

THOMAS CARLOS DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE DA UREASE E CRESCIMENTO DE
ALFACE NO SOLO EM RESPOSTA A NÍQUEL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

THOMAS CARLOS DE OLIVEIRA

ATIVIDADE DA UREASE E CRESCIMENTO DE ALFACE NO SOLO EM RESPOSTA A NÍQUEL

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de março de 2009

Prof. Víctor Hugo Alvarez V.
(Co-orientador)

Prof. Paulo Roberto Gomes Pereira
(Co-orientador)

Prof. Reinaldo Bertola Cantarutti

Prof. Sebastião Tavares de Rezende

Prof. Renildes Lúcio Ferreira Fontes
(Orientador)

Aos meus pais Conceição Aparecida e Cláudio Viola, meus irmãos Clayton e Cláudia e demais familiares, pelo apoio e incentivo incondicional.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela presença constante em minha vida.

Aos Professores Renildes, Víctor Hugo e Paulo Roberto pela orientação, sugestões e críticas que foram fundamentais para conclusão deste trabalho.

Ao Professor Reinaldo Cantarutti, que sempre esteve à disposição quando precisei.

Ao Professor Sebastião, que além de estar disponível quando precisei, disponibilizou o laboratório de Análises Bioquímicas para realização das análises necessárias.

À FAPEMIG, pelo suporte financeiro, sem o qual não seria possível realizar este trabalho.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Solos, pela oportunidade de realização do curso de Pós-Graduação.

Aos estudantes da Pós-Graduação: Daniel, Diogo, Clério e Igor, pela colaboração na realização deste trabalho.

Aos funcionários do DPS: Carlos Fonseca, Jorge e Zélia, por sempre me ajudarem quando precisei.

BIOGRAFIA

Thomas Carlos de Oliveira, filho de Conceição Aparecida de Oliveira e Cláudio Fotina de Oliveira, nasceu no dia 09 de novembro de 1982 em Mauá – São Paulo.

Graduou-se em Agronomia na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, em maio de 2006. Foi bolsista de Apoio Técnico pela FAPEMIG na área de Fertilidade do Solo na mesma instituição de maio de 2006 a outubro do mesmo ano.

Em março de 2007 iniciou o curso de Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

ÍNDICE

RESUMO.....	VI
ABSTRACT.....	VIII
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. O uso do Ni na nutrição de plantas.....	3
2.2. O Ni no metabolismo das plantas.....	5
2.3. O Ni no solo.....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1. Preparo do solo para crescimento das plantas.....	9
3.1.1. Análises das amostras de solo após crescimento das plantas.....	10
3.2. Cultivo das plantas de alface e análise do material vegetal.....	10
3.2.1. Análise da atividade da urease.....	11
3.3. Análises estatísticas.....	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4.1. Produção de matéria seca das plantas.....	14
4.2. Atividade de urease nas folhas das plantas.....	15
4.3. Teores de nutrientes das plantas.....	18
4.3.1. Macronutrientes.....	18
4.3.2. Micronutrientes.....	19
4.4. Teores e conteúdo dos elementos nas sementes de alface.....	21
4.5. Teores de Ni recuperados por Mehlich-3 e DTPA nas amostras de solo após o cultivo das plantas.....	22
4.6. Correlação entre a produção de matéria seca, teor e conteúdo de Ni nas plantas e os teores de Ni recuperados por Mehlich-3 e DTPA.....	24
5. CONCLUSÕES.....	26
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
7. APÊNDICE.....	36

RESUMO

OLIVEIRA, Thomas Carlos de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2009. **Atividade da urease e crescimento de alface no solo em resposta a níquel.** Orientador: Renildes Lúcio Ferreira Fontes. Co-orientadores: Víctor Hugo Alvarez V. e Paulo Roberto Gomes Pereira.

O foco dos estudos sobre Ni, em geral, está voltado para os seus efeitos tóxicos às plantas, o estudo de como as plantas hiperacumuladoras de Ni toleram suas altas concentrações é uma das principais abordagens. Em anos recentes esse foco tem sido mudado dando-se mais atenção à participação do Ni na nutrição das plantas. Deve-se ressaltar que a função do Ni nas plantas está relacionada ao metabolismo do N, uma vez que o Ni tem papel essencial na atividade da urease, enzima que desdobra a uréia em NH_3 e CO_2 . O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) em resposta à adubação com Ni via solo; avaliar os efeitos das doses de Ni sobre a atividade da urease em plantas que receberam uréia (Ur) ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) ou nitrato de amônio (NA) (NH_4NO_3) como fontes de N; comparar a eficiência dos extratores Mehlich-3 e DTPA na determinação do Ni disponível em Latossolo Vermelho-Amarelo. O experimento foi constituído de fatorial 2 x 8 (2 fontes de N: Ur e NA; 8 doses de Ni: 0, 2, 4, 8, 12, 16, 24 e 32 mg/dm^3) com cinco repetições, no delineamento em blocos casualizados, sendo a unidade experimental um vaso plástico contendo 3 dm^3 de solo e duas plantas de alface. O N (200 mg/dm^3) foi suprido às plantas na forma de Ur ou NA, metade no plantio e metade em cobertura, e o Ni foi suprido na forma de NiCl_2 . Uma planta de alface, por vaso, foi colhida 63 d após a semeadura para obtenção da massa de matéria seca (MS) e análise da composição mineral. Uma semana depois, foi colhida a outra planta, com sua matéria fresca sendo analisada para

determinação da atividade da urease pelo método do indofenol. Na matéria seca, foram determinados os teores de K, Ca, Mg, Mn, Cu, Zn, Ni (digestão nítrico-perclórica, dosagem por ICP-OES) e N pelo método do Kjeldahl. No solo, foi determinado Ni disponível (extração com Mehlich-3 ou DTPA, dosagem por Espectrofotometria de Absorção Atômica). Foi feita análise de variância e ajuste das curvas de regressão para os dados referentes à produção de matéria seca, atividade da urease e teores dos elementos no solo e nas plantas para mostrar os efeitos das doses de Ni dentro das fontes de N. Foi feita análise de correlação entre os teores e conteúdos do Ni na parte aérea das plantas de alface com os teores de Ni extraídos do solo por Mehlich-3 e DTPA. Também ajustaram-se equações de regressão linear dos conteúdos de Ni nas plantas de alface e dos teores dos metais recuperados pelos dois extratores, em função das doses de Ni aplicadas ao solo. Na produção de MS da parte aérea das plantas houve diferença significativa devido às fontes de N (médias iguais a 5,07 g/pl para os tratamentos com NA e 4,20 g/pl para os tratamentos com Ur) enquanto que para as doses de Ni não houve resposta significativa. A atividade da urease aumentou significativamente com a adição das doses de Ni ao solo. Já para as fontes de N (NA ou Ur), não houve resposta com diferença significativa das plantas de alface quanto à atividade da urease. Nos tratamentos com NA houve menor teor de N total nas plantas, o que provavelmente se deveu a um efeito de diluição. Já para o suprimento de Ni ao solo, não houve resposta do teor de N total das plantas às doses desse micronutriente aplicado ao solo. Com o aumento das doses de Ni aplicadas ao Latossolo Vermelho Amarelo, houve aumento nas quantidades de Ni recuperadas pelos extratores Mehlich-3 e DTPA. A maior correlação foi obtida entre os teores de Ni extraídos com Mehlich-3 e os teores e conteúdos de Ni nas plantas, sendo que a maior diferença entre os extratores foi encontrada nos tratamentos com aplicação de NA.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Thomas Carlos de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2009. **Urease activity and lettuce growth in response to soil added nickel.** Adviser: Renildes Lúcio Ferreira Fontes. Co-advisers: Víctor Hugo Alvarez V. and Paulo Roberto Gomes Pereira.

The studies with Ni in soils and plants, in general, are more related to its toxicity effects to plants with emphasis in the ability of Ni hyperaccumulator plants to tolerate high Ni concentrations. In recent years, this approach has been changed with more attention to the Ni participation in the plant mineral nutrition. It has to be noted that Ni is related to the plant N metabolism, due to its participation in the activity of the enzyme urease which mediate the transformation of urea in NH_3 and CO_2 . The aim of this research was to evaluate the growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in response to soil Ni fertilization; the effects of Ni in the urease activity in plants supplied with urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) and ammonium nitrate (NH_4NO_3) as N sources; to compare the efficiency of Mehlich-3 and DTPA extractions in the determination of Ni availability in a Red-Yellow Latossol (Oxysol). The experiment was set as a 2 x 8 (2 N sources: $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ and NH_4NO_3 ; 8 Ni doses: 0, 2, 4, 8, 12, 16, 24 and 32 mg/dm^3) with 5 replications, in an entirely randomly block design. The experimental unity was a 3 dm^3 plastic vase with soil, treatments and two lettuce plants. Nitrogen (200 mg/dm^3) was supplied as urea (Ur) or ammonium nitrate (AN), half in the seedling and half surface dressed, and Ni was supplied as NiCl_2 at the seedling. One lettuce plant, per vase, was harvested 63 days after seedling and oven dried for the determination of the dry matter mass (DM) and analysis of the plant mineral composition. One week later, the other plant was harvested and its fresh matter used for the determination of urease activity by the method of indophenols. In the dry matter it was determined the dry matter contents of K, Ca, Mg, Mn, Cu, Zn, Ni (nitric-perchloric digestion and ICP-OES dosage) and N by the Kjeldahl method. In the soil it was determined the available Ni by Mehlich-3 and DTPA extractions and AAS dosage. The analysis of variance of the data was made

and regression equations were adjusted for dry matter production, urease activity, soil nutrient and plant nutrient concentrations, as a function of the Ni doses applied to soil, for each N source, Ur and NA. Analysis of correlation was made between the concentrations and contents of Ni in the lettuce leaves and soil extracted Ni by Mehlich-3 and DTPA. Additionally, linear regression equations were adjusted for the plant Ni contents and the Mehlich-3 and DTPA soil recovered Ni, as a function of the Ni doses applied to soil. There was significant difference in the dry matter yield between the plants supplied by different N sources (5.07 g/plant mean for NA supplied plants and 4.20 g/plant mean for Ur supplied plants). For Ni doses applied to soil there was no significant difference in the lettuce dry matter yield whereas for the urease activity there was increase as Ni was added to soil. There was no difference between the N sources (Ur and AN) as related to the urease activity in the lettuce leaves. Smaller N concentration was detected in plants grown under the AN soil treatments, which was probably caused by a dilution effect. The total N in the plants was uniform in response to the increased Ni doses applied to the soil. The amounts of Ni recovered by Mehlich-3 and DTPA from the Red-Yellow Latossol increased as a function of the increase in the soil applied Ni. The higher correlation was shown between the Ni extracted from soil with Mehlich-3 and the plant Ni contents and concentrations. The bigger difference between the results from Mehlich-3 and DTPA soil extraction was shown in the treatments with AN added to soil.

1. INTRODUÇÃO

A agricultura, assim como praticamente todos os setores da economia mundial, vem tornando-se cada vez mais competitiva. Para que determinada empresa ou agricultor consiga manter-se neste mercado competitivo, é preciso aumentar a produtividade e reduzir os custos. O aumento da produtividade das culturas agrícolas, em anos recentes, tem requerido a intensificação do uso de fertilizantes como fontes de micronutrientes. Esse maior requerimento de micronutrientes na agricultura se deve, principalmente, ao uso de variedades com maior produtividade e maior exigência nutricional, demandando maior adubação NPK, à erosão que remove micronutrientes do solo e à expansão da fronteira agrícola para áreas de baixa fertilidade. Portanto, para melhorar o estado nutricional das plantas e aumentar a produtividade e a qualidade das culturas, os micronutrientes devem ser adequadamente manejados utilizando-se estratégias onde se inclui o suprimento via fertilizantes.

Apesar da intensificação da adubação com micronutrientes, as informações sobre o requerimento de Ni para as culturas ainda são limitadas e os estudos sobre o papel do Ni na nutrição das plantas, e o seu suprimento às culturas por meio de fontes de Ni, ainda são escassos. Um dos motivos disso é que o Ni só foi reconhecido como elemento essencial em 1987. Deve-se ressaltar, entretanto, que não é possível falar em adubação com Ni sem considerar sua relação com o metabolismo do N nas plantas. O Ni tem papel essencial na atividade da urease, uma enzima que desdobra a uréia em NH_3 e CO_2 .

Como a maioria dos trabalhos sobre adubação com Ni tem utilizado solução nutritiva em seus estudos, e poucos têm estudado os efeitos de sua adubação, via solo, sobre o crescimento das plantas, este trabalho tem como objetivos específicos:

- Avaliar o crescimento de plantas de alface em solo que recebeu doses crescentes de Ni.

- Avaliar os efeitos das doses de Ni sobre a atividade da urease em plantas crescidas em solo que recebeu adubo nitrogenado na forma de uréia ou nitrato de amônio.

- Comparar os extratores Mehlich-3 e DTPA quanto à extração de Ni do solo visando a determinação do Ni disponível em um Latossolo Vermelho Amarelo utilizado para crescimento de plantas de alface.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O uso do Ni na nutrição de plantas

Tradicionalmente, o foco dos estudos sobre Ni em plantas esteve voltado para os efeitos tóxicos do elemento. Dentro desse enfoque, procurava-se entender como plantas hiperacumuladoras de Ni eram capazes de tolerar as altas concentrações desse elemento em solos serpentínicos. Na década de 70, Dixon et al (1975) descobriram que o Ni é um componente da enzima urease, presente nas espécies vegetais, o que despertou maior interesse científico para estudos sobre o papel do Ni na nutrição de plantas superiores. Shimada e Ando (1980), ao trabalharem com plantas de tomate e soja com baixo teor de Ni, observaram acúmulo de uréia nos tecidos, com concomitante necrose nas pontas das folhas. Resultados semelhantes, em solução nutritiva, foram encontrados por Krogmeier (1991) e Gerendas et al.(1997) em plantas de centeio, trigo, soja, colza, abobrinha e girassol. Ainda na década de 80, Brown et al. (1987), ao cultivarem cevada por três gerações consecutivas em solução nutritiva com ausência de Ni, conseguiram provar que as plantas não podem completar seu ciclo de vida sem suprimento adequado deste elemento. Com base nesses resultados o Ni foi relacionado, na década de 90, como elemento essencial para as plantas (Salisbury, 1992).

A participação do Ni como componente da enzima urease desperta o interesse de se entender sua relação com o metabolismo do N em culturas agrícolas. Em plantas de soja com baixo teor de Ni, dependentes de fixação de N_2 ou supridas com $N-NO_3^-$ e $N-NH_4^+$, foram encontradas concentrações altas de uréia nas pontas das folhas, o que pôde ser evitado pela adição de Ni (Eskew et al., 1983; Eskew et al., 1984). Klucas et al. (1983) verificaram que o Ni tem relação com a fixação simbiótica do N_2 , visto que aumenta a atividade da hidrogenase em bacterióides isolados dos nódulos. Essa enzima é capaz de reprocessar parte do gás H_2 gerado durante a fixação do N, podendo, com isso, recuperar parte da energia utilizada para romper as triplas ligações que conferem grande estabilidade à molécula de N_2 . Mais

recentemente, Ureta et al. (2005) demonstraram que teor baixo de Ni nos solos agrícolas pode limitar a atividade da hidrogenase de *Rhizobium leguminosarum*. Existem trabalhos que mostram também uma possível relação entre a atividade da urease e a frequência de colonização de fungos micorrizicos arbusculares (FMAs). Segundo Jorgen et al. (1996), ureases podem ser importantes determinantes da infectividade de FMAs, pois catalizam a hidrólise da uréia formando CO₂, o qual pode estimular o crescimento micelial e o comprimento de raízes colonizadas.

Temp (1991) relatou que além de ser absorvido nas raízes, o Ni pode ser absorvido pelas folhas. Quando o Ni foi aplicado às folhas de *Helianthus annuus*, 37 % do total aplicado foi translocado para outros órgãos da planta. Padrões semelhantes foram observados quando folhas de aveia, soja, tomate e berinjela foram pulverizados com soluções contendo Ni (Andreeva, 2001, citado por Seregin e Kozhevnikova, 2006). Seregin e Kozhevnikova (2006) relatam que a pulverização do algodoeiro com uma solução de NiSO₄.6H₂O (234,8 mg/L) aumentou o número de gemas e de flores, a velocidade de crescimento das maçãs e o teor de óleo das sementes. Nos testes os melhores resultados foram quando o Ni era aplicado por pulverização foliar de solução de sulfato de Ni e não diretamente no solo. Já em 1946, Roach e Barclay, em ensaios de campo feitos na Inglaterra com trigo, batata e vagens, obtiveram aumentos na produção devido à aplicação de Ni em pulverizações.

Segundo Adriano (1986), o teor de Ni na matéria seca de plantas varia de 0,1 a 5 mg/kg, dependendo da espécie, parte da planta, estágio fenológico, teor no solo, acidez do solo, entre outros fatores. Para Paiva (2000), a toxidez de Ni se expressa quando sua concentração na matéria seca das plantas é maior que 50 mg/kg, à exceção das espécies hiperacumuladoras. Poulik (1997) verificou que plantas de aveia com teor de 168 mg/kg de Ni apresentaram sintomas de toxicidade com subsequente morte. Por sua vez, teores de Ni no solo menores do que 56 mg/kg não reduziram a produção de espigas de aveia, mas, ao contrário, estimularam a produção. Neves et al. (2007) verificaram resposta positiva das mudas de umbuzeiro cultivadas em solução nutritiva com até 30 µmol/L de Ni, enquanto que acima desta concentração as mudas acumularam menos matéria seca,

indicando efeito tóxico do elemento. Experimentos de campo descritos em 1973 mostraram que a adição de até 40 g/ha de Ni aumentou a nodulação e a produção de grãos de soja (Bertrand, 1973). Berton (2006) verificou que a dose de 210 mg/dm³ de Ni aplicado ao solo foi letal para plantas de feijão, que morreram logo depois da emergência.

O sintoma chamado “orelha-de-rato” de pecan (*Carya illinoensis*), conhecido nos Estados Unidos desde 1918, chegou a ser diagnosticado como dano devido ao frio da primavera antes da abertura das gemas. Depois foi atribuído a um vírus, e também à deficiência de Mn ou de Cu. Só recentemente foi descoberto que este sintoma é resultado da severa deficiência de Ni (Wood et al., 2004). Do mesmo modo que acontece na soja, o sintoma típico é atribuído a um acúmulo local da uréia. Os solos dos pomares que mostraram deficiência severa apresentavam de 0,4 a 1,4 kg/ha de Ni (Wood et al., 2006a).

Malavolta et al. (2006) verificaram que o Ni é o micronutriente que se acumula em maior quantidade nas flores da laranjeira. Sabe-se que o aumento do teor de NH₃ estimula o florescimento (Lovatt et al., 1988). Daí a hipótese de que o Ni possa aumentar a quantidade de flores e, conseqüentemente, a porcentagem de pegamento.

2.2. O Ni no metabolismo das plantas

O Ni está diretamente relacionado ao metabolismo do N nas plantas e deve estar presente na síntese da enzima urease, cuja atuação está envolvida nas principais rotas de assimilação do N.

A maioria das plantas é capaz de absorver rapidamente a uréia aplicada nas folhas (Witte et al., 2002). A uréia também é formada internamente pelas plantas em seu metabolismo, onde deve ser desdobrada em CO₂ e NH₃ (Figura 1) para que não se acumule em níveis tóxicos. Após esta etapa, a NH₃ é incorporada ao metabolismo pela ação combinada da glutamina sintetase (GS) e glutamato sintetase (GOGAT) (Figura 2). O glutamato formado pode retornar ao processo de assimilação do NH₃ ou ser utilizado na síntese de outros aminoácidos, peptídeos e proteínas.

Outra forma de síntese de uréia ocorre em plantas leguminosas, que formam ureídeos nos nódulos das raízes durante a fixação do N (Singh et al., 2001). Os ureídeos são transportados via xilema para a parte aérea das plantas. Eles também são transferidos, via floema, das folhas velhas senescentes para a formação de sementes e folhas novas. A utilização de N na forma de ureídeos pelas plantas envolve a formação de uréia, pois na ausência de Ni, verificam-se quantidades tóxicas de uréia quando as plantas começam a florescer (Singh et al., 2001). Esses resultados sugerem que a uréia é produzida normalmente durante o metabolismo do N na planta, não sendo necessária nenhuma condição de estresse para sua formação (Sengar et al., 2008).

Uma forma possível para se evitar a toxidez da uréia é a utilização de Ni para aumentar a atividade da urease (Marschner, 1995; Eskew et al., 1984; Brown et al., 1987). Gerendas et al.(1997) verificaram que nos tratamentos sem a adição de Ni na solução nutritiva a atividade da urease dificilmente é detectada. Resultados similares foram obtidos para leguminosas (Eskew et al., 1983) e tabaco (Krogmeier et al., 1991).

Na cultura do arroz cultivado em solução nutritiva, Gerendas et al.(1998) verificaram que o crescimento das plantas que receberam NH_4NO_3 não foi afetado pelo Ni, o mesmo ocorrendo com os teores de aminoácidos. Já em relação às plantas cultivadas com uréia, o crescimento foi reduzido em

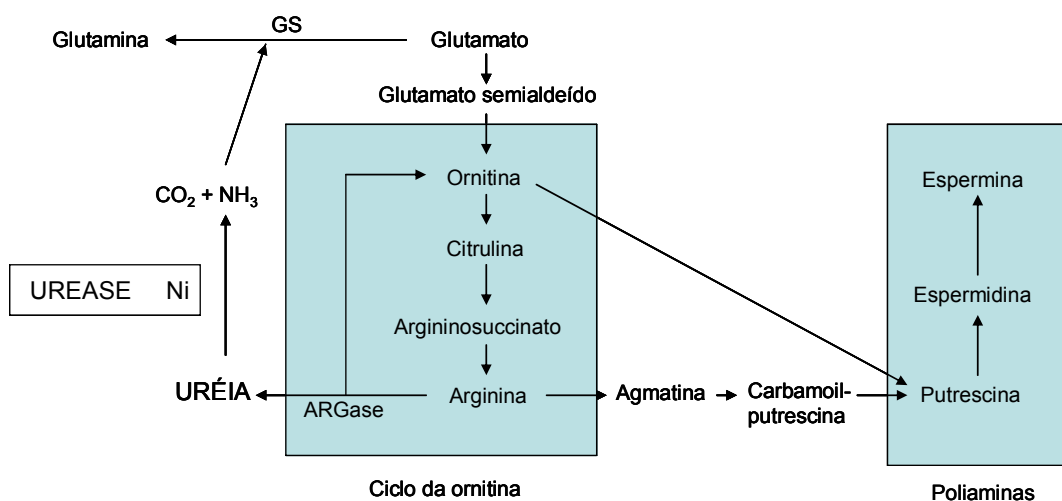


Figura 1: Produção e conversão de uréia em plantas. GS: glutamina sintetase, ARGase: arginase (Gerendas et al., 1998; modificado por Walker et al., 1985).

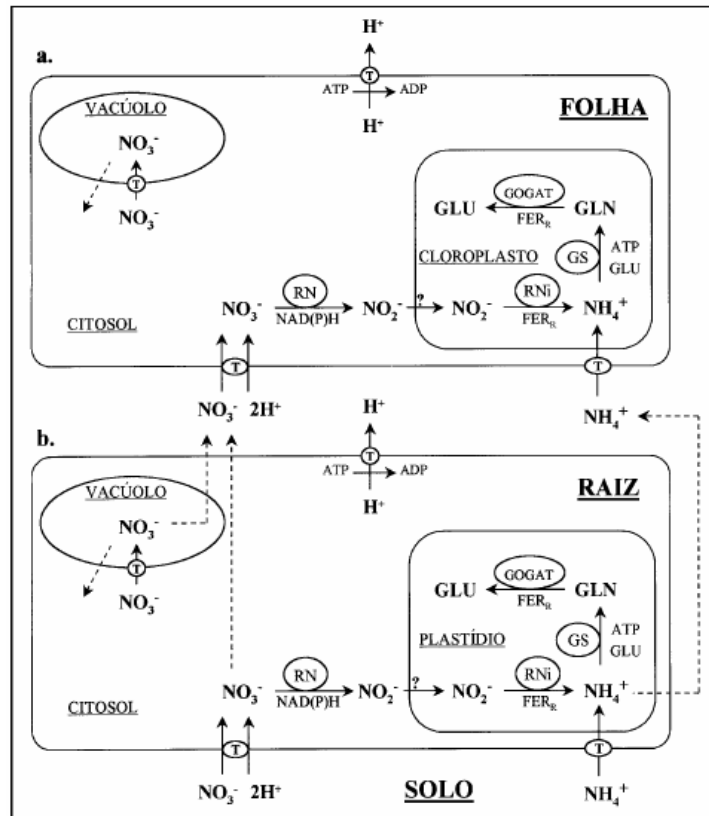


Figura 2: Representação esquemática da rota de assimilação do nitrogênio nas raízes e folhas de plantas (RN: redutase do nitrato; RNi: redutase do nitrito; T: transportador). (Bredemeier e Mundstock, 2000).

plantas também apresentaram teor reduzido de aminoácidos, mostrando alterações no metabolismo do N. Tan et al. (2000) observaram que os teores de N-total em folhas de plantas de tomate adubadas com uréia aumentaram com a aplicação de Ni, mas os teores ainda eram mais baixos do que os observados em plantas que receberam nitrato.

2.3. O Ni no solo

De acordo com Caridad Cancela (2002), os teores totais de Ni em amostras de solos não contaminadas do Estado de São Paulo variaram de 14,8 a 50,2 mg/kg, sendo faixa mais ampla (1,55 a 73,5 mg/kg) encontrada pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (Cetesb, 2001).

Entre as fontes que contribuem para a elevação do teor de Ni nos solos, estão os materiais agrícolas como calcários e fertilizantes fosfatados que podem conter até 300 mg/kg do metal; a emissão atmosférica (2 a 80

kg/km²/ano) através da queima de combustíveis, óleos e combustão de carvão; a fundição; a mineração; os lodos de esgoto de indústrias; as baterias; e os compostos eletrônicos, cosméticos e catalisadores (McGrath, 1995).

Segundo Senesi et al. (1989), o Ni apresenta uma grande afinidade com a matéria orgânica. De acordo com McGrath (1995), a reação do solo exerce grande influência na retenção do Ni, que precipita facilmente na superfície dos óxidos. O fator mais importante que determina a distribuição de Ni entre a fase sólida e a solúvel do solo é o pH, sendo a disponibilidade de Ni diretamente relacionada com a acidez do solo (Mattiazo-Prezzoto, 1994). Anton (1990), ao trabalhar com dois solos (Latossolo Roxo distrófico e Terra Roxa Estruturada), verificou que a calagem diminuía o teor de Ni extraível com extrator DTPA e reduzia o efeito tóxico de altas doses do elemento sobre o feijoeiro.

Na literatura, é possível encontrar extratores para estudar a disponibilidade de Ni em áreas que recebem lodo de esgoto, podendo destacar o ligante orgânico ou complexante DTPA, as soluções ácidas HCl 0,1 mol/L e Mehlich-3 (Bertoncini, 1997). O uso de agentes complexantes decorre da sua habilidade de deslocar metais ligados a radicais orgânicos e carbonatos, extraíndo com facilidade as formas lábeis dos metais, sem dissolver as não lábeis (Abreu et al., 1997). O extrator DTPA a pH 7,3, foi proposto por Lindsay e Norvell (1978) para determinação de Cu, Zn, Fe e Mn em solos calcários e em solos com valores de pH próximos à neutralidade. Atualmente, os laboratórios de análise de solo do Estado de São Paulo têm utilizado esse extrator como método oficial para determinação de Fe, Cu, Mn e Zn (Cantarella et al., 1995). Em diversos trabalhos, tal solução também tem sido utilizada para determinar outros metais como Cd, Ni e Pb em solos (Abreu et al., 1995; Oliveira, 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foi montado um experimento com plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) cultivadas em solo, utilizando-se o fatorial 2 x 8 com duas fontes de N e oito doses de Ni no delineamento com blocos casualizados com cinco repetições. A unidade experimental foi composta por um vaso plástico com 3 dm³ de solo, contendo duas plantas de alface. O trabalho foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa.

3.1. Preparo do solo para crescimento das plantas

O solo utilizado foi um Latossolo Vermelho-Amarelo, coletado no município de Viçosa – MG (TG), utilizando-se a camada de 0 – 20 cm. A seguir, o solo foi secado ao ar e passado em peneira com malha de 2 mm de abertura para a caracterização química e física (Quadro 1).

Foi calculada a necessidade de calagem para se atingir a V de 70 %, segundo Alvarez V. e Ribeiro (1999). Com isso o calcário foi misturado ao solo e incubado durante 15 d, mantendo-se a umidade do solo na capacidade de campo (estimada pelo equivalente de umidade), aplicando-se os tratamentos ao término da incubação.

O N foi fornecido na forma de uréia ou de nitrato de amônio, sendo 100 mg/dm³ incorporados ao solo no plantio e em quatro aplicações, em cobertura, com 25 mg/dm³ aplicados de 10 em 10 d. Para os tratamentos com uréia foi aplicado um produto comercial contendo 2 % do inibidor de urease NBPT (N-n-butiltriamida do ácido tiossulfônico). Para os tratamentos com Ni (NiCl₂.6H₂O) foram aplicadas as doses de 0, 2, 4, 8, 12, 16, 24 e 32 mg/dm³. Todos os vasos foram adubados com P (300 mg/dm³), K (150 mg/dm³) e uma solução contendo B (1 mg/dm³), Cu (1 mg/dm³), Fe (2,5 mg/dm³), Mn (3 mg/dm³), Mo (0,15 mg/dm³) e Zn (4 mg/dm³). A aplicação da solução de micronutrientes foi dividida em cinco vezes, uma no plantio e as outras em cobertura a cada 10 d.

O solo, depois de homogeneizado, foi transferido para os vasos plásticos, onde foram cultivadas as plantas de alface.

Quadro 1: Características químicas e físicas da amostra do solo utilizado no experimento

Características	
pH água (1:2,5)	4,80
Mat. Orgânica (dag/kg) ⁽¹⁾	2,96
P (mg/dm ³) ⁽²⁾	0,8
K, (mg/dm ³) ⁽²⁾	24,0
Prem (mg/L) ⁽³⁾	7,0
Zn (mg/dm ³) ⁽²⁾	0,39
Fe (mg/dm ³) ⁽²⁾	44,1
Mn (mg/dm ³) ⁽²⁾	3,6
Cu (mg/dm ³) ⁽²⁾	0,24
Ni (mg/dm ³) ⁽²⁾	nd
Ca ²⁺ (cmol _c /dm ³) ⁽⁴⁾	0,08
Mg ²⁺ (cmol _c /dm ³) ⁽⁴⁾	0,00
Al ³⁺ (cmol _c /dm ³) ⁽⁴⁾	0,20
H+Al (cmol _c /dm ³) ⁽⁵⁾	6,9
SB (cmol _c /dm ³)	0,14
CTC apH 7,0 (cmol _c /dm ³)	7,04
CTC _{efetiva} (cmol _c /dm ³)	0,34
V (%)	2,0
m (%)	58,8
Areia (%) ⁽⁶⁾	9,0
Silte (%) ⁽⁶⁾	4,0
Argila (%) ⁽⁶⁾	74,0
Equiv. de umidade (kg/kg) ⁽⁶⁾	0,293
Densidade aparente (kg/dm ³) ⁽⁶⁾	1,05

^{1/} Método Walkley-Black. ^{2/} Extrator Mehlich-1. ^{3/} Segundo Alvarez V. et al.(2000). ^{4/} Extrator KCl 1 mol/L. ^{5/} Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol/L – pH 7,0. ^{6/} EMBRAPA (1997). nd = não detectado.

3.1.1. Análises das amostras de solo após crescimento das plantas

Após o crescimento das plantas de alface, amostras de solo retiradas dos vasos foram secas ao ar e passadas em peneira de 2 mm de abertura de malha. A extração do Ni foi feita com Mehlich-3 (Mehlich, 1984) ou DTPA (Raij et al., 2001) e os teores disponíveis do elemento foram determinados por Espectrofotometria de Absorção Atômica.

3.2. Cultivo das plantas de alface e análise do material vegetal

Foram plantadas cinco sementes de alface por vaso, posteriormente, foi feito o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso. Durante o ciclo da cultura, a umidade do solo foi mantida próxima da capacidade de campo, com água deionizada.

Aos 63 d após o plantio foi coletada uma planta de cada vaso fazendo-se as análises químicas para determinação da composição mineral. A outra planta foi coletada uma semana depois para a determinação da atividade da urease. A parte aérea das plantas foi cortada rente ao solo, colocada em sacos de papel e levada à estufa de circulação forçada de ar para secagem a 65 °C durante 72 h, determinando-se o peso da matéria seca.

Para a determinação dos teores dos elementos (K, Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn e Ni) no material vegetal, as amostras foram trituradas em moinho tipo Wiley e 0,50 g das amostras foram pesadas, nas quais foram adicionados 9,0 mL de uma mistura de ácido nítrico e ácido perclórico, na proporção 3,5:1 (v/v), respectivamente. A determinação dos elementos nos extratos foi feita por Espectrofotometria de Emissão em Plasma Induzido (ICP-OES). O N foi determinado pelo método Kjeldahl.

Durante as análises das amostras das plantas de alface foram analisadas também amostras das sementes do lote utilizado no plantio do experimento.

3.2.1. Análise da atividade da urease

A determinação da atividade da urease foi feita de acordo com o método descrito por Witte e Medina-Escobar (2001), com algumas adaptações nos tempos de reações. Não foram utilizadas as amostras de plantas que receberam as doses de 12 e 24 mg/dm³ de Ni, e uma das repetições foi descartada, analisando-se as amostras de plantas de apenas quatro repetições.

Para a realização das análises foi necessário o preparo prévio das seguintes soluções:

Solução tampão fosfato 50 mmol/L – foi dissolvido 3,403 g de fosfato diácido de potássio (KH₂PO₄) em água destilada. Em outro recipiente foi dissolvido 4,355 g de fosfato monoácido de potássio (K₂HPO₄) em água destilada. Com isso, as duas soluções foram misturadas até atingir em torno de 800 mL, quando o pH da solução foi corrigido para 7,5 e completado o volume para 1 L, sendo posteriormente guardado em geladeira.

Reagente A – foram dissolvidos 7 g de fenol e 34 mg de nitroprussiato de sódio em 80 mL de água destilada. Em seguida, o volume foi completado para 100 mL e armazenado a 4 °C em um frasco escuro.

Reagente B – foi dissolvido 2,96 g de NaOH em 140 mL de água destilada, acrescentando 22,26 g de Na₂HPO₄, dissolvendo-o completamente. Em seguida foi adicionado 40 mL de NaOCl (4 – 6 %). O pH foi levado para 12 com NaOH e o volume completado para 200 mL. Este reagente foi armazenado em temperatura ambiente em um frasco escuro.

Na coleta do material para análise da atividade enzimática, para se ter uma amostra composta de folhas com diferentes idades, seis partes de folhas foram retiradas em cada planta de alface, sendo duas retiradas na base da planta, duas no ápice e duas na região intermediária da planta. Após a coleta, as folhas foram picadas, misturadas em uma placa de petri e 1,00 g do material foi pesado e transferido para um almofariz previamente gelado. Para extração das proteínas, o material vegetal foi macerado com 5 mL de tampão fosfato (pH 7,5), 120 µL de solução de DTT (Ditiotreitol) na concentração de 825 mmol/L, 20 µL de PMSF (fenilmetilsulfonilfluoreto) na concentração de 26 mmol/L (dissolvido em álcool etílico) e 30 mg de PVPP (polivinilpirrolidona). Após a extração, as amostras foram centrifugadas a 4 °C por 10 min (13 800 g). O sobrenadante coletado foi centrifugado novamente nas mesmas condições por 20 min, obtendo-se com isso uma solução de cor clara.

Para decidir o tempo mais adequado de incubação das amostras no banho maria (descrito a seguir na etapa 1), foi feito um teste no qual as amostras foram submetidas a diferentes tempos de incubação (1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 h).

A continuação das análises foi dividida em duas etapas:

Etapa 1) Em um tubo de ensaio foi colocado 180 µL do extrato enzimático e 20 µL de solução de uréia na concentração de 5 mol/L. Os tubos foram agitados e colocados em banho maria a 40 °C durante 2 h.

Etapa 2) Após a incubação, 20 µL da amostra foi pipetada juntamente com 980 µL de água, 100 µL do reagente A e 200 µL do reagente B. Após a adição do reagente B, os tubos foram fechados imediatamente para evitar perda de amônia. Com isso, os tubos foram agitados e colocados em banho maria a 50 °C durante 20 min para que a solução pudesse desenvolver a cor.

Para o preparo dos padrões utilizados na curva de calibração, 200 µL de solução de cloreto de amônio nas concentrações de 0, 20, 50, 100, 200 e 400 µmol/L foram misturadas com 800 µL de água. A partir daí foi realizado o mesmo procedimento descrito na etapa 2.

A determinação do amônio foi feita em espectrofotômetro, no qual se utilizou o comprimento de onda de 636 nm. A unidade utilizada para expressar a atividade enzimática foi o katal¹, o qual é utilizado no Sistema Internacional de Unidades (SI).

3.3. Análises estatísticas

Os dados de produção de matéria seca, atividade da urease e teor dos elementos foram submetidos à análise de variância. Posteriormente foram feitos os ajustes das curvas de regressão que melhor caracterizassem os efeitos das doses de Ni dentro das fontes de N.

Foram ajustadas equações de regressão linear entre o teor de Ni nas plantas de alface e dos teores de Ni recuperados do solo pelos extratores Mehlich-3 e DTPA em função das doses de Ni. Adicionalmente, foram calculados os coeficientes de correlação entre os teores de Ni no solo (extração com Mehlich-3 ou DTPA) e os dados de produção de matéria seca e teores e conteúdos de Ni na planta.

Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa.

¹Katal (1 kat) é a quantidade de enzima que converte 1 mol/s de substrato sob condições definidas.
16,67 x 10⁻⁹ kat = 16,67 nkat ≈ 1 U (Dibaker, 2001).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Produção de matéria seca das plantas

Comparando-se a fontes de N adicionadas ao solo, houve diferença significativa na produção de matéria seca das plantas de alface, sendo que os tratamentos que receberam NA apresentaram produção média de 5,07 g/pl e os que receberam Ur apresentaram produção média de 4,20 g/pl (Figura 3). Vitti et al. (2002) avaliaram a produtividade de colmos de cana de açúcar adubados com diferentes fontes de N e verificaram relação similar à encontrada no presente trabalho, com produtividade de 66 t/ha para as plantas crescidas em solo adubado com NA e 57 t/ha para as adubadas com Ur. Uma possível causa da diferença entre as fontes de N na produção de matéria seca (Figura 3) pode ter sido as diferentes reações ocorridas com a Ur e NA no solo. Quando a Ur é aplicada ao solo, ocorrem perdas de N por volatilização devido à hidrólise enzimática (Da Ros et al., 2005), o que é potencializado quando a Ur é aplicada na superfície do solo. O NBPT é um inibidor da enzima urease utilizado para reduzir perdas de N no solo. Cantarella et al. (2006) mostraram que com a aplicação da uréia em superfície, no solo, a adição de NBPT permitiu reduzir as perdas de NH_3 entre 50 e 60 % em relação às perdas da uréia sem adição do NBPT. Esses dados mostram que mesmo com a eficiência do NBPT, as perdas de NH_3 por volatilização, com a Ur aplicada em superfície, ainda ocorrem.

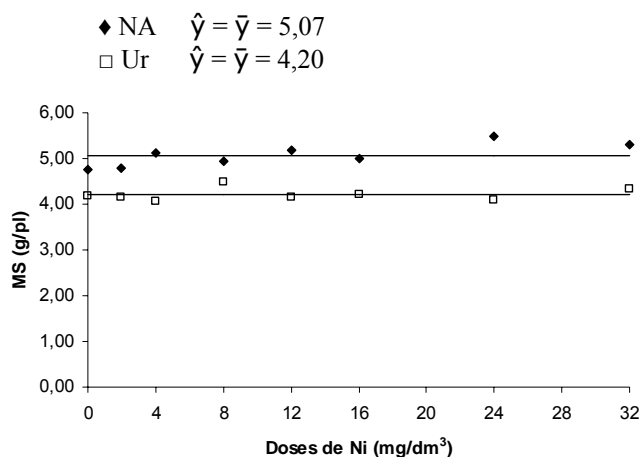


Figura 3: Equações de produção de matéria seca (MS) da parte aérea das plantas de alface em função das doses de Ni aplicadas no solo com diferentes fontes de N (NA ou Ur).

A incorporação de Ur ao solo é a maneira mais eficiente de reduzir ou eliminar as perdas de amônia por volatilização (Espironelo et al., 1987). Como a Ur foi incorporada no plantio, a adição do NBPT juntamente com a Ur, nessa aplicação inicial, talvez tenha sido desnecessária. Testes realizados no Brasil indicam que, para a maioria das situações, o período de intensa inibição do NBPT varia de 3 a 7 d, após este período o inibidor perde gradativamente o efeito (Cantarella, 2006). Considerando o tempo que as sementes levaram para germinar e a baixa demanda por N nos primeiros dias de vida da planta, espera-se que a liberação de N pela Ur+NBPT tenha sido suficiente para atender as necessidades das mudas nesse período inicial de crescimento.

Com relação às doses de Ni, não houve efeito significativo com o aumento de seu suprimento ao solo. Tanto para os tratamentos com NA como para os com Ur, mesmo com o aumento da dose de Ni, a resposta foi semelhante (Figura 3).

Plantas de trigo, soja, couve, abobrinha e girassol, cultivados em solução nutritiva, tiveram maior produção de matéria seca com a adição de Ni comparado aos tratamentos sem seu suprimento à solução (Gerendás e Sattelmacher, 1997). No mesmo trabalho, plantas de centeio não apresentaram diferenças na produção de matéria seca em resposta à adição de Ni. No presente trabalho, a ausência de resposta ao aumento da dose de Ni (Figura 3) indica que o solo utilizado forneceu Ni na quantidade suficiente para o crescimento das plantas, apesar do método de análise não detectar a presença do elemento no solo (Quadro 1). Dessa forma, o Ni originalmente presente no solo foi suficiente para manter o metabolismo do N, da mesma forma que ocorreu nos tratamentos com a adição de Ni ao solo, verificando que a dose de 32 mg/dm³ de Ni não apresentou efeito negativo.

4.2. Atividade de urease nas folhas das plantas

A metodologia para determinação da urease nas plantas (Witte e Medina-Escobar, 2001), baseada na coloração desenvolvida pela produção de NH₃, descreve o tempo de incubação de 3 min, à temperatura de 50 °C, como o necessário para se fazer as leituras de absorbância. Como no presente trabalho esse tempo não foi suficiente para produção de NH₃ que

permitisse o desenvolvimento de cor para as leituras no espectrofotômetro, foram realizadas reações fazendo-se leituras de absorvância em função dos tempos de incubação necessários para desenvolvimento da cor (Figura 4). Como testes prévios haviam indicado que os tempos de 15 e 30 min também não eram suficientes, foram utilizados, neste ensaio, tempos acima de 1 h. Considerando que o resultado das análises não seria afetado por qualquer tempo escolhido na faixa de velocidade constante de reação, optou-se pelo tempo de 2 h de incubação, que já era suficiente para o desenvolvimento de cor das amostras de modo a se ter eficiência nas análises. Com tempos maiores, avaliou-se que se gastava um tempo maior do que o necessário. Devido ao aumento do tempo de incubação a temperatura foi reduzida para 40 °C. Witte e Medina-Escobar (2001) relatam, também, a necessidade de se passar o extrato enzimático em uma coluna cromatográfica para eliminar agentes interferentes que possam prejudicar a detecção do NH₃. Entretanto, eles ressaltam que uma relação linear entre a acumulação de NH₃ e o tempo de reação da enzima demonstra a ausência de interferentes nas amostras, com isso, para algumas espécies o uso da coluna pode ser dispensado, sem alteração nos resultados da determinação. No presente trabalho, a reação da urease em folhas de alface, em diferentes tempos de incubação, mostrou relação linear (Figura 4) evidenciando que o uso da coluna cromatográfica é desnecessário na análise de material vegetal dessa cultura.

A atividade da urease nas folhas de alface aumentou significativamente em resposta aos tratamentos com doses crescentes de Ni aplicadas ao solo, independente da fonte de N aplicada (Figura 5). Esse aumento foi significativo e acentuado até a dose de 2 mg/dm³ de Ni, a partir daí houve

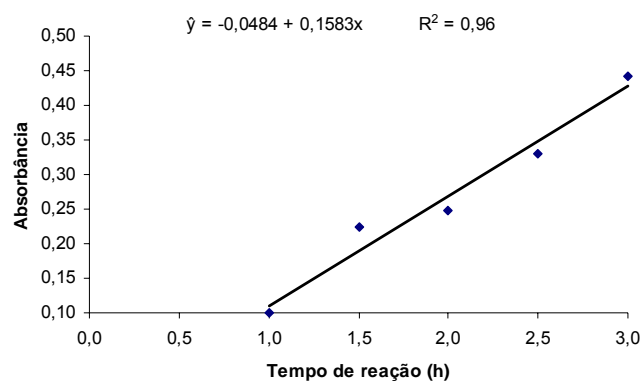


Figura 4: Absorvância (636 nm) das amostras em função dos diferentes tempos de incubação que os extratos das plantas de alface foram submetidos para a produção de NH₃.

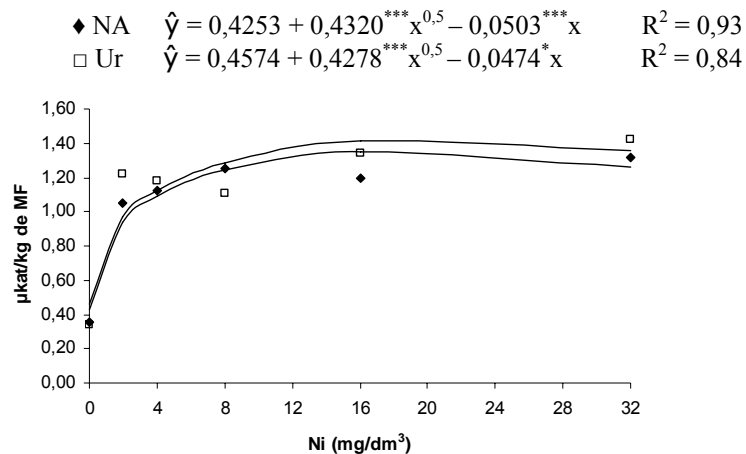


Figura 5: Equações de regressão da atividade de urease em folhas de alface em função das doses de Ni aplicadas no solo com diferentes fontes de N (NA ou Ur).

incrementos decrescentes até ficar praticamente sem alteração a partir da dose 8 mg/dm³. Já para as fontes de N, não houve diferença entre plantas supridas com NA e as supridas com Ur, no que se refere à atividade enzimática nas folhas de alface (Figura 5). Nas plantas crescidas em solo que recebeu NA, a atividade máxima da enzima foi de 1,35 µkat/kg de MF com a dose de 18,40 mg/dm³ de Ni, enquanto que com Ur a atividade máxima (1,42 µkat/kg de MF) foi obtida com a dose de 20,40 mg/dm³ de Ni. Gerendás et al. (1998) encontraram dificuldade em se detectar atividade de urease em plantas de arroz que não receberam adubação com Ni. No presente trabalho, com o método utilizado, foi possível determinar atividade enzimática de até 1,17 nkat/L de extrato, indicando que houve eficiência do método na determinação.

Krogmeier et al. (1991), cultivando soja em solução nutritiva com reagentes purificados, constataram que a adição de Ni aumentava a atividade da urease nas folhas. Com isso, a uréia aplicada via foliar se acumulava em menores teores nos tecidos, reduzindo a necrose nas pontas das folhas. No presente trabalho, realizado com solo, para todas as doses de Ni adicionadas (0, 2, 4, 8, 12, 16, 24 e 32 mg/dm³), a produção de matéria seca da planta foi semelhante dentro de cada fonte de N (Figura 3) mostrando que, com essas doses, não há efeito do Ni no crescimento da cultura da alface. Esses resultados indicam que na dose de 0 mg/dm³ de Ni a planta absorveu do solo quantidade suficiente do elemento para o seu crescimento, tanto nos tratamentos com NA quanto naqueles com Ur.

O aumento da atividade da urease provocado pela adição de Ni ao solo (Figura 5) não seria possível sem a presença da uréia como substrato enzimático. Isso reforça a idéia de que a uréia é formada normalmente durante o metabolismo das plantas, não sendo necessária uma condição de estresse para estimular a sua produção.

Segundo Gerendás e Sattelmacher (1997), não é possível restaurar a atividade da urease acrescentando Ni ao extrato vegetal de plantas com baixo teor do elemento. Como o Ni é essencial para a estrutura e o funcionamento da urease, ele tem que estar presente no período de síntese da enzima. Isto está de acordo com o observado por Dixon et al. (1980), que relataram que a remoção de Ni resulta na perda irreversível das propriedades catalíticas da enzima.

4.3. Teores de nutrientes das plantas

4.3.1. Macronutrientes

As plantas crescidas no solo adubado com Ur apresentavam folhas com coloração mais escura do que as do solo adubado com NA. O maior crescimento devido à adição de NA pode ter levado a um efeito de diluição do N nos tecidos vegetais.

As plantas adubadas com Ur apresentaram maiores teores de N do que as plantas adubadas com NA, o mesmo acontecendo para o K (Figura 6). Fazendo-se os cálculos dos conteúdos de N nas plantas, encontram-se valores médios de 0,18 g/pl nos tratamentos com NA e 0,17 g/pl naqueles adubados com Ur. Com o aumento das doses de Ni adicionadas ao solo, os teores de N nas folhas permaneceram semelhantes, tanto com NA quanto com Ur, enquanto que os teores de K ficaram semelhantes com o NA e aumentaram com a Ur (Figura 6).

O teor de Ca diferiu significativamente nas plantas, em resposta às fontes de N aplicadas. Quanto à resposta ao Ni, houve aumento com ajuste linear nos teores de Ca das plantas crescidas com Ur, enquanto que com a adição do NA o ajuste seguiu o modelo raiz quadrada (Figura 6).

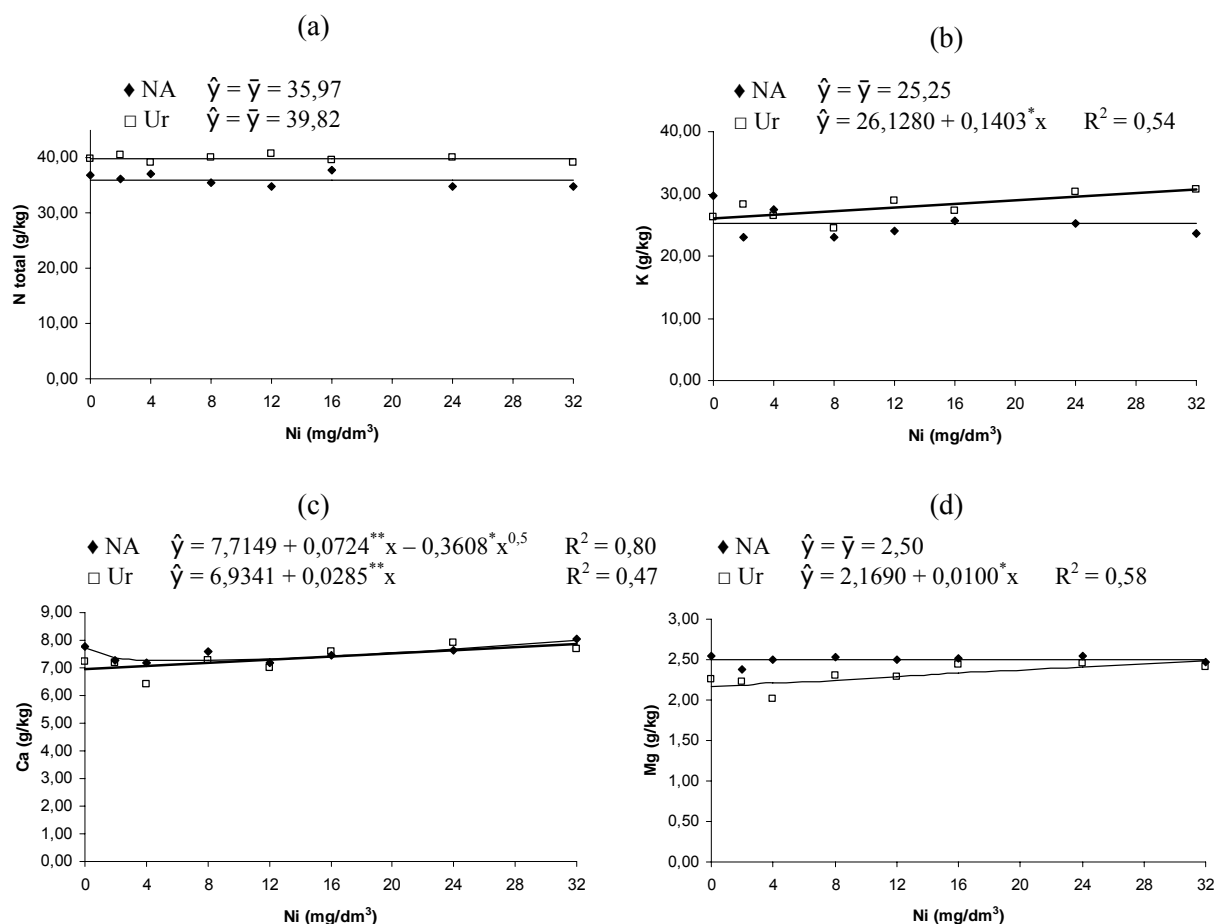


Figura 6: Equações dos teores de N, K, Ca e Mg na parte aérea de plantas de alface em função das doses de Ni aplicadas no solo adubado com diferentes fontes de N (NA ou Ur)

Em relação aos teores de Mg, as folhas de plantas crescidas em solo que recebeu NA apresentaram maiores teores deste elemento quando comparados aos encontrados nos tratamentos com Ur. Entretanto, essa diferença diminuiu com o aumento das doses de Ni adicionadas ao solo, até desaparecer na dose 32 mg/dm³. Isso ocorreu porque com o aumento da dose de Ni, os teores de Mg nas plantas ficaram semelhantes com o NA, enquanto que com a Ur os teores de Mg, que apresentavam um valor inferior, tiveram um aumento linear e se igualaram ao teor observado com o NA (Figura 6).

4.3.2. Micronutrientes

Com o aumento das doses de Ni adicionadas ao solo, houve aumento linear do Ni na parte aérea das plantas de alface, já para Mn e Zn houve

pouca variação, e para o Cu houve uniformidade nos teores com o aumento da dose de Ni (Figura 7).

Nos tratamentos com NA e Ur, os teores foliares de Ni aumentaram com o aumento do Ni adicionado ao solo. Na dose de 0 mg/kg o Ni foliar foi praticamente o mesmo com NA e com Ur, na seqüência, as plantas que receberam NA apresentaram maiores teores de Ni foliar do que aquelas adubadas com Ur (Figura 7). Os teores de Ni nas folhas ficaram sempre abaixo de 14 mg/kg, mesmo na maior dose de Ni (32 mg/dm³) adicionada ao solo. Esses teores ficaram pouco acima do teor considerado fitotóxico para plantas sensíveis (10 mg/kg) e bem abaixo do limite para espécies moderadamente tolerantes (50 mg/kg) (Marshner (1995). Pereira (2006), ao trabalhar com plantas de alface cultivada em solos de diferentes texturas, que receberam 64 mg/dm³ de Ni, encontrou teores de 42 mg/kg de Ni nas plantas crescidas em um Latossolo Vermelho-Amarelo argiloso (73 % de argila) enquanto que em um Latossolo Vermelho-Amarelo arenoso (70 % de areia) os teores de Ni na planta atingiram 232 mg/kg.

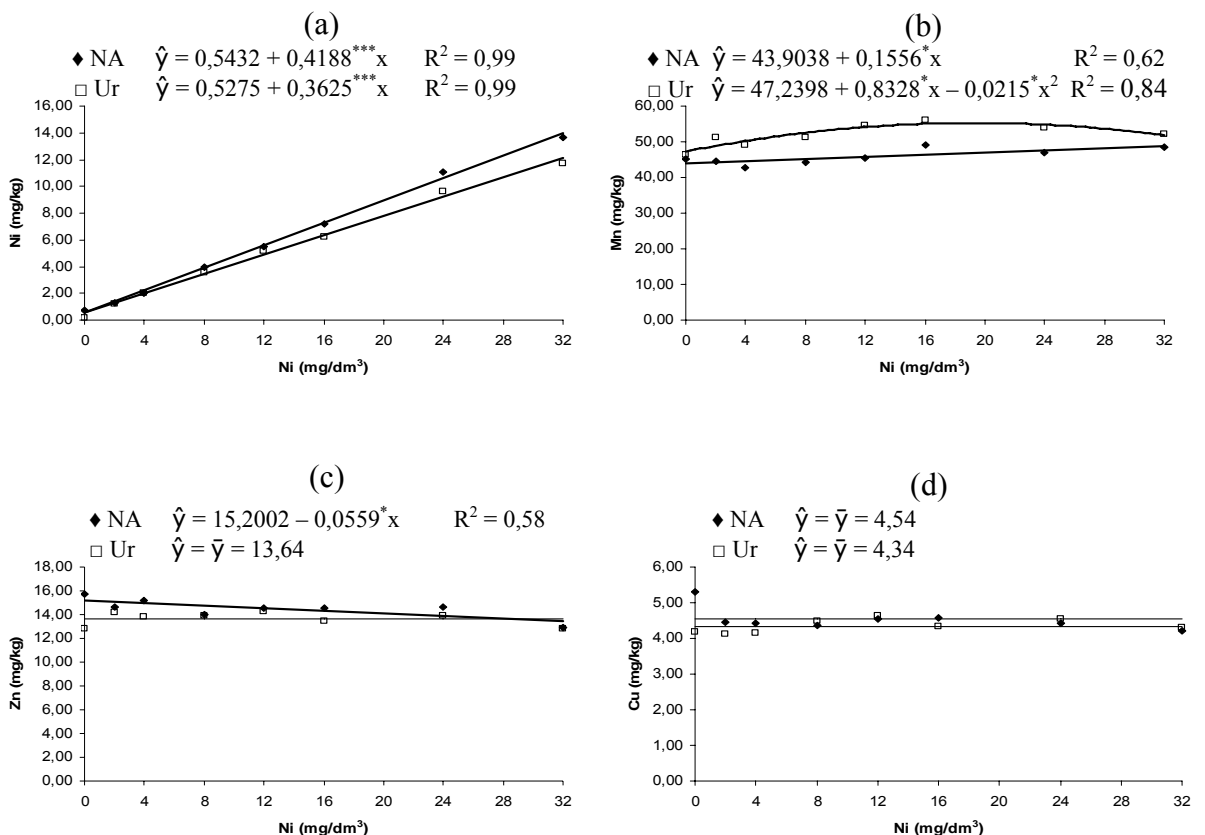


Figura 7: Equações dos teores de Ni, Mn, Zn e Cu na parte aérea de plantas de alface em função das doses de Ni aplicadas no solo com diferentes fontes de N (NA ou Ur).

Usando como referência a observação de que a parte aérea de alface possui em torno de 950 g/kg de água (Furlani et al., 1978), os teores máximos de Ni encontrados na matéria seca da parte aérea das plantas de alface foram convertidos para teores na matéria fresca. Os valores encontrados foram 0,7 mg/kg de Ni para os tratamentos com NA e 0,6 mg/kg de Ni para os que receberam Ur e estão muito abaixo do valor máximo tolerado (5,0 mg/kg de MF) para Ni em hortaliças, raízes, tubérculos e outros alimentos frescos (ABIA, 1985). Observa-se que as doses de Ni adicionadas ao solo não foram suficientemente altas para elevar o Ni foliar a teores que colocasse as plantas de alface como impróprias para o consumo.

As doses de Ni adicionadas ao solo que resultaram nas máximas atividades da urease foram de 18,40 mg/dm³ para os tratamentos com NA e 20,40 mg/dm³ para aqueles com Ur (Figura 5). Observa-se que essas máximas atividades enzimáticas foram obtidas com teores de 8,25 mg/kg de Ni nas plantas adubadas com NA e 7,92 mg/kg de Ni nas plantas que receberam Ur (Figura 7).

Os teores de Mn na parte aérea das plantas de alface foram afetados significativamente pelas diferentes fontes de N, com as plantas que receberam Ur apresentando maior teor de Mn (Figura 7). Isso pode ter ocorrido devido ao efeito de concentração causada pela menor produção de matéria seca nos tratamentos com Ur. Em solução nutritiva, Gerendás et al. (1997) encontraram maiores teores de Mn nas plantas sem adição de Ni e atribuíram isso à menor produção de matéria seca.

O maior teor de Zn nas plantas que receberam N via NA sugere ausência do efeito de concentração já que com o NA houve maior produção de matéria seca. Já para o Cu, praticamente não houve diferença em seus teores na matéria seca em resposta ao suprimento de N via NA ou Ur.

4.4. Teores e conteúdo dos elementos nas sementes de alface.

Uma amostra das sementes de alface utilizadas no experimento foi analisada para determinação de sua composição mineral (Quadro 2).

Quadro 2: Teor e conteúdo dos elementos nas sementes de alface.

Mg	Ca	K	Mn	Zn	Ni	Cu	Fe
teor							
g/kg.....				mg/kg.....			
1,72	0,69	3,50	26,87	52,62	0,45	8,19	45,91
conteúdo							
µg/semente.....				ng/semente.....			
1,72	0,69	3,50	26,87	52,62	0,45	8,19	45,91

Marschner, (1995) menciona que na maioria das plantas o teor de Ni nos órgãos vegetativos está na faixa de 1 – 10 mg/kg de MS, e esta diferença entre espécies de plantas é reflexo principalmente da absorção e transporte de Ni da raiz para a parte aérea. Segundo Eskew et al. (1984) a quantidade de Ni necessária para uma planta de soja é tão baixa (< 160 ng/planta) que toda a demanda pode ser atendida pela quantidade presente nas sementes.

No solo com dose de 0 mg/dm³ de Ni, o conteúdo médio de Ni na parte aérea das plantas foi 3,64 µg/pl para os tratamentos que receberam NA e 0,90 µg/pl para os tratamentos que receberam Ur, ressaltando-se que não está computado o Ni das raízes. Considerando que o conteúdo de Ni nas sementes de alface usadas no presente trabalho foi 0,45 ng/semente (Quadro 2), o suprimento de Ni via semente não atenderia as necessidades da planta. Isso se deve ao fato dessa cultura apresentar sementes bastante pequenas, com poucas reservas de nutrientes. Portanto, espera-se que o restante do Ni presente na alface tenha sido absorvido do solo. Porém, foi verificado que nos tratamentos que receberam a dose de 0 mg/dm³ de Ni os extratores não detectaram no solo a presença do elemento após o cultivo das plantas (figura 8). Com isso, é possível que os extratores não estejam sendo capazes de extrair o Ni quando este está presente em quantidades muito pequenas no solo, pois é pouco provável que o Ni tenha sido fornecido pela contaminação de reagentes PA ou pela água de irrigação que foi passada em dois deionizadores.

4.5. Teores de Ni recuperados por Mehlich-3 e DTPA nas amostras de solo após o cultivo das plantas.

Com o aumento das doses de Ni aplicadas ao solo, os teores de Ni recuperados pelos extratores Mehlich-3 e DTPA aumentaram linearmente

(Figura 8). Com NA a recuperação do Ni foi maior pelos dois extratores, comparado com os tratamentos com Ur. Para o Mehlich-3, as equações ajustadas para o Ni recuperado nos tratamentos com NA e Ur são bem semelhantes, apresentando retas quase paralelas, já para o DTPA, as inclinações são diferentes (Figura 8). Nos tratamentos com adição de NA ao solo, o extrator DTPA recuperou, aproximadamente, 22 % da dose adicionada, enquanto que com a adição de Ur, o recuperado pelo extrator ficou próximo dos 18 %. Quantitativamente, o Mehlich-3 recuperou mais Ni do solo do que o DTPA.

As fontes de N aplicadas ao solo interferiram de maneira diferente na extração do Ni com os dois extratores (Figura 8). Pode-se perceber que em ambos os casos a extração de Ni nos tratamentos que receberam NA foram maiores que naqueles que receberam Ur. Esse menor teor obtido nos solos adubados com Ur não pode ser explicado pelo consumo das plantas, pois nestes tratamentos os conteúdos de Ni nas plantas foram menores que os conteúdos nas plantas que receberam NA. Uma possível explicação são as diferentes reações do NA e da Ur quando em contato com o solo. A presença dos íons NO_3^- e NH_4^+ originários da dissociação do NA, num solo com predomínio de cargas negativas faz com que o NH_4^+ se ligue a essas cargas, diminuindo a interação do Ni^{2+} com as partículas de solo negativamente carregadas que compõem a CTC. Com relação à uréia, durante a hidrólise também ocorre a formação de NH_4^+ , porém, além da liberação ocorrer de forma lenta, boa parte pode ser perdido na forma de NH_3 , devido a elevação do pH provocado nesta reação. Com isso, se pode esperar que nos solos que receberam Ur existam menos NH_4^+ ocupando as cargas negativas do solo, resultando em maior adsorção do Ni. Segundo Cantarella (2006), solos em condições aeróbicas e altas temperaturas, o N amoniacal é oxidado a NO_3^- em um intervalo de tempo de 15 a 30 d. Outra hipótese é que nos solos adubados com Ur tenha ocorrido maior consumo de Ni por parte dos microrganismos, para que estes pudessem sintetizar a urease que foi demandada durante a hidrólise da Ur.

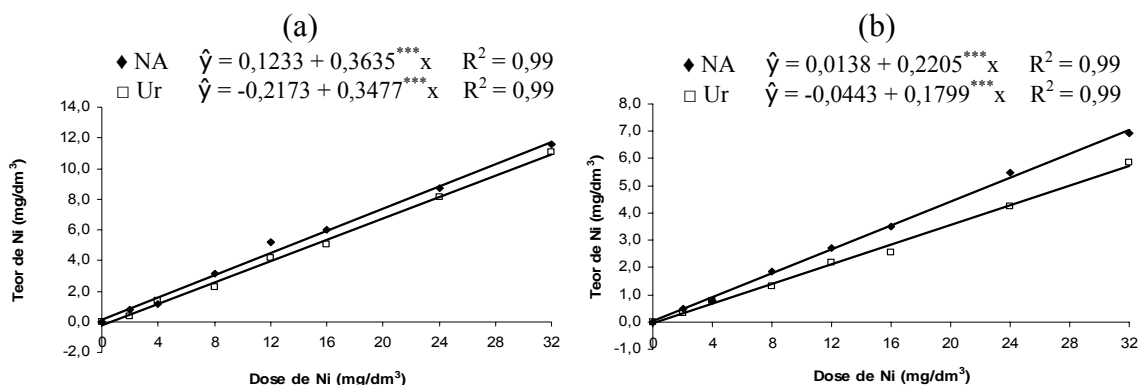


Figura 8: Equações dos teores de Ni recuperados pelos extratores Mehlich-3 (a) e DTPA (b) após o cultivo de alface em função das doses de Ni aplicadas no solo com diferentes fontes de N (NA ou Ur).

Santos (2001) verificou que o pH e a CTC efetiva foram os fatores mais importantes regulando a capacidade tampão de Ni em solos. Já Camargo et al. (1989), estudando a adsorção de Ni em Latossolos do Estado de São Paulo, verificaram que a capacidade máxima de adsorção de Ni correlacionou-se positivamente com a CTC efetiva e, também, com os teores de matéria orgânica. No entanto, Gomes et al. (1997) mencionam que o Ni apresentou pequena afinidade pela matéria orgânica, ficando retido principalmente na fase mineral do solo.

4.6. Correlação entre a produção de matéria seca, teor e conteúdo de Ni nas plantas e os teores de Ni recuperados por Mehlich-3 e DTPA.

Houve correlação significativa entre os teores e conteúdos de Ni nas plantas e os teores de Ni recuperados por Mehlich-3 e DTPA (Quadro 3). Houve diferença entre os extratores, sendo essa diferença maior nos tratamentos com NA. Não houve correlação entre os teores de Ni recuperados do solo pelos extratores e a produção de matéria seca das plantas, corroborando a não ocorrência do efeito das doses de Ni sobre a produção de matéria seca das plantas (Figura 3).

Revoredo et al. (2006), ao trabalharem com cinco extratores para Ni (HCl 0,1 mol/L, DTPA, Mehlich-1, Mehlich-3 e Na₂EDTA), verificaram que os teores extraídos com Mehlich-3 foram os que mais se correlacionaram com o conteúdo de Ni nas plantas de sorgo (0,89*).

Fontes et al. (2008) verificaram que o extrator Mehlich-3 foi eficiente na avaliação da disponibilidade do Ni para a cultura da alface e do feijão em Latossolos com diferentes texturas. Mulchi et al. (1991) observaram que Mehlich-3 foi eficiente na avaliação dos teores disponíveis de Ni para plantas de fumo cultivadas em solos que receberam lodo de esgoto, já Abreu et al. (1995) verificaram que este extrator foi ineficiente na avaliação da disponibilidade de Ni para plantas de trigo em 31 amostras de solo do Estado de São Paulo, enquanto que para feijão eles encontraram correlação significativa entre os teores de Ni determinados no solo e na planta.

Quadro 3: Coeficientes de correlação entre a produção de matéria seca, teor e conteúdo de Ni na parte aérea das plantas e os teores deste elemento recuperado pelos extratores.

Extrator	Matéria Seca	Teor de Ni	Conteúdo de Ni
	NA.....	
Mehlich-3	0,15	0,91*	0,83*
DTPA	0,13	0,79*	0,72*
	Ur.....	
Mehlich-3	0,00	0,97*	0,95*
DTPA	0,01	0,96*	0,94*

* significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Oliveira e Mattiazzo (2001) estudando a aplicação de doses de lodo de esgoto no solo verificaram que o teor de Ni extraído com DTPA apresentou maior correlação com o conteúdo de Ni do tecido vegetal das plantas de cana-de-açúcar (0,98*). Oliveira (1995) também encontrou boa correlação ao relacionar conteúdo de Ni em folhas de milho com os teores extraídos por DTPA em solos tratados com lodo de esgoto. Berton et al. (2006) verificaram que os coeficientes de correlação do teor de Ni extraído do solo por DTPA e o conteúdo encontrado na folha e nos grãos de plantas de feijão foram de 0,96* e 0,95*, respectivamente. Por sua vez, Berton et al. (1997), ao avaliar a disponibilidade de Cu, Zn e Ni para milho cultivado em Latossolo com lodo de esgoto, observaram que o DTPA apresentou baixa eficiência em estimar os teores disponíveis de Ni. Dessa maneira, é importante ressaltar que em cada situação (fonte de Ni, tipo de solo e tipo de cultura) é relatado um método específico que apresenta melhores resultados para quantificar o Ni disponível no solo, com boa correlação com o Ni absorvido pelas plantas.

5. CONCLUSÕES

- O nitrato de amônio como fonte de N aplicado ao solo resulta em maior produção de matéria seca de alface, comparado à adubação com uréia.

- O aumento da dose de Ni adicionado ao solo não altera a produção de matéria seca em plantas de alface.

- A atividade da urease em plantas de alface aumenta com a adição de doses de Ni ao solo.

- A atividade da urease nas plantas de alface não é alterada, diferencialmente, quando se utiliza uréia ou nitrato amônio adicionado ao solo.

- A adubação do solo com uréia resulta em maiores teores de N total nas plantas de alface do que a adubação com nitrato de amônio.

- As doses de Ni não interferem nos teores de N total das plantas de alface, tanto em solo adubado com nitrato de amônio quanto no adubado com uréia.

- No Latossolo Vermelho-Amarelo, para o extrator Mehlich-3, há melhor correlação entre os teores de Ni recuperados pelo extrator e os teores e conteúdos de Ni das plantas de alface, em comparação com o DTPA.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIA – Associação Brasileira de Indústrias da alimentação. Compêndio da Legislação dos Alimentos. São Paulo: 1985. v.1. 185p.

ABREU, C.A. de; ABREU, M.F. de; SOARES, L.H.; ANDRADE, J.C. The effects of the DTPA extraction conditions on the determination of micronutrients in Brazilian soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis, Cidade, v.28, p.1-11, 1997.

ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; RAIJ, B. van; SANTOS, W.R. Comparação de métodos de análises para avaliar a disponibilidade de metais pesados em solos. R. Brás. Ci. Solo, v.19, p.463-468, 1995.

ADRIANO, D.C. Trace elements in the terrestrial environment. New York: Springer-Verlag, 1986. 533p.

ALVAREZ V., V.H.; RIBEIRO, A.C. Capítulo 8: Calagem. Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. 5ª Aproximação. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais – CFSEMG. Viçosa, p. 43-60, 1999.

ANTON, D.F.P. Toxidez do níquel em arroz e feijão. 1990. 144p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BERTRAND, D. Importance du nickel, comme oligo-élément, pour les Rhizobium des nodosités des légumineuses. Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de L'Academie des Sciences, Paris, v. 276, n. 12, p. 1855-1858, 1973. (Serie D).

BERTRON, R.S.; PIRES, A.M.M.; ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.A.; AMBROSINO, E.J.; SILVEIRA, A.P.D. Toxicidade do níquel em plantas de

feijão e efeitos sobre a microbiota do solo. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.41, n.8, p.1305-1312, ago. 2006.

BERTON, R.S.; VALADARES, J.M.A.S.; CAMARGO, O.A.; BATAGLIA, O.C. Peletização do lodo de esgoto e adição de CaCO_3 na produção de matéria seca e absorção de Zn, Cu e Ni pelo milho em três latossolos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.21, p.685- 691, 1997.

BERTONCINI, E.I. Mobilidade de metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto. 1997. 90 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. *Ciência Rural*, v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.

BROWN, P. H.; WELCH, R. M.; CARY, E. E. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiology*, v. 85, n. 3, p. 801-803, 1987.

CAMARGO, O.A.; ROVERS, H.; VALDARES, J.M.A.S. Adsorção de níquel em latossolos paulistas. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v.13, p.125-129, 1989.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. Situação da análise de solo e planta no Brasil. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 21., 1994, Petrolina. Fertilizantes: insumo básico para agricultura e combate à fome. Anais. Petrolina: EMBRAPA, CPATSA; SBCS; 1995. p.9-33.

CANTARELLA, H.; MARCELINO, R. O Uso de inibidor de urease para aumentar a eficiência da uréia. 1º Simpósio sobre Informações Recentes para Otimização da Produção Agrícola. INPI, Piracicaba, 2006.

CARIDAD CANCELA, R. Contenido de macromicronutrientes, metales pesados y otros elementos en suelos naturales de São Paulo (Brasil) y

Galícia (Espanha). 2002. 573p. Tesis (Doctorado) - Universidad de A Coruña, A Coruña, España.

CETESB (São Paulo, SP). Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2001. 232p.

DALTON, D.A.; EVANS, H.J.; HANUS, F.J. Stimulation by nickel of soil microbial urease activity and urease and hydrogenase activities in soybeans grown in a low-nickel soil. *Plant and Soil*. 88, 245 – 258, 1985.

DA ROS, C. O.; AITA, C.; GIACOMINI, S. J. Volatilização de amônia com aplicação de uréia na superfície do solo, no sistema plantio direto. *Ciência Rural*. 35 (4): 799-805. 2005

DYBKAER, R. Unit “katal” for catalytic activity. *Pure Appl. Chem.*, 73 (6): 927–931, 2001.

DIXON, N. E.; GAZOLA, C.; BLAKELEY, R. L.; ZERNER, B. Jack bean urease (EC 3.5.1.5), a metalloenzyme. A simple biological role for nickel? *Journal of the American Chemistry Society*, Columbus, v. 97, p. 4131- 4133, 1975.

DIXON, N.E.; HINDS, J.A.; FIELLY, A.K.; GAZZOLA, C.; WINZOR, D.J.; BLAKELEY, R.L.; ZERNER, B. Jack bean urease (EC 3.5.1.5).IV. The molecular size and the mechanism of inhibition by hydroxamic acids. Spectrophotometric titration of enzymes with reversible inhibitors. *Can. J. Biochem.* 58, 1323-1234, 1980.

ESPIRONELO, A.; COSTA, A.A.; LANDELL, M.G. de A; PEREIRA, J.C.V.A.; IGUE, T; CAMARGO, A.P.; RAMOS, M.T.B. Adubação em três variedades de cana-de-açúcar em função de dois espaçamentos. *Bragantia*, Campinas, v.46, n.2, p.247-268, 1987.

ESKEW, D. L.; WELCH, R. M.; CARY, E. E. An essential micronutrient for legumes and possibly all higher plants. *Science*, v. 222, p. 621-623, 1983.

ESKEW, D. L.; WELCH, R. M.; NORWEL, W. A. Nickel in higher plants. Further evidence for an essential role. *Plant Physiology*, Rockville, v. 76, p. 691-693, 1984.

FONTES, R. L. F.; PEREIRA, J. M. N.; NEVES, J. C. L.; FONTES, M. P. F. 2008. Cadmium, lead, copper, zinc and nickel in lettuce and dry beans as related to Mehlich-3 extraction in three Brazilian latossols. *J. Plant Nutr.*, 31 (05): 884-901.

FURLANI, A.M.C.; FURLANI, P.R.; BATAGLIA, O.C. Composição mineral de diversas hortaliças. *Bragantia*, Campinas, v. 37, p. 33-44, 1978.

GERENDÁS, J.; ZHU, Z.; SATTELMACHER, B. Influence of N and Ni supply on nitrogen metabolism and urease activity in rice (*Oryza sativa* L.) *Journal of Experimental Botany*, Vol. 49, No. 326, pp. 1545–1554, September 1998

GERENDÁS, J.; SATTELMACHER, B. Significance of Ni supply for growth, urease activity and the concentrations of urea, amino acids and mineral nutrients of urea-grown plants. *Plant and Soil*. 190: 153-162, 1997.

GOMES, P.C.; FONTES, M.P.F.; COSTA, L.M.; MENDONÇA, E.S. Extração fracionada de metais pesados em Latossolo Vermelho-Amarelo. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v.21, n.4, p.543-551, 1997.

JORGEN, M.; FAY, P.; JONES, M. B. Effects of elevated carbon dioxide and arbuscular mycorrhizal infection on *Trifolium repens*. *New Phytologist*, v. 132, n. 3, p. 413 – 423, 1996.

KLUCAS, R. V.; HANUS, F. J.; RUSSELL, S. A.; EVANS, H. J. Nickel: a micronutrient element for hydrogen-dependent growth of *Rhizobium japonicum* and for expression of urease activity in soybean leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 80, n. 8, p. 2253-2257, 1983.

KROGMEIER, M.J.; McCARTY, G.W.; SHOGREN, D.R.; BREMNER, J.M. Effect of nickel deficiency in soybean on the phytotoxicity of foliar-applied urea. *Plant and Soil*. 135: 283-286, 1991.

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

LOVATT, C. J.; ZHENG, Y. S.; HAKE, K. D. Demonstration of a change in nitrogen-metabolism influencing flower initiation in citrus. Israel Journal of Botany, v. 37, n. 2-4, p. 181-188, 1988.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M.F. Orelha de rato. IPNI, Informações Agronômicas, n. 112, Dezembro/2005.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M.F. Níquel – de tóxico a essencial. IPNI, Informações Agronômicas, n. 118, Junho/2007.

MALAVOLTA, E.; H.C. LEÃO; S.C. OLIVEIRA; J. LAVRES JR.; M.F. MORAES; C.P. CABRAL & M. MALAVOLTA. 2006. Repartição de nutrientes nas flores, folhas e ramos de laranjeira cultivar Natal. Rev. Bras. Frutic. (Jaboticabal) 28(3): 506-511.

MARSCHNER H. Mineral nutrition of higher plants. London: Academic Press, 1995.

MATTIAZZO-PREZOTTO, M. E. Comportamento de cobre, cádmio, cromo, níquel e zinco adicionados a solos de clima tropical em diferentes valores de pH. Piracicaba, 1994. 197 p. Tese (Livre Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

McGRATH, S.P. Chromium and nickel. In: ALLOWAY, B.J. (Ed). Heavy metals in soils. London: Blackwell Academic, 1995.p.152-178.

MEHLICH, A. Mehlich 3 soil test extractant: a modification of Mehlich 2 extractant. Comm. Soil Sci. Plant Anal., v.15, n.12, p.1409-1416, 1984.

MIKSCH, G.; ARNOLD, W.; LENTZSCH, P.; PRIEFER, U.B.; PÜHLER, A. A 4.6 kb DNA region of Rhizobium meliloti involved in determining urease and hydrogenase activities carries the structural genes for ureas (ureaA, ureB,

ureC) interrupted by other open reading frames. *Molecular and General Genetics MGG.*, v.242, n.5, p.539-550, 1994.

MULCHI, C.L.; ADAMU, C.A.; BELL, P.F.; CHANEY, R.L. Residual heavy metal concentrations in sludge-amended Coastal Plain soils: 1. Comparison of extractants. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, v.22, n.9/10, p.919-941, 1991.

NEVES, O.S.C.; FERREIRA, E.V.O.; CARVALHO, J.G.; SOARES, C.R.F.S. Adição de níquel na solução nutritiva para o cultivo de mudas de umbuzeiro. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, v.31 n.3, Viçosa mai./jun. 2007.

OLIVEIRA, F.C. Disposição de lodo de esgoto e composto de lixo num Latossolo Vermelho-Amarelo cultivado com cana-de-açúcar. 2000. 247p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

OLIVEIRA, F.C.; MATTIAZZO, M.E. Mobilidade de metais pesados em um Latossolo amarelo distrófico tratado com lodo de esgoto e cultivado com cana-de-açúcar. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v.58, n.4, p.807-812, 2001.

OLIVEIRA, F.C. Metais pesados e formas nitrogenadas em solos tratados com lodo de esgoto. 1995. 90p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

PAIVA, H.N. Toxidez de Cd, Ni, Pb e Zn em mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) e ipê roxo (*Tabebuia impertiginosa* (Mart.) Standl.). 2000. 283 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PEREIRA, J.M.N. Doses de Cd, Pb, Cu, Zn, e Ni em latossolos: efeitos no solo e em plantas de alface e feijão. Viçosa: UFV, 2006. 131p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa.

POULIK, Z. The danger of accumulation of nickel in cereals on contaminated soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v.63, p.25-29, 1997.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H. & QUAGGIO, J.A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas, Instituto Agrônomo, 2001. 285p.

REIS, T.C. Distribuição e Biodisponibilidade do níquel aplicado ao solo como $NiCl_2$ e biossólido. Piracicaba, 2002. 105p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

REVOREDO, M.D.; Melo, W.J. Disponibilidade de níquel em solo tratado com lodo de esgoto e cultivado com sorgo. *Bragantia*, vol.65, nº.4, p.679-685, 2006.

RIBEIRO Jr., J. I. Análises estatísticas no SAEG. Viçosa, Minas Gerais: Imprensa Universitária-UFV. 2001.

ROACH, W. A.; BARCLAY, C. Nickel and multiple trace element deficiencies in agricultural crops. *Nature*, v. 157, n. 3995, p. 696, 1946.

SANTOS, G.C. Sorção e labilidade de metais pesados em latossolo de Minas Gerais. Viçosa: UFV, 2001. 75p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing Company. Belmont, California, 1992.

SENGAR, R.S.; GUPTA, S.; GAUTAM, M.; SHARMA, A.; SENGAR, K. Occurrence, uptake, accumulation and physiological responses of nickel in plants and its effects on environment. *Research Journal of Phytochemistry* 2 (2): 44-60, 2008.

SENESI, N.; SPOSITO, G.; HOLTZCLAW, K. M.; BRADFORD, G. R. Chemical properties of metal- humic fractions of a sewage sludge-amended Aridisol. *Journal of Environmental Quality*, v. 18, p. 186-194, 1989.

SEREGIN, I. V.; KOZHEVNIKOVA, A. D. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, v. 53, n. 2, p. 257-277, 2006.

SHIMADA, N, T.; ANDO, M .T. Role of nickel in plant nutrition. I. Effects of nickel on growth of tomato and soybean. *Nippon Dojo Hiriyogaku Zasshi* 51: 487-492, 1980

SINGH, R.P.; SINGH, H.B.; SHARMA, A.; RIZVI, S.M.H.; JAISWAL, P. Klindian mustard: A potential phytoremediator of heavy metal contaminated soil. *Brassica*, 3: 22-24, 2001.

TAN, X. W.; IKEDA, H. Effects of nickel concentration in the nutrient solution on the nitrogen assimilation and growth of tomato seedlings in hydroponic culture supplied with urea or nitrate as the sole nitrogen source. *Scientia Horticulturae* ,84, p. 265-273, 2000.

TEMP, G. A. Nickel in Plants and Its Toxicity, *Ustoichivost' k tyazhelym metallam dikorastushchikh vidov (Resistance of Wild Species to Heavy Metals)*, Alekseeva- Popova, N.V., Ed., Leningrad: Lenuprizdat, 1991, pp. 139–146.

URETA, A. C.; IMPERIAL, J.; RUIZ-ARGÜESO, T.; PALACIOS, J. M. Rhizobium leguminosarum biovar viciae symbiotic hydrogenase activity and processing are limited by the level of nickel in agricultural soils. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 11, p. 7603-7606, 2005.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P.; OLIVEIRA, M.W. Volatilização de amônia da adubação nitrogenada aplicada sobre solo coberto com palhada de cana-de-açúcar: efeito na produtividade da cana-soca. *Congresso Nacional dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil*, 8., 2002. Recife: Anais: .Recife: STAB, p. 239-244, 2002.

WALKER, C.D.; GRAHAM, R.D.; MADISON, J.T.; CARY, E.E.; WELCH, R.M. Effects of nickel deficiency on some nitrogen metabolites in cowpeas (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Plant Physiology* 79, 474–9. 1985.

WITTE, C.D; MEDINA-ESCOBAR, N. In-Gel Detection of Urease with Nitroblue Tetrazolium and Quantification of the Enzyme from Different Crop Plants Using the Indophenol Reaction. *Analytical Biochemistry* 290, 102–107 (2001)

WITTE, C.P.; TILLER, S.A.; TAYLOR, M.A.; DAVIES. H.V. Leaf Urea Metabolism in Potato. Urease Activity Profile and Patterns of Recovery and Distribution of ¹⁵N after Foliar Urea Application in Wild-Type and Urease-Antisense Transgenics . *Plant Physiology*, Vol. 128, pp. 1129–1136. 2002

WOOD, B.W.; REILLY, C.C.; NYCZEPIR, A.P. Mouse-ear of Pecan: A nickel deficiency. *HortScience*. 39(6): 1238-1242. 2004.

WOOD, B. W.; REILLY, C. C.; NYCZEPIR, A. P. Field deficiency of nickel in trees: symptoms and causes. *Acta Horticulturae*, v. 721, p. 83-97, 2006.

7. APÊNDICE

Quadro 1A – Análise de variância da matéria seca, N-total, Ni extraído por Mehlich-3 e DTPA e dos teores de Ni, Mn, Zn, Cu, Fe, Mg, Ca e K de acordo com as fontes de variação.

F.V.	G.L.	MS	QM										
			N-total	Ni (M-3)	Ni (DTPA)	Ni	Mn	Zn	Cu	Fe	Mg	Ca	K
Blocos	4	1,89 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,81 ^{ns}	1,37 ^{ns}	3,88 ^{**}	69,68 [*]	3,86 ^{ns}	1,94 ^{***}	110275,94 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,003 ^{ns}	0,502 ^{ns}
Fontes de N	1	15,31 ^{***}	2,98 ^{***}	5,72 ^{**}	6,18 [*]	9,93 ^{**}	725,17 ^{***}	15,50 [*]	0,78 ^{ns}	108221,48 ^{ns}	0,008 ^{***}	0,010 ^o	1,349 [*]
Doses de Ni d/NA	7	0,28 ^{ns}	0,06 ^{ns}	83,94 ^{***}	30,74 ^{***}	110,99 ^{***}	24,71 ^{ns}	3,42 ^{ns}	0,53 ^o	124646,82 ^{ns}	0,000 ^{ns}	0,004 ^o	0,281 ^{ns}
Doses de Ni d/Ur	7	0,11 ^{ns}	0,02 ^{ns}	76,53 ^{***}	20,52 ^{***}	83,26 ^{***}	49,21 ^{ns}	1,71 ^{ns}	0,18 ^{ns}	198047,57 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,011 [*]	0,229 ^{ns}
Resíduo	60	0,95	0,07	0,79	1,28	0,92	27,03	2,47	0,30	108133,19	0,0005	0,003	0,274
CV (%)		20,99	7,21	20,58	46,49	18,03	10,65	11,17	12,37	54,76	9,56	7,16	19,72

ns, o, *, **, ***: não significativo e significativo a 10, 5, 1 e 0,1 %, respectivamente.

Quadro 2A – Análise de variância da atividade de urease de acordo com as fontes de variação.

F.V	G.L	QM
Blocos	3	1743,49 ^{***}
Fontes de N	1	115,54 ^{ns}
Doses de Ni d/NA	5	1782,29 ^{***}
Doses de Ni d/Ur	5	2175,33 ^{***}
Resíduo	33	197,26
CV (%)		21,76

ns, ***: não significativo e significativo a 0,1 %, respectivamente.

Quadro 3A – Atividade de urease em MF (matéria fresca) de folhas de plantas de alface que receberam diferentes fontes de N e diferentes doses de Ni..

Dose de Ni mg/dm ³	NAµkat/kg de MF.....	Ur
0	0,36 a	0,34 a
2	1,05 b	1,22 b
4	1,12 b	1,18 b
8	1,25 b	1,10 b
16	1,20 b	1,34 b
32	1,32 b	1,42 b

As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

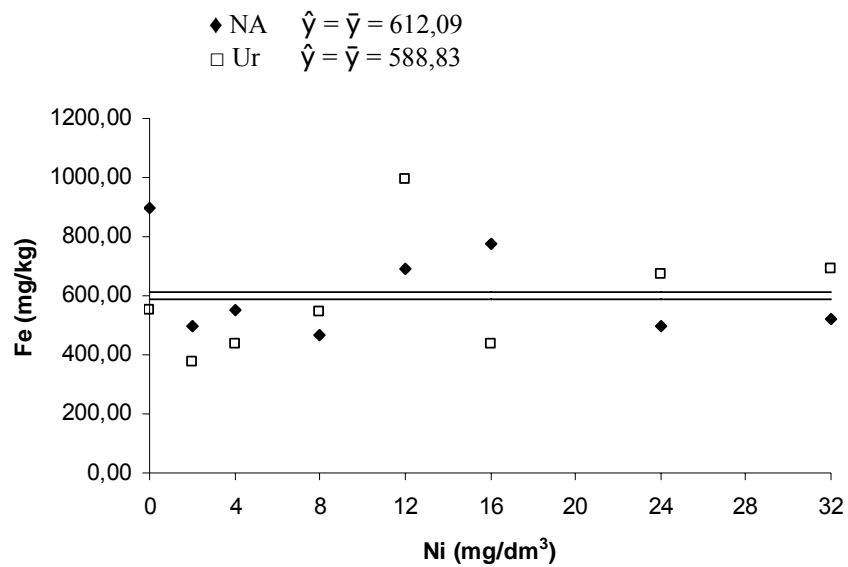


Figura 1A – Equações dos teores de Fe na parte aérea de plantas de alface em função das doses de Ni aplicadas no solo com diferentes fontes de N (NA ou Ur)

Quadro 4A: Matéria seca e teores de N total, Mg, Ca e K em plantas de alfaca adubadas com doses crescentes de Ni e diferentes fontes de N.

Fonte N	Dose Ni	MS	N total	Mg	Ca	K
	mg/dm ³	g	g/kg.....			
NA	0	4,75	36,83	2,54	7,75	29,78
NA	2	4,78	36,12	2,39	7,28	23,04
NA	4	5,12	37,03	2,49	7,20	27,50
NA	8	4,94	35,56	2,53	7,57	23,03
NA	12	5,20	34,88	2,50	7,17	24,14
NA	16	4,99	37,63	2,52	7,44	25,59
NA	24	5,50	34,88	2,54	7,64	25,35
NA	32	5,29	34,80	2,46	8,04	23,60
Ur	0	4,17	39,87	2,26	7,25	26,32
Ur	2	4,15	40,43	2,22	7,16	28,31
Ur	4	4,06	38,99	2,01	6,40	26,49
Ur	8	4,47	40,03	2,30	7,29	24,47
Ur	12	4,14	40,59	2,29	6,99	28,83
Ur	16	4,20	39,51	2,44	7,60	27,23
Ur	24	4,10	40,03	2,45	7,89	30,39
Ur	32	4,32	39,11	2,40	7,68	30,74

Quadro 5A: Teores de Mn, Zn, Cu, Fe, Ni e conteúdo de Ni em plantas de alfaca adubadas com doses crescentes de Ni e diferentes fontes de N.

Fonte N	Dose Ni	Mn	Zn	Cu	Fe	Ni	Ni
	mg/dm ³	mg/kg.....					µg/planta
NA	0	45,05	15,75	5,29	899,75	0,75	3,64
NA	2	44,41	14,61	4,45	496,59	1,28	6,97
NA	4	42,71	15,19	4,43	553,15	2,02	11,39
NA	8	44,24	13,97	4,36	463,64	3,93	19,51
NA	12	45,38	14,53	4,56	689,97	5,50	29,00
NA	16	49,07	14,54	4,58	772,83	7,16	35,85
NA	24	47,07	14,60	4,42	497,67	11,08	60,61
NA	32	48,56	12,94	4,22	523,14	13,67	74,61
Ur	0	46,34	12,78	4,18	554,35	0,19	0,90
Ur	2	51,16	14,20	4,12	373,23	1,20	4,96
Ur	4	49,08	13,84	4,14	436,40	2,05	7,57
Ur	8	51,32	13,92	4,47	546,10	3,54	16,28
Ur	12	54,61	14,26	4,63	993,79	5,17	21,46
Ur	16	56,08	13,42	4,35	439,23	6,24	25,71
Ur	24	54,00	13,89	4,55	675,51	9,59	39,36
Ur	32	52,06	12,78	4,30	692,05	11,75	50,83

Quadro 6A: Atividade de urease em folhas de plantas de alface adubadas com doses crescentes de Ni e com diferentes fontes de N.

Fonte N	Dose de Ni (mg/dm ³)	µkat/kg de MF
NA	0	0,36
NA	2	1,05
NA	4	1,12
NA	8	1,26
NA	16	1,20
NA	32	1,32
Ur	0	0,34
Ur	2	1,22
Ur	4	1,18
Ur	8	1,10
Ur	16	1,34
Ur	32	1,42

Quadro 7A: Teores de Ni recuperados pelos extratores Mehlich-3 e DTPA após o plantio de alface em solo adubado com doses crescentes de Ni e diferentes fontes de N.

Fonte N	Dose Ni mg/dm ³	Ni (M-3)mg/dm ³	Ni (DTPA)
NA	0	0,00	0,00
NA	2	0,78	0,49
NA	4	1,17	0,76
NA	8	3,17	1,83
NA	12	5,19	2,73
NA	16	6,01	3,51
NA	24	8,73	5,46
NA	32	11,57	6,95
Ur	0	0,00	0,00
Ur	2	0,33	0,34
Ur	4	1,36	0,79
Ur	8	2,28	1,30
Ur	12	4,17	2,19
Ur	16	5,04	2,55
Ur	24	8,10	4,26
Ur	32	11,06	5,84