0,90**	0,94**	0,37ns	0,94**	0,92 **	1
Casca de Pinus								
DTPA 2,6	1	-	-	-	-	-	-	-
DTPA 2,6 v/v	0,99**	1	-	-				-
DTPA 7,3	0,97**	0,99**	1	-	-	-	-	-
DTPA 7,3 v/v	0,99**	0,99**	0,99**	1	-	-	-	-
$K_4P_2O_7$	0,34ns	0,32ns	0,29ns	0,28ns	1	-	-	-
HNO_3+ H_2O_2	0,64**	0,93**	0,69**	0,90**	0,39ns	1	-	-
NaOCl+DTPA	0,98**	0,99**	0,97**	0,99**	0,23ns	0,66**	1	-
HNO_3+$HClO_4$	0,92**	0,99**	0,92**	0,99**	0,26ns	0,69**	0,96 **	1
Fibra de Coco								
DTPA 2,6	1	-	-	-	-	-	-	-
DTPA 2,6 v/v	0,99**	1	-	-	-	-	-	-
DTPA 7,3	0,89**	0,99**	1	-	-	-	-	-
DTPA 7,3 v/v	0,99**	0,99**	0,99**	1	-	-	-	-
$K_4P_2O_7$	0,80**	0,97**	0,91**	0,96**	1	-	-	-
HNO_3+H_2O_2	0,93**	0,99**	0,98**	0,99**	0,88**	1	-	-
NaOCl+DTPA	0,92**	0,99**	0,98**	0,99**	0,91**	0,98**	1	-
HNO_3+$HClO_4$	0,87**	0,99**	0,96**	0,98**	0,91**	0,95 **	0,97 **	1

** significativo a 1% probabilidade pelo teste t
* significativo a 5% probabilidade pelo teste t

Os coeficientes de variação tiveram uma amplitude de 3,49 a 23,19 % para a fibra de coco; 5,44 a 21,64 % para casca de pinus; e 9,26 a 179,08 % para a turfa (Tabela 8). Estes resultados mostram claramente que a turfa é o substrato que apresentou maior variabilidade, seguida da casca de pinus e da fibra de coco. Como a turfa é um material orgânico, parcialmente decomposto, formado quase unicamente por restos de plantas,

era esperada uma maior variabilidade deste material, devido à ação diferenciada dos microrganismos que atuam na decomposição da matéria orgânica. Segundo LINDSAY (1979), o controle da disponibilidade de Cu no solo está altamente relacionado com a ação de microrganismos, sendo possível que também ocorra essa interação na turfa. Em relação à casca de pinus e a fibra de coco, formadas por um único tipo de material, era esperado uma menor variabilidade destes substratos.

Em geral, o método que resultou o maior valor de CV foi o $K_4P_2O_7$ (Tabela 8). A menor precisão do $K_4P_2O_7$, pode estar relacionado às várias etapas analíticas para completar todo o procedimento – quanto maior os números de etapas no método maiores são as probabilidades de se cometer erros.

Tabela 8 -Coeficiente de variação, em porcentagem, para os teores de Cu da fibra de coco, casca de pinus e turfa, extraídos pelos diferentes métodos.

DTPA 2,6	DTPA 7,3	$K_4P_2O_7$	$HNO_3+H_2O_2$	NaOCl+DTPA	HNO_3+HClO_4
Coeficiente de Variação %					
Fibra de Coco					
23,19	3,49	10,23	7,04	4,89	6,81
Casca de Pinus					
8,74	7,27	21,64	17,52	5,44	10,91
Turfa					
20,17	12,37	179,08	9,26	12,77	13,82

Apesar do método $HNO_3 + H_2O_2$ proporcionar valores intermediários de CV, esses poderiam ser menores se o procedimento para a obtenção da amostra fosse menos trabalhoso. O procedimento consistiu de três digestões e demorou dois dias para se completar, o que expõe a amostra a possíveis contaminações pelo ambiente.

Embora trabalhosos, os extratores NaOCl + DTPA juntamente com o $HNO_3 + H_2O_2$ e o $HNO_3 + HClO_4$ foram precisos (Tabela 8). Tal precisão pode estar associada aos altos teores de Cu extraídos por esses métodos.

De todos os métodos testados, o que obteve a maior precisão foi o DTPA 7,3 na fibra de coco, com o CV igual a 3,49 %, sendo um método simples e de fácil adequação para a rotina de laboratório, pois é um método adaptado do solo que se utiliza na maioria dos laboratórios do Brasil para determinar o Cu disponível.

4. 3 Eficiência dos Extratores em Avaliar a Disponibilidade de Cobre em Substratos

4.3.1 Avaliação química dos extratores para cada substrato utilizado

Em geral, a relação entre a concentração ou o acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído pelos diferentes métodos obteve ajuste linear crescente (Figuras 3 a 18).

Dentre os substratos, houve destaque para a fibra de coco, que apresentou valores de R^2 altamente significativos ($P < 0,01$) para todos os extratores utilizados. Para a casca de pinus e a turfa não existiu uma relação significativa entre Cu-substrato e Cu-planta. Portanto, optou-se por não colocar os valores da equação de regressão e seus respectivos coeficientes de determinação (Figuras 3 a 18).

Usando o extrator DTPA 2,6, os valores da concentração de Cu e o acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula em função dos teores de Cu extraídos foram altamente significativos para a fibra de coco (Figuras 3 e 4). O ajuste da curva foi linear crescente para todos os casos em que o substrato era a fibra de coco, demonstrando que a extração pelo Cu na planta (concentração e acúmulo) aumentou conforme o aumento no teor extraído pelo método, predizendo que o Cu esta na solução do substrato prontamente disponível para a absorção pela planta e que o método esta extraindo este teor disponível no substrato.

Chama a atenção, que independentemente dos resultados serem expressos em unidade de massa ou de volume, a relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula e o Cu extraído pelo DTPA 2,6 foi altamente significativa para a fibra de coco (Figuras 3 a 6). Os valores dos coeficientes de determinação para a concentração de Cu na planta apresentaram valores iguais quando os resultados foram expressos tanto em volume como em massa (Figuras 3 e 5), contudo, o ajuste da equação para o Cu acumulado na planta foi ligeiramente superior em função do Cu extraído, quando seus valores foram expressos em massa. (Figuras 4 e 6).

Não foi possível explicar, por meio de modelos matemáticos, a variação encontrada na concentração de Cu na parte aérea da rúcula pelo uso da análise de Cu nos substratos casca de pinus e turfa, pelos métodos testados (Figuras 3 a 6). Resultados semelhantes foram encontrados por SANTOS (2005), avaliando a capacidade do extrator DTPA 2,6 em determinar o Cu disponível para a rúcula desenvolvida nos substratos turfa e casca de pinus.

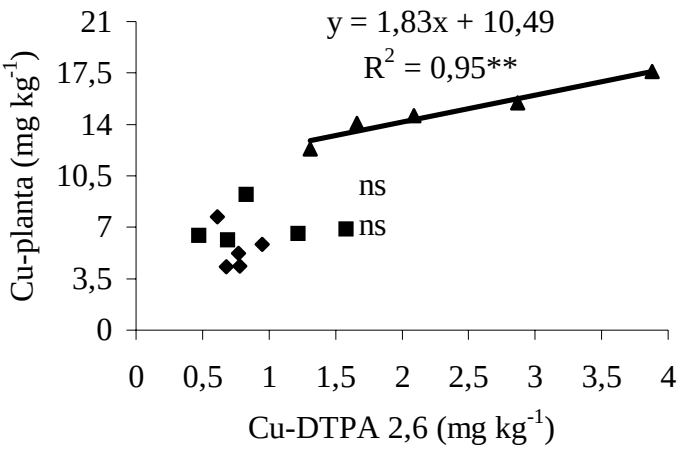

Figura 3 – Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 2,6 na turfa (◆) casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

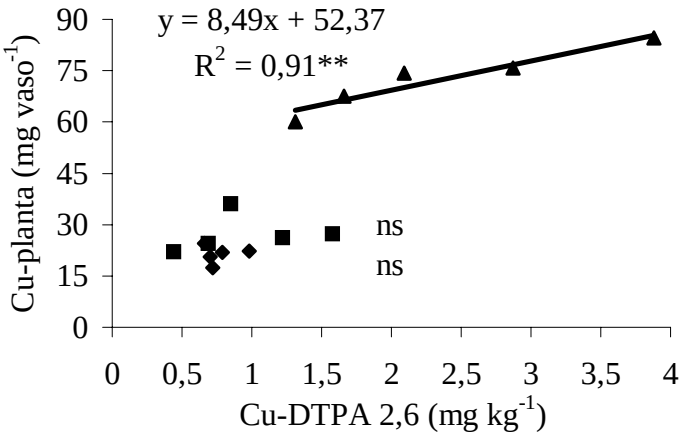

Figura 4 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 2,6 na turfa (◆), casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

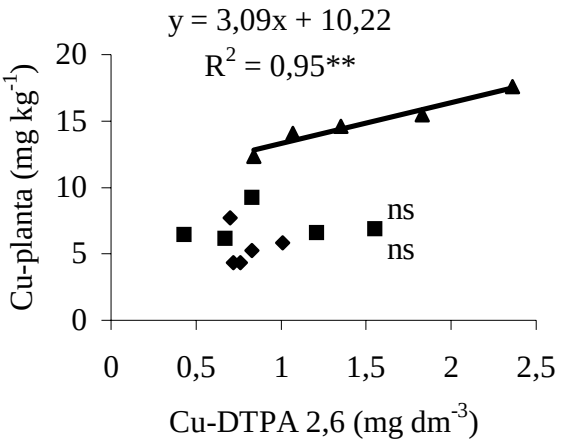

Figura 5 – Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg L^{-1}) pelo DTPA 2,6 na turfa (◆) casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

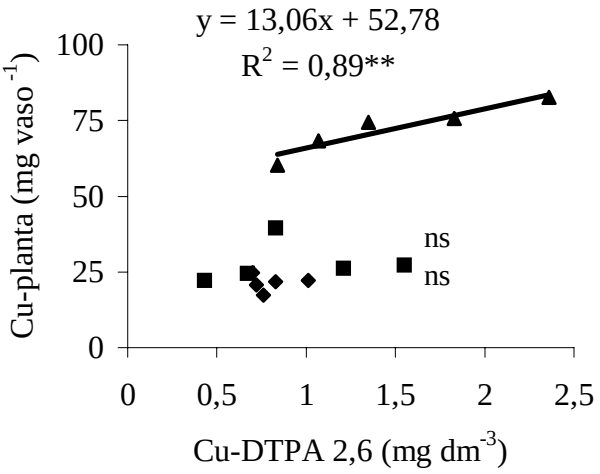

Figura 6 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 2,6 na turfa (◆), casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

O método que emprega o quelante DTPA a pH 7,3 apresentou comportamento similar ao verificado para o DTPA 2,6 para a concentração de Cu na parte aérea (Figuras 3 e 7). Somente para a fibra de coco foi possível explicar a variação do Cu na planta (concentração e acumulado) pela quantificação química do Cu no substrato, sendo o melhor modelo o linear crescente, com valores de R^2 altamente significativos (Figuras 7 a 10). O aumento na concentração e no acúmulo de Cu na planta foi equivalente ao aumento nos teores extraídos. Para os demais substratos, a análise

química com DTPA 7,3 foi ineficiente em explicar a variabilidade do Cu na planta (Figuras 7 a 10). Segundo MCLAREN & CRAWFORD (1973) a maior contribuição do Cu disponível nos solos é o Cu complexado à matéria orgânica, sendo o DTPA 7,3 o melhor extrator se comparado aos extratores ácidos diluídos.

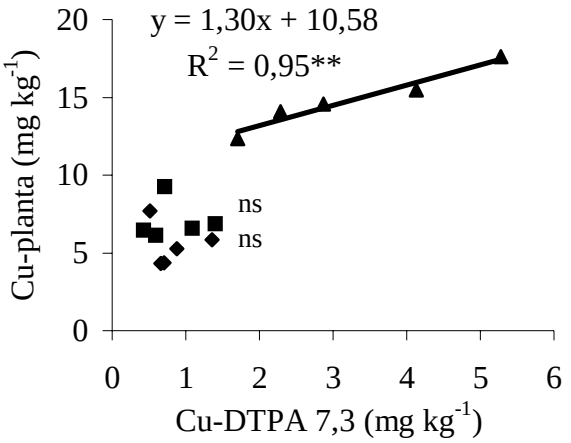

Figura 7 – Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 7,3 na turfa (◆), casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

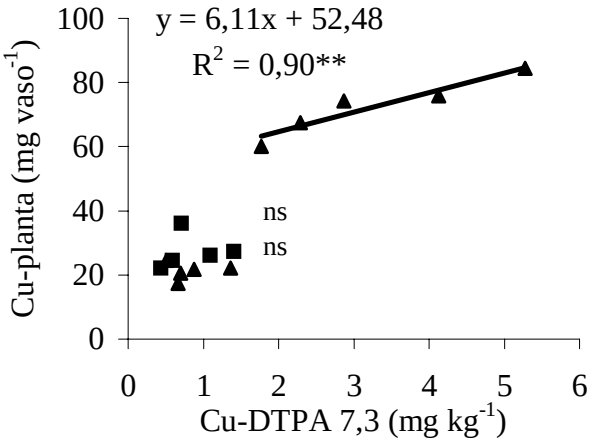

Figura 8 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 7,3 na turfa (◆), casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

O coeficiente de determinação entre Cu-planta e Cu-fibra de coco foi inferior quando o teor de Cu extraído pelo DTPA 7,3 foi expresso em volume e não em massa (Figuras 7 a 10), indicando que a densidade dos substratos interfere nos resultados. Para os substratos turfa e casca de pinus, a relação entre Cu-rúcula e Cu-DTPA 7,3, expressos em volume, não apresentou coeficiente de determinação significativo (Figuras. 7 e 10).

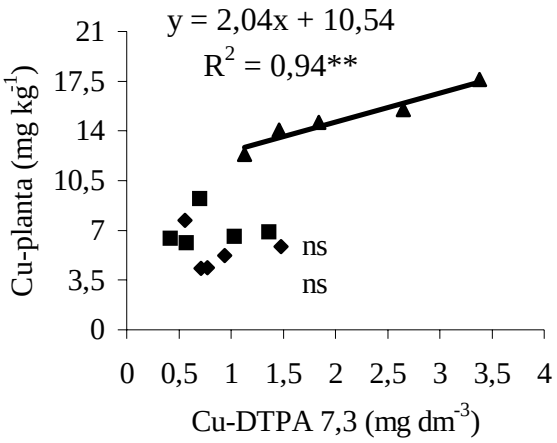

Figura 9 – Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg dm^{-3}) pelo DTPA 7,3 na turfa (◆) casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

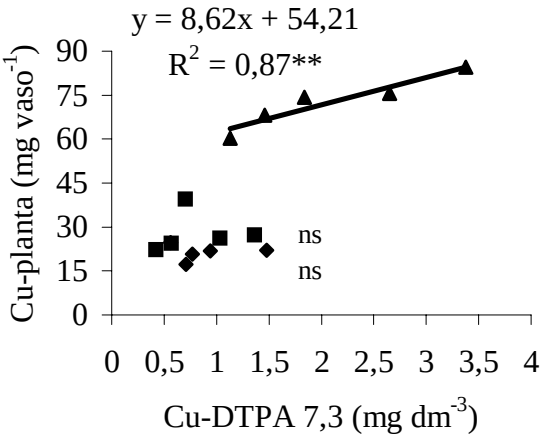

Figura 10 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg dm^{-3}) pelo DTPA 7,3 na turfa (◆), casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

O extrator $K_4P_2O_7$, geralmente utilizado para extrair o Cu da fração orgânica dos solos em esquemas de fracionamento, apresentou relação significativa entre Cu-planta e

o Cu-extraído, quando o substrato utilizado foi à fibra de coco (Figuras 11 e 12). O ajuste foi linear crescente, indicando aumento na concentração e no acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula com o aumento no teor de Cu extraído. O coeficiente de determinação foi altamente significativo (R^2 = 0,90**) tanto para a concentração como para o acúmulo de Cu na parte aérea da rúcula. Nos substratos turfa e casca de pinus não houve ajuste matemático entre as variáveis testadas (Figuras 11 e 12).

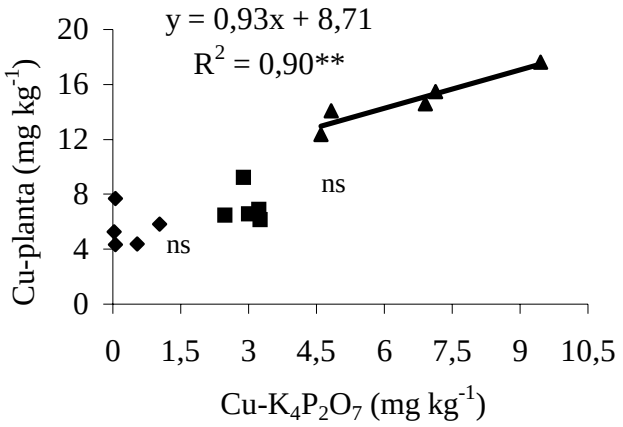

Figura 11 – Relação entre a concentração de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo $K_4P_2O_7$ na turfa (◆), casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

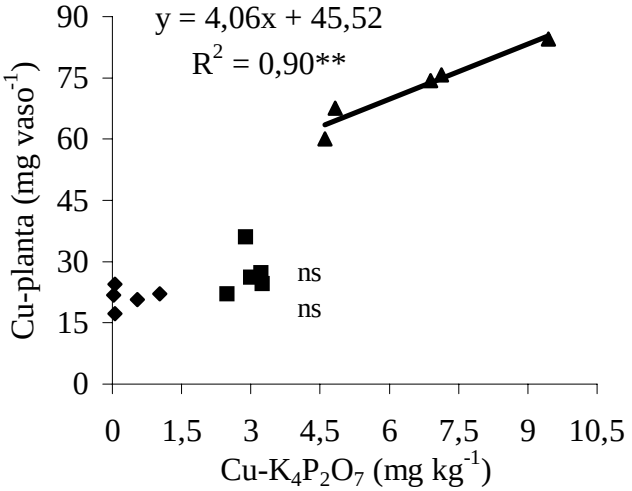

Figura 12 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg Kg^{-1}) pelo $K_4P_2O_7$ na turfa (◆), casca de pinus (■) e fibra de coco.

O NaOCl + DTPA é outro tipo de reagente utilizado para extrair Cu da fração orgânica dos solos em esquemas de fracionamento. De maneira semelhante aos demais extratores, sua relação com a planta somente foi positiva para o substrato fibra de coco, com valores de (R^2 = 0,95**) para a concentração Cu na planta e de (R^2 = 0,90**) para o Cu acumulado na planta (Figuras 13 e 14). Como nos casos anteriores, não houve ajuste matemático para os substratos turfa e casca de pinus.

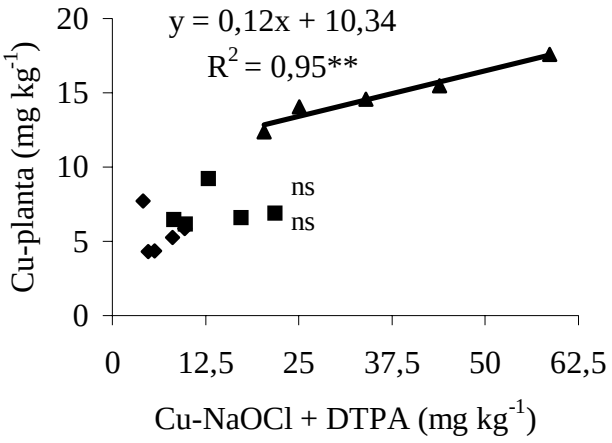

Figura 13 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo NaOCl + DTPA na turfa (◆), casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

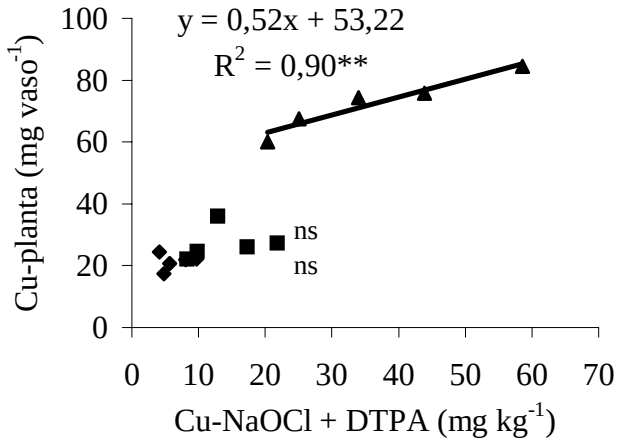

Figura 14 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo NaoCl + DTPA na turfa (◆) casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

Embora, o HNO_3 + $HClO_4$ seja utilizado para determinar o teor total de Cu, esse método foi tão eficiente quanto aos demais para avaliar a disponibilidade de Cu para as plantas crescidas na fibra de coco, com o coeficiente de determinação (R^2) altamente significativo (0,93** e 0,90**), respectivamente para a relação entre a concentração e o acúmulo de Cu na planta em função do Cu extraído pelo método (Figuras 15 e 16). O melhor ajuste foi linear crescente demonstrando que quanto maior o teor de Cu extraído pelo método maior foi a absorção pela rúcula. Não houve ajuste para os outros materiais testados (Figuras 15 e 16).

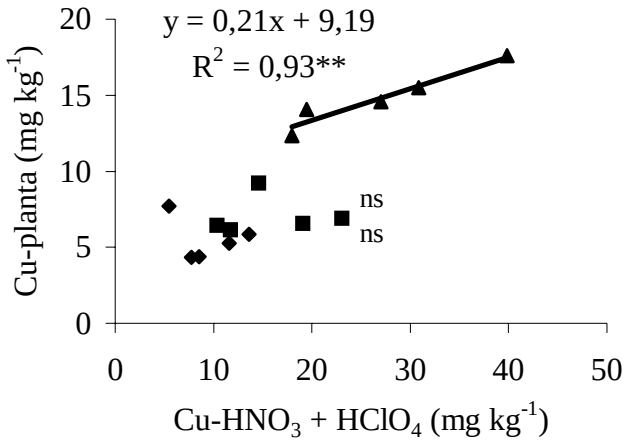

Figura 15 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo HNO_3^- + $HClO_4^-$ na turfa (◆) casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

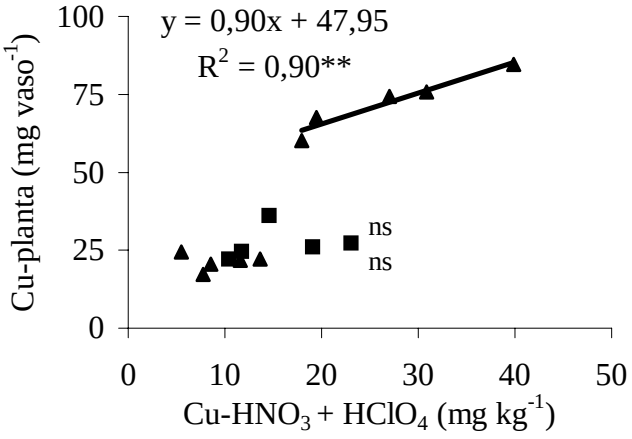

Figura 16 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo HNO_3 + $HClO_4$ na turfa (◆) casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

A metodologia que empregou os reagentes $HNO_3 + H_2O_2$ teve comportamento semelhante ao extrator $HNO_3 + HClO_4$, diferenciado deste somente pelo maior teor de Cu extraído (Tabela 5).

Como verificado em todos os materiais testados neste presente trabalho, somente na fibra de coco foi observada relação linear entre o Cu na planta (concentração e acúmulo) em função do Cu extraído pelo $HNO_3 + H_2O_2$ com valores altamente significativos ($R^2 = 0,92^{**}$ e $0,90^{**}$) (Figuras 17 e 18).

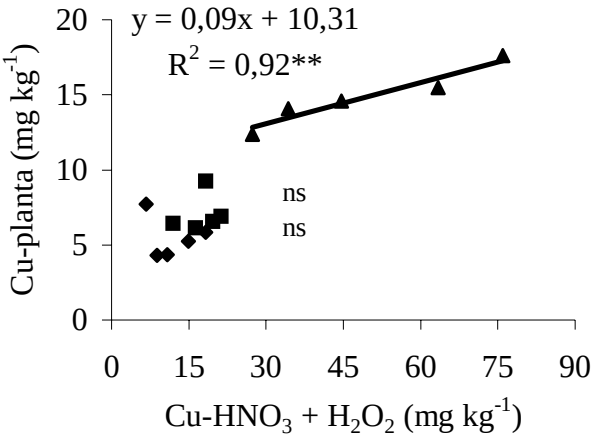

Figura 17 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo $HNO_3 + H_2O_2$ na turfa (◆) casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

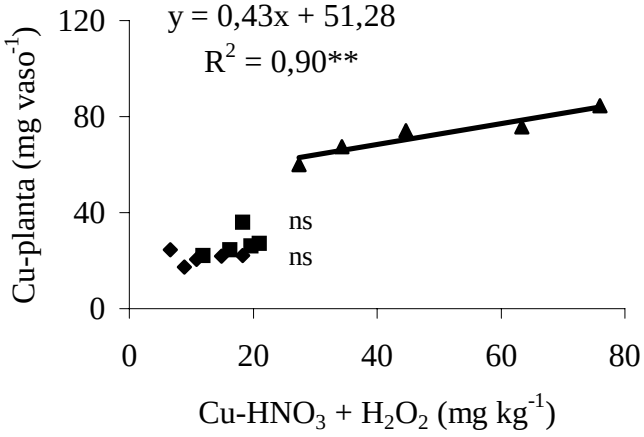

Figura 18 – Relação entre o Cu acumulado na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo $HNO_3 + H_2O_2$ na turfa (◆) casca de pinus (■) e fibra de coco (▲).

4.3.2 Avaliação conjunta dos substratos

Como, de maneira geral, a avaliação do Cu na turfa e na casca de pinus pelos diferentes métodos químicos não apresentaram valores de correlação significativos, optou-se por uma análise conjunta incluindo os três substratos (Figuras 19 a 26).

Todos os métodos apresentaram correlação significativa entre o Cu-substrato e Cu-planta (Figuras 19 a 26). Em geral, a análise conjunta dos substratos demonstrou a eficiência dos extratores, avaliada pelos valores de correlação entre Cu-planta e Cu-substrato, obedecendo a seguinte ordem decrescente: $K_4P_2O_7$ > HNO_3 + H_2O_2 > NaOCl + DTPA > DTPA 7,3 > DTPA 2,6 > HNO_3 + $HClO_4$ > DTPA 7,3 (v/v) > DTPA 2,6 (v/v).

Dentre os métodos testados, aqueles comumente utilizados para determinar Cu da fração orgânica do solo foram os que apresentaram maiores valores de R^2, destacando-se o $K_4P_2O_7$ que melhor se relacionou com a concentração de Cu na planta e seu acúmulo (Figura 23). Na seqüência, destacaram-se o HNO_3 + H_2O_2 e o NaOCl + DTPA com valores de coeficiente de determinação de R^2 = 0,82** e 0,81** respectivamente, para a relação entre a concentração de Cu na planta e o Cu no substrato (Figuras 24 e 25).

Os maiores valores de R^2 para o $K_4P_2O_7$, contradizem o que ocorreu nas análises individuais por substrato, pois no último caso não foi observada relação entre o Cu-rúcula e Cu-extraído dos substratos turfa e casca de pinus (Figuras 11 e 12). O mesmo ocorreu para os outros métodos quando relacionados o teor de Cu do substrato com a concentração e acúmulo de Cu nas plantas.

Com relação aos extratores que apresentaram seus resultados expressos em volume (DTPA 2,6 v/v e DTPA 7,3 v/v) os valores de R^2 foram os mais baixos, se comparados com os valores do DTPA 2,6 e DTPA 7,3, expressos em massa (Figuras 19 a 22). Contudo, os pontos obtidos no gráfico entre o Cu-planta em função do Cu-substrato foram bem mais distribuídos nos métodos DTPA 2,6 v/v e DTPA 7,3 v/v, diferenciando dos demais métodos testados.

Em geral, os valores de R^2 obtidos para a relação entre o Cu acumulado na planta e o Cu no substrato, para todos os métodos testados, foram ligeiramente superiores aos valores obtidos para a concentração de Cu na planta (Figuras 19 a 26).

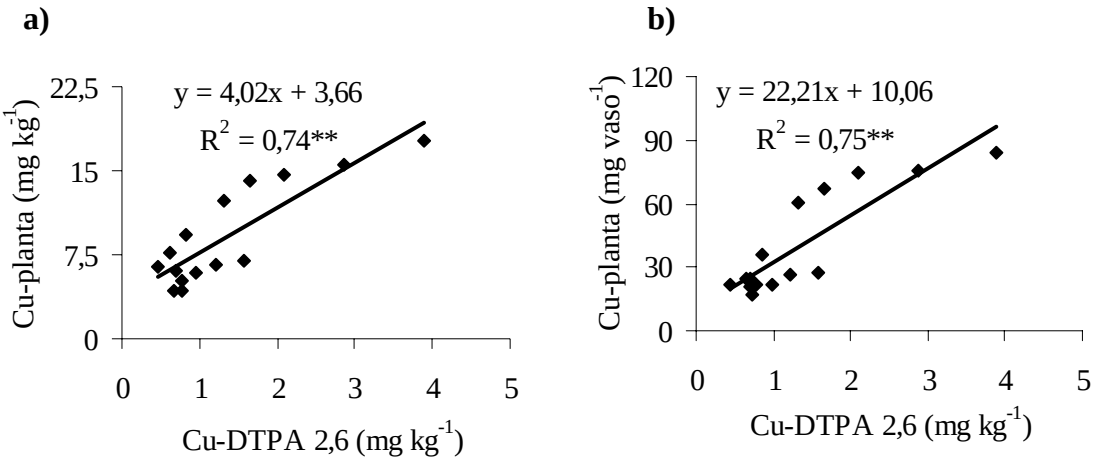

Figura 19 - Relação entre a concentração (a) e acúmulo (b) de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 2,6 em todos os substratos.

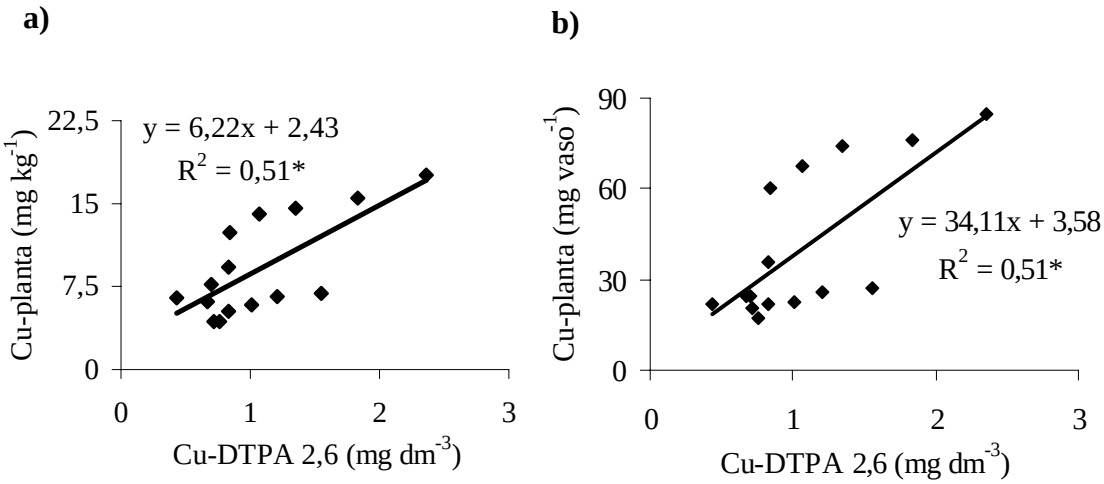

Figura 20 - Relação entre a concentração (a) e acúmulo (b) de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg dm^{-3}) pelo DTPA 2,6 para todos os substratos.

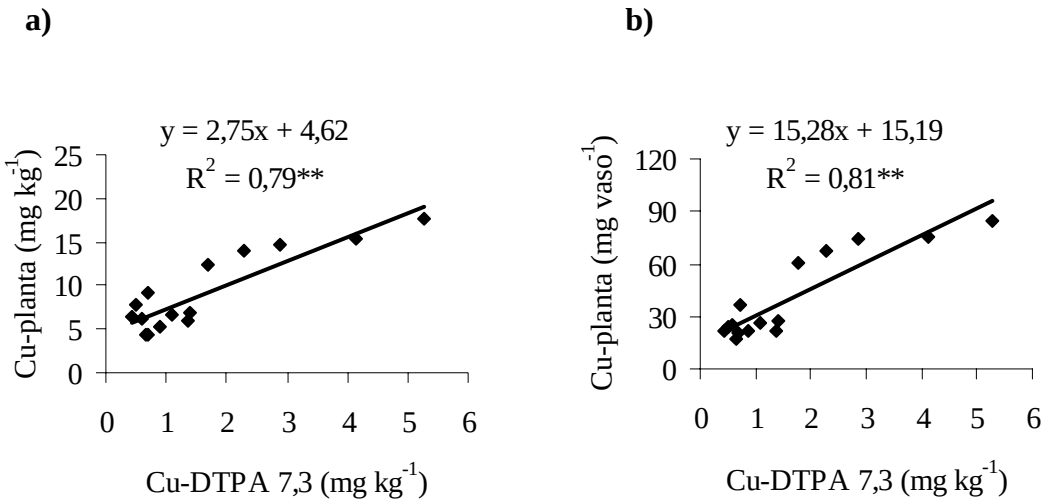

Figura 21 – Relação entre a concentração (a) e acúmulo (b) de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo DTPA 7,3 para todos os substratos.

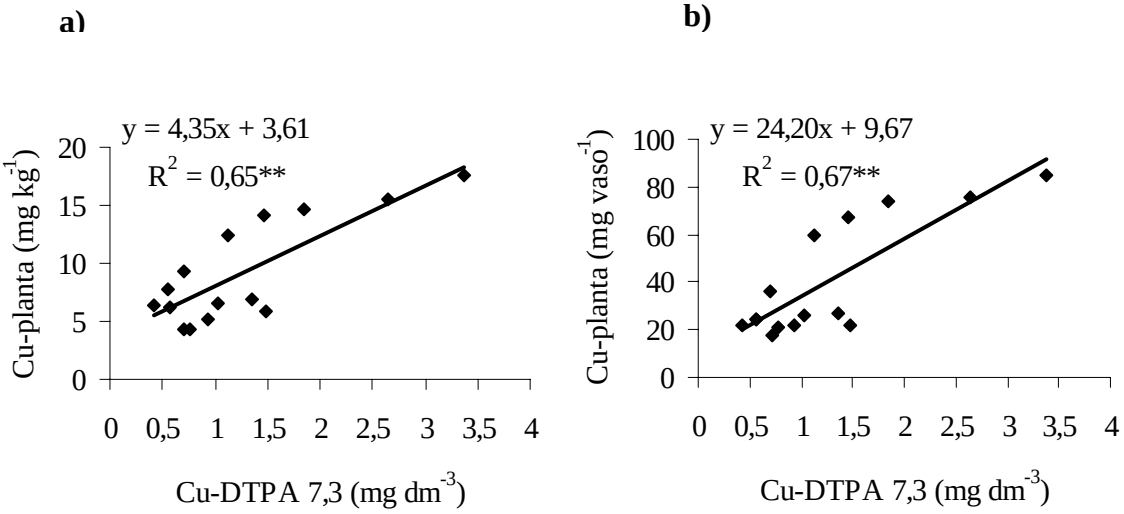

Figura 22 – Relação entre a concentração (a) e acúmulo (b) de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg dm^{-3}) pelo DTPA 7,3 para todos os substratos.

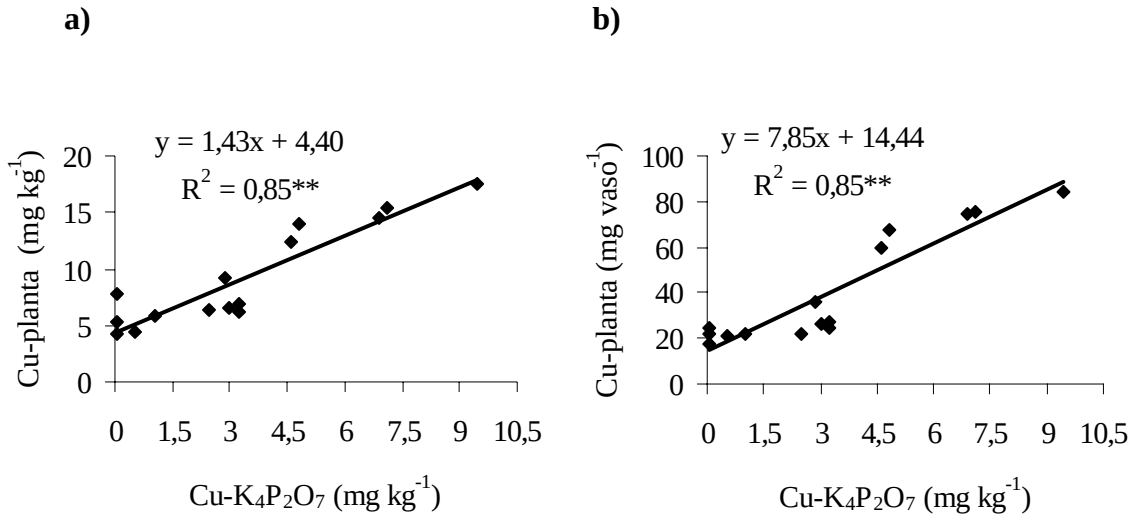

Figura 23 – Relação entre a concentração (a) e acúmulo (b) de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo $K_4P_2O_7$ para todos os substratos.

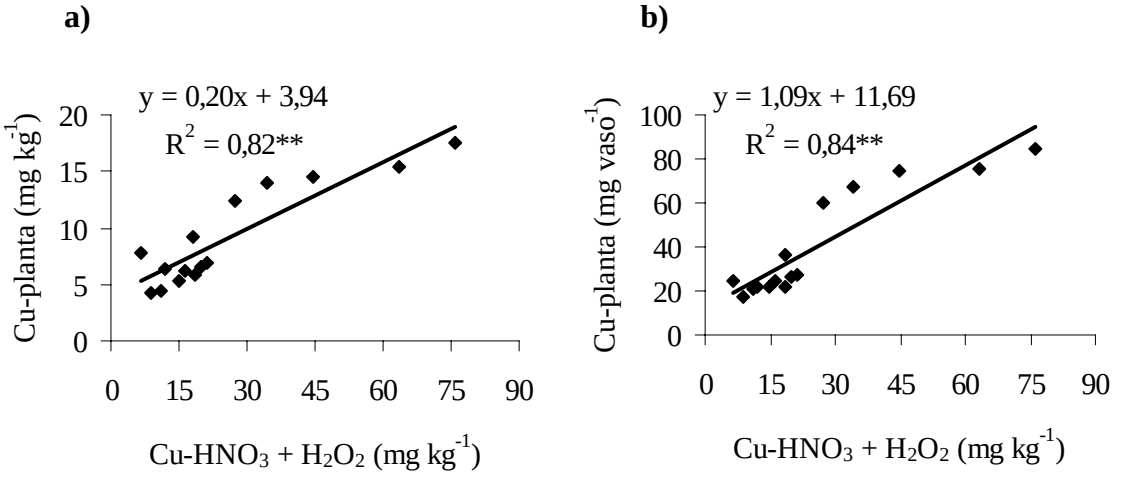

Figura 24 – Relação entre a concentração (a) e acúmulo (b) de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo $HNO_3 + H_2O_2$ para todos os substratos.

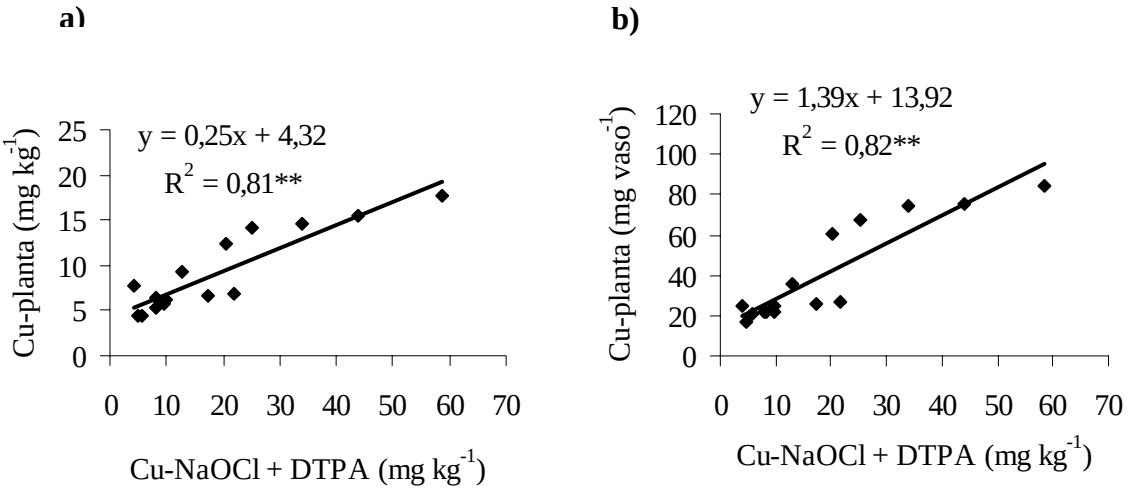

Figura 25 – Relação entre a concentração (a) e acúmulo (b) de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo NaOCl + DTPA para todos os substratos.

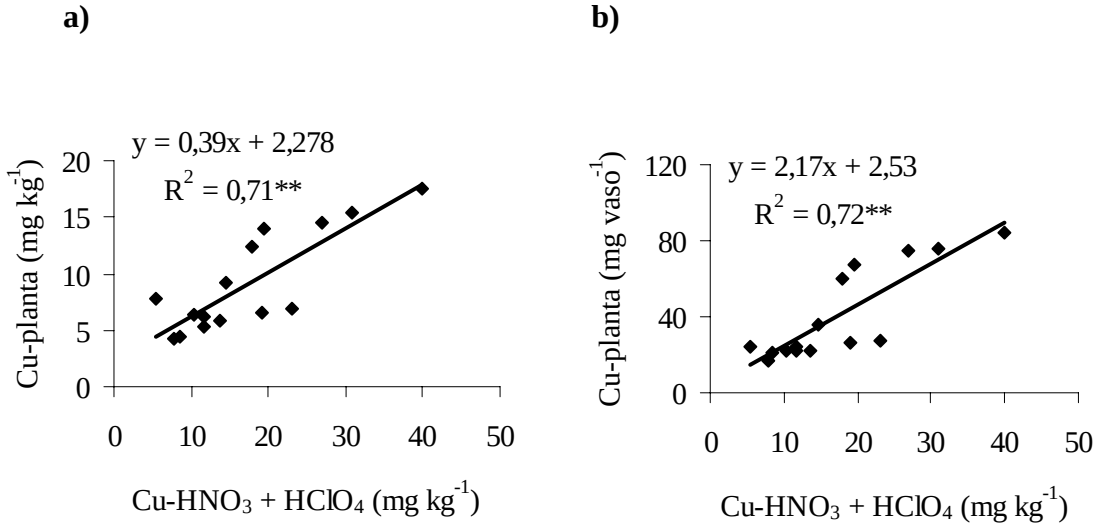

Figura 26 – Relação entre a concentração (a) e acúmulo (b) de Cu na parte aérea da rúcula em função do Cu extraído (mg kg^{-1}) pelo HNO_3 + $HClO_4$ para todos os substratos.

4.4 Considerações Finais

A hipótese de que os extratores quelantes seriam mais eficientes em determinar a disponibilidade de Cu em substratos não foi confirmada na presente pesquisa. Essa hipótese foi baseada nas boas correlações entre Cu na planta e Cu extraído pelo DTPA, em substratos com elevados teores de matéria orgânica, demonstrada em vários trabalhos (BUCHER & SCHENK, 2000; KREIJ et al. 1993). Além disso, o Cu complexado pelo DTPA forma complexos de alta estabilidade (ABREU et al., 1997). Porém, no presente trabalho onde foram utilizados materiais totalmente constituídos por matéria orgânica, os resultados não foram satisfatórios.

Além da eficiência do extrator em avaliar a disponibilidade do Cu, medida pela relação entre o Cu-planta e Cu-extrator, outros fatores são importantes quando se almeja selecionar métodos para uso em condições de rotina do laboratório. Esses aspectos são a amplitude do teor extraído, o tamanho da amostra empregada, a reprodutibilidade e repetibilidade do procedimento no laboratório, o tempo gasto na extração, o requerimento de equipamento especial e, principalmente, se contém produtos químicos prejudiciais para a saúde humana e qualidade do meio ambiente.

O extrator que apresentou maior amplitude de extração de Cu foi o HNO_3 + H_2O_2 com uma variação de 6,66 mg a 76,00 mg (Tabela 5). Em seguida, encontram-se os extratores NaOCl +DTPA, HNO_3 + $HClO_4$, com variações de 4,10 mg a 58,60 mg e 5,48 mg a 39,87 mg respectivamente, derrubando a hipótese sobre a maior capacidade extrativa pelo método HNO_3 + $HClO_4$. A menor amplitude de extração de Cu foi observada para o método DTPA 2,6 que apresentou uma amplitude de 0,61 a 3,88 mg de Cu (Tabela 5).

Quanto a quantidade de amostra, os métodos $K_4P_2O_7$, NaOCl + DTPA, HNO_3 + H_2O_2 e HNO_3 + $HClO_4$ empregaram as menores massas, o que prejudica o procedimento analítico em condições de rotina laboratorial. Tal fato é mais relevante porque grande parte dos substratos é composta de vários materiais com características químicas e físicas diferenciadas (tamanho do material), o que interfere na homogeneidade de uma amostra pequena e conseqüentemente no teor extraído.

Quanto ao tempo de extração, de maneira geral os métodos mais trabalhosos foram $K_4P_2O_7$, NaOCl +DTPA, HNO_3 + H_2O_2.. Para o $K_4P_2O_7$, as amostras foram agitadas por 16 horas sem interrupção, o que dificulta a sua adoção em condições de rotina de um laboratório. Além disso, esse extrator apresentou sólidos em suspensão e foi necessário a adição de HCl concentrado para abaixar o pH das amostras para 1,5,

deixando o método mais trabalhoso. Na utilização do NaOCl + DTPA, as amostras foram inicialmente colocadas em banho-maria, a 60ºC. Ao final do processo, o volume foi alterado, necessitando ajuste no volume final para não ocasionar erros analíticos na determinação final do Cu, o que demandou tempo. O método que empregou o HNO_3 + H_2O_2 foi laborioso (três etapas), sendo necessário acompanhamento constante na digestão, para que a amostra em alta temperatura, não vazasse para fora do tubo digestor. Entretanto, após todas esses critérios anteriormente citados sobre a escolha do melhor método o HNO_3 + $HClO_4$ foi tido como o mais plausível para a determinação do Cu em substratos.

Os equipamentos requeridos por todos os métodos empregados neste estudo são de uso rotineiro nos laboratórios de análise química de solos, com exceção o ICP-OES que é geralmente substituído pelo Espectrômetro de Absorção Atômica em Chama.

No que se refere à saúde humana e qualidade do meio ambiente, o DTPA e o NaOCl são os reagentes mais perigosos, o primeiro por ser nocivo para os organismos aquáticos, o segundo pode trazer riscos para quem o manuseia, pois sua combinação com ácidos resulta em uma liberação de gases tóxicos. Assim sendo, é de extrema importância: a) o uso de equipamento de proteção individual como jaleco, luvas, óculos de segurança e máscara; b) equipamento coletivo como capela de exaustão, extintor, dentre outros; c) e a instalação de um adequado sistema de capitação e tratamento de esgoto dos resíduos provenientes do laboratório.

Afinal, a escolha do melhor método é um conjunto de fatores que, além da sua eficiência sob o ponto de vista agronômico, deve se adequar às possibilidades de um laboratório de rotina. Além disso, mais testes devem ser feitos para a avaliação de sua repetibilidade, reprodutividade dentre outros parâmetros, que indicarão a escolha do melhor método para o uso em rotina de laboratório.

5 CONCLUSÕES

a) Os extratores ácidos têm maior capacidade de extração de Cu.

b) Houve efeito do pH na extração de Cu pelos quelantes.

c) O substrato fibra de coco foi o único material em que todos os extratores utilizados foram eficientes em avaliar a disponibilidade de Cu para a rúcula.

d) A análise conjunta dos três substratos demonstrou a eficiência dos extratores utilizados em função dos teores (concentração e acúmulo) absorvidos pela planta;

e) Considerando os vários aspectos importantes na seleção dos extratores para determinar o Cu em substratos, o melhor extrator foi o HNO_3 + $HClO_4$.

6 REFERÊNCIAS

ABAD, M.; MARTÍNEZ, P.F.; MARTÍNEZ, J. Evaluación agronómica de los substratos de cultivo. Actas Horticultura, 11, p. 141-154, 1993.

ABAD, M.& NOGUEIRA, P. Substratos para el cultivo sin suelo y fertirrigacion. In: Cadahia, C. (Ed.) Fertirrigacion: Cultivos hortícolas y ornamentais. Madrid: Mundi – Prensa, p. 287-342, 1998.

ABREU, C.A.; LOPES, A.S.; RAIJ, B.Van. Análise de micronutrientes em solos brasileiros: situação atual e perspectivas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 1997, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro, p. 26, 1997.

ABREU, C.A.; FURLANI, A.M.C.; ABREU, M.F.; BATAGLIA, O.C. & FURLANI, P.R. Micronutrient determination in different water extracts of coir fiber substrate incubated with mineral fertilizers. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SOILLESS CULTURE AND HYDROPONICS, 9., 2004a, Almeria: Universidad de Almeria, p.113, 2004a.

ABREU, M.F.; ABREU, C.A.; BATAGLIA, O.C. Uso da análise química na avaliação da qualidade de substratos e componentes. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATO PARA PLANTAS, 3., 2002, Campinas: Instituto Agronômico, 2002. p. 17-28, 2002 (Documentos IAC, 70).

ABREU, M.F.; FURLANI, A.M.C.; ABREU, C.A.; SANTOS, P.H. & GONZALEZ, A.P. Total element concentration quantification in substrates. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SOILLESS CULTURE AND HYDROPONICS, 9., 2004c, Almeria: Universidad de Almeria, 2004c.

ABREU, M.F.; ABREU, C.A.; BATAGLIA, O.C.; PADUA JUNIOR, A.L.& SANTOS, P.H. Extratores aquosos para a caracterização química de substratos para plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 2005, Recife. Anais... Recife, p. 12, 2005.

ALLOWAY, B.J. Heavy metals in soils. Londres, Blackie Academic, 368p, 1995.

ALT, D.& PETERS, I. Analysis of macro and trace elements in horticultural substrates by means of the $CaCl_2$/DTPA (CAT) method. Acta Horticulturae, v. 342, p.287-292, 1993.

ANDERSON, J.U. An improved pre-treatment for mineralogical analysis of samples containing organic matter. Clays Clay Mineralogical, 10:380-388, 1963.

BALLARIN, A.W. & PALMA, H.A.L. Resistência e rigidez da madeira pinus. Revista da Madeira n 83 ano 14, Agosto, 2004. http//:www.remade.com.br/revista/matéria.php/edição=83id=595 (12-02-2006).

BASCOMB, C.L. Distributions of pyrophosphate-extractable Iron and Organic Carbon in soils of various groups. Journal of Soil Science, vol. 19, n 2, 1968.

BATAGLIA, O.C. FURLANI, A.M.C. TEIXEIRA, J.P.F. FURLANI, P.R & GALLO, JR. Métodos de analise química de plantas. Campinas, Instituto Agronômico, 1983. 48p. (Boletim técnico, 78).

BATAGLIA, O.C.& FURLANI, P.R. Nutrição Mineral e Adubação para cultivos em substratos com atividade química. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATO PARA PLANTAS, 4., 2004, UFV. Anais. Viçosa: ed. UFV. p. 106-128, 2004.

BEZERRA, A.M.E.; MOMENTÉ, V.G.; MEDEIROS FILHO, S. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam) em função do peso da semente e do tipo de substrato. Horticultura Brasileira, Brasília, v.22, n.2, p.295-299, abril-junho 2004.

BOAVENTURA , P.S.R. Demanda por nutrientes de mudas cítricas produzidas em substrato em ambiente protegido. 2003. Dissertação (de Mestrado) - Instituto Agronômico, Campinas. 2003.

BOSA, N.; CALVETE, E.N.; KLEIN, V.A. & SUZIN, M.Crescimento de mudas de Gipsofila em diferentes substratos. Horticultura Brasileira. Brasília,v.21, n.3, p 514-519, 2003.

BOOMAN, J.L. Evolução dos substratos usados em horticultura ornamental na Califórnia. In: Kämpf, A.N. & Fermino, M.H. SUBSTRATOS PARA PLANTAS 1: A BASE DA PRODUÇÃO VEGETAL EM RECIPIENTES, 2000, Porto Alegre. Anais. Porto Alegre: UFRGS, p. 46-65. 2000.

BUCHER, A.S. & SCHENK, M.K. Characterization of phytoavailable Cu in compost-peat substrates and determination of toxicity level. Journal of the American Society for Horticultural Science, 125(6): p. 765-770, 2000.

BUNT, A.C. Problems in the analysis of organic and lightweight potting substrates. Hortscience, v.21, p.229-231, 1986.

CARRIJO, O.A.; VIDAL, M.C.; REIS, N.V.B.; SOUZA, R.B. & MAKISHIMA, N. Produtividade do tomateiro em diferentes substratos e modelos de casas de vegetação**.** Horticultura Brasileira, Brasília, v.22, n.1, p.05-09, jan-mar. 2004.

CAVINS, T.J.; WHIPKER, B.E.; FONTENO, W.C.; HARDEN, B.; McCALL, I. & GIBSON, J.L. Monitoring and managing pH and EC using the pour thru extraction method. Horticulture Information Leaflet 590. North Carolina State University. New 7/2000, 2000.

COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION- (CEN). EN 13651- Soil improvers and growing media- Extraction calcium chloride/DTPA (CAT) soluble elements. Brussels, 2003.

ENDE, J. VAN DEN. Estimating the chemical composition of the soil solution of glasshouse soil, 1. Compositions of soil solution and aqueous extracts. Netherlands. Journal of Agricultural Science, v. 37, p. 311-322, 1989.

DAVIS, J. A. Complexation of trace metals by adsorbed natural organic matter. Groochem. Cosmochim. Acta, 48:679-691, 1984.

FORBES, E. A.; POSNER, Q.M.; QUIRK, J.P. The specific adsortion of divalent Cd, Co, Cu, Pb and Zn on goethite. J. Soil Sci., 27:154-166, 1976.

FURLANI, P.R. Instruções para o cultivo de hortaliças pela técnica de hidroponia-NFT. Campinas, Instituto Agronômico, 30p.1997. (Boletim Técnico 168).

FURLANI, P.R; SILVEIRA, L.C.P; BOLONHEZI,D & FAQUIN, V. Cultivo hidropônico de plantas. Campinas: Instituto Agronômico, 52p (Boletim Técnico, 180) 1999.

GAULAND, D.C.S.P. Relações hídricas em substratos à base de turfa sob uso dos condicionadores casca de arroz carbonizada ou queimada. 1997. Dissertação (de Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 1997.

GONÇALVES, A. L. Substrato para produção de mudas de plantas ornamentais. IN: MINAMI, K. Produção de mudas de alta qualidade em horticultura. São Paulo: T. A. Queiroz, p.107-115, 1995.

GONÇALVES, J.L.M.; SANTARELI, E.G.; MORAES NETO, S.P. & MANARA, M.P. Produção de mudas de espécies nativas: substratos, nutrição, sombreamento e fertilização. In: GONÇALVES, J.L.M. & BENEDETTI, V. (Ed) Nutrição e fertilização florestal. Piracicaba. IPEF, p.309-350, 2000.

GRANGEIRO, L.C.; COSTA, C.C.; CECÍLIO FILHO, A.B.; GRILLI, G.V.G.; COELHO, R.L. & BERGAMIN, L.G. Produção de rúcula em hidropônia com diferentes concentrações de cobre. Horticultura Brasileira. v. 21, n. 01, p. 69-72, jan/mar. Brasília, 2003.

GUY, R.D.; CHKRABARTI, C.L.; McBAIN, D.C. Na evolution of extraction techniques for the fraction of copper and lead in model sediment systems. Water Res., 12:21-24, 1978.

HADDAD, K.S. & EVANS, J.C. Assessment of chemical methods for extracting zinc, manganese, copper and iron, from new south wales soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v. 24, n.1/2, p. 29-44, 1993.

HANDRECK, K.A. Total and extractable copper and zinc as assessors of phytotoxicity in soilles media. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v.25, p.2313-2340, 1994.

HAO, A.V.; BATES, T.E.; SOON, Y.K. Comparasion of extractants for plant available zinc, cadmium, nickel and copper in contamined soils. Soil Science Society of America Journal, v. 44, p. 772-777, 1980.

HAYNES, R.J. & SWIFT, R.S. Effects of liming on the extratability of Fe, Mn, Zn and Cu from peat medium and growth and micronutrient uptake of highbush blueberry plants. Plant and Soil. 1985. http://www.springerlink.com (01/02/2006).

JOHNSON, E.W. Comparison of methods of analysis for loam less composts. Acta Horticulturae, v. 99, p.197-204, 1980.

JUNGK, A. Eigenschaften dês Torfs und Anderer substrate in ihre Bedeutung furdie Ernahrung der Pflanze. Telma, Hannover, v.5, p. 167-187, 1975.

KAMPF, A.N. Substrato para floricultura In: Simpósio Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais, Maringá, 1992, Manual de floricultura. Maringá, SBFPO, p.36-43. 1992.

KAMPF, A.N. Evolução e perspectivas do crescimento do uso de substratos no Brasil. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATO PARA PLANTAS, 4, 2004, UFV. Anais… Viçosa: ed. UFV, p. 106-128, 2004.

KODURU, S.; EVANS, M.R.; STAMPS, R.H. Coconut husk and processing effects on chemical and physical, properties of coconut coir dust. Hort. Science, Alexandria, v.34, p.88-90, 1999.

KREIJ, C.; MARTIGNON.; Van ELDEREN. C.W. Comparison of water, DTPA, and nitric acid as extractants to assess the availability of copper in peat substrates. Commun. Soil Science Plant Anal, v. 24. p. 227-236, 1993.

LATTERELL, J.J.; DOWDY, R. H.; LARSON, W.E. Correlations of extractable metals and metal uptake of snap beans grown on soil amended with sewage sludge. J. Environ. Qual., 7:435-440, 1978.

LINDSAY, W.L. & NORVELL, W.A. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. Soil Science Society /American Journal, v. 42, p. 421-428, 1978.

LINDSAY, W.L. Lead. In: Lindsay, W.L. Chemical equilibria in soils. New York: Wiley-Interscience, 449p. 1979.

MAIORANO, J.A. Utilização de substratos orgânicos comerciais na obtenção de mudas micorrizadas de limoeiro “Cravo” em ambiente protegido. 2003. Dissertação (de Mestrado) - Instituto Agronômico, Campinas. 2003.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of highter plants. 2ed. London, Academic Press, 1995. 885p.

MARTINEZ, P.F. Manejo de substratos para horticultura. In: ENCOTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATO PARA PLANTAS, 3., 2002, Campinas, 2002. p. 7-15. (Documentos IAC, 70).

MCBRIDE, M.B. Reactions controlling heavy metal solubility in soils. Adv. Soil Science, 10:1-55, 1989.

MCLAREN, R.G & CRAWFORD D.V. Studies in copper. I. The fractionation of copper in soils. Journal Soil Science, v. 24(2): 172 –171, 1973.

NARWAL, R.P. & SINGH, B.R. Effect organic materials on partitioning, extractability and plant uptake of metals in a Alum Shale Soil. Water, Air, & Soil Pollution Publisher: Springer, v.103, n 1-4, p. 405-421, 1998, http://www.springerlink.com (01/02/2006).

NORVELL, W.A. Reactions of metal chelates in soils and nutrient solutions. In: MORTVEDT, J.J.; COX, F.R.; SHUMAN, L.M.; WELCH, R.M (Ed.) Micronutrientes in agriculture. Madison: Soil Science Society of America, 1991.

ROSA, M.F.; SANTOS, J.S.S.; MONTENEGRO, A.A.T.; ABREU, F.A.P.; ARAÚJO, F.B.S. & NORÕES, E.R. Caracterização do pós de casca de coco verde usado como substrato agrícola. 2001.Fortaleza, 2001. 6p. EMBRAPA Agroindústria Tropical (Comunicado Técnico, 5) 2001.

SALMERON, A. (1980). Pesquisa sobre mecanização florestal para abastecimento industrial com resíduos visando geração de energia. Série Técnica IPEF. v.1. n.2. p. b1-12. jul. 1980.

SANTOS, P.H dos. Avaliação de métodos de extração de micronutrientes em substratos para as plantas, Campinas, 2005. Dissertação (de Mestrado) - Instituto Agronômico, Campinas. 2005.

SAS INSTITUTE (Cary, United States). SAS/STAT user's guide: version 6.11. 4.ed. Cary, v.2. 842p. 1996.

SCHMILEWSKI, G.K. Aspects of the raw material peat – resources and availability. Acta Horticulturae, Wageningen, n. 150, p. 601-610. 1984.

SCHNITZER, M. & HANSEN, E.H. Organo-metallic interactions in soil: 8. An evaluation of methods for the determination of stability constants acid complexes. Soil Sci., 109:333-340, 1970.

SHUMAN, L.M. Sodium hypochlorite methods for extracting microelements associated with soil organic matter. Soil Science Society American Journal, 47:656-660, 1983.

SILVIERA, D.J. & SOMMERS, L. E. Extractability of copper, zinc, cadmium, and lead in soils incubated with sewage sludge. J. Enviro. Qual. 6:47-52, 1977.

SONNEVELD, C.; ENDE, J. VAN DEN.; DIJK, P.A. VAN. Analysis of growing media by means of a 1:1,5 volume extract. Communication in Soil Science and Plant Analysis, v. 53, p. 183-202, 1974.

SONNEVELD, C. Analytical methods for substrates in the Netherlands. Acta Horticulturae, v.221, p. 413-416, 1988.

SONNEVELD, C.; ENDE, J. VAN DEN.; BES, S.S. Estimating the chemical compositions of soil solutions by obtaining saturation extracts or specific 1:2 by volume extracts. Plant and Soil, v.122, p. 169-175, 1990.

SONNEVELD, C. & DE KREIJ, C. Standardisation of chemical analysis of growing media. Growing Media & Plant Nutrition, Acta Horticulturae , v. 401, p. 569-574, 1995.

STEVENSON, F.J. Organic-matter-micronutrients reactions in soil. In: J.J. MORTVEDT, J.J.; F.R. Cox, L.M. Shuman and R.M. Welch. (eds.) Micronutrients in agriculture. Madison, Soil Scence Society of America, p.145- 186, 1991.

TESSIER, A.; CAMPBELL, P.G.C.; BISSON, M. Sequential extration procedure for the speciation of particulate trace metals. Analytical Chemistry, vol. 51, No. 7, June, 1979.

TISLATE, S.L.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D. **Soil Fertility and Fertilizers**. New York: Macmillan, 754p. 1985.

TRANI, P.E.; NOVO, M. do C.S.S.; CAVALLARO JUNIOR, M.L. & TELLES, L.M.G. Produção de mudas de alface em bandejas e substratos comerciais. Horticultura Brasileira, Brasília, v.22, n.2, p.290-294, abril-junho 2004.

ULIANA, L.R. & NOLASCO, A.M. Identificação de oportunidades para a produção mais limpa de indústrias de esquadrias de madeira. http//:www.cori.rei.unicamp.Br/BrasilJapao3/reul.trbs.php?cód=296 (12-02-2006)

VERDONCK, O. Reviewing and evaluation of new materials used as substrates. Acta Horticulturae, Wageningen, 150, p.467-472, 1984.